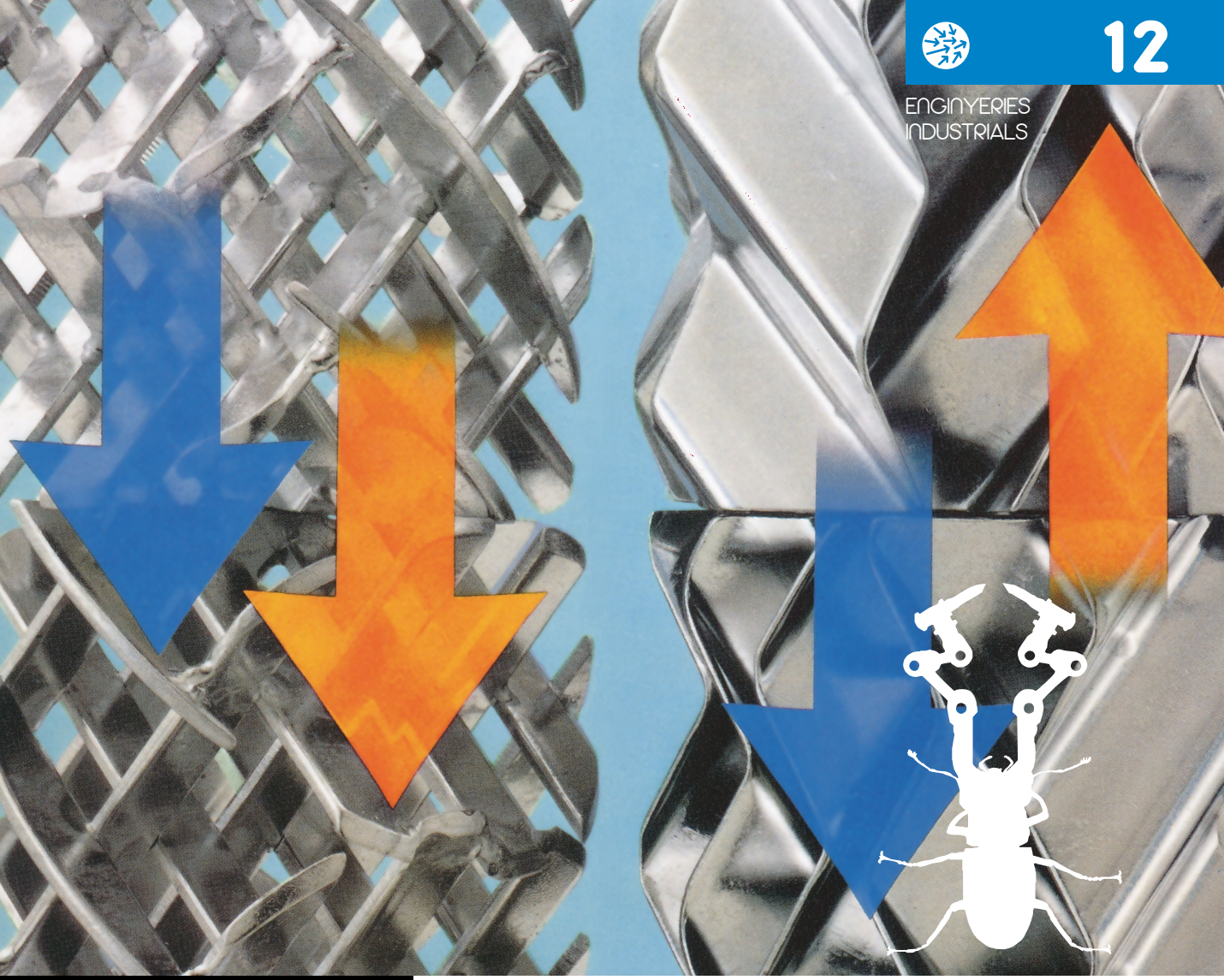


12

ENGINYERIES INDUSTRIALS

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA BARCELONATECH

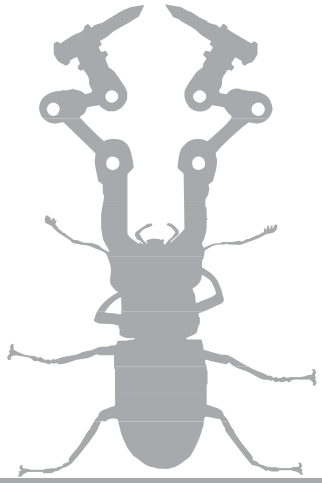
UPCPOSTGRAU

Procesos de separación de biotecnología industrial

Francesc Recasens

12

ENGINYERIES
INDUSTRIALS



UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA BARCELONATECH

iniciativa digital politècnica
Publicacions Acadèmiques UPC

UPCPOSTGRAU

Procesos de separación de biotecnología industrial

Francesc Recasens

Primera edición: febrero de 2018
Reedición: febrero de 2019

© Francesc Recasens Baxarias, 2018

© Iniciativa Digital Politècnica, 2018
Oficina de Publicacions Acadèmiques Digitals de la UPC
Jordi Girona 31,
Edifici Torre Girona, Planta 1, 08034 Barcelona
Tel.: 934 015 885
www.upc.edu/idp
E-mail: info.idp@upc.edu

ISBN: 978-84-9880-696-0
DL: B.2154-2018

Cualquier forma de reproducción, distribución, comunicación pública o transformación de esta obra sólo puede realizarse con la autorización de sus titulares, salvo excepción prevista en la ley.

Índice

Prefacio 11

1. Procesos de bioseparación 15

1.1¿Qué separamos en la bioseparación? 16
1.2 ¿A qué es debido el elevado coste de bioseparación? 18
1.3 Características de los procesos de separación: el agente de separación 19
1.4. Diagrama de bloques de un ejemplo: la recuperación de los antibióticos 21
1.5 Conclusiones 22

2. Filtración 25

2.1 Factores que intervienen en la filtración 28
2.1.1 Medios filtrantes y filtros industriales 28
2.2 Teoría de la filtración 31
2.3 Filtración a presión constante. Torta incompresible 33
2.3.1 Torta incompresible y compresible: datos de compresibilidad 38
2.3.2 Mejora de la velocidad de filtración 39
2.4 Selección de un filtro continuo a presión constante: cálculo del caudal medio 40
2.5 Cálculo del lavado 42
2.5.1 Volumen de lavado 42
2.5.2 Tiempo de lavado 43
2.6 Cálculo de un filtro industrial a partir de datos de laboratorio 45
2.7 Consideraciones finales y recomendaciones 47
2.8 Notación 48

3. Centrifugación 51

3.1 Velocidad terminal en un fluido por acción de la gravedad 53
3.1.1 Movimiento de una partícula en un campo centrífugo 55
3.1.2 Tiempo de sedimentación en una centrífuga 56
3.2 Centrífuga de cesta tubular: el valor Sigma 56
3.3 Centrífuga de discos: valor Sigma 59
3.4 Utilidad de la teoría Sigma 63
3.4.1 Concepto de rendimiento de una centrífuga 65

3.4.2 Cambio de escala. Pruebas en una máquina piloto 65
3.5 Centrífuga filtrante 67
3.6 Ultracentrifugación en biología molecular y biotecnología 69
3.6.1 Coeficiente de sedimentación 70
3.6.2 Determinación del peso molecular con la ultracentrífuga analítica 71
3.6.3 Sedimentación en un gradiente de densidad 72
3.7 Consideraciones finales 73
3.8 Nomenclatura 75

4. Disrupción celular 77

4.1 La membrana celular 77
4.1.1 Resistencia mecánica de la membrana: ósmosis y choque osmótico 80
4.2 Rotura celular con reactivos químicos 83
4.2.1 Detergentes 83
4.2.2 Solventes 84
4.2.3 Enzimas y antibióticos 84
4.3 Disrupción mecánica 84
4.3.1 Homogeneización 84
4.3.2 Termodinámica 87
4.3.3 Molinos de bolas 90
4.4 Consideraciones finales 94

5. Floculación 97

5.1 Fundamentos de la floculación 97
5.2 La estabilidad de los coloides liofóbicos 100
5.2.1 La doble capa eléctrica 100
5.2.2 La concentración de coagulación: regla de Schulze-Hardy 103
5.3 La coagulación de coloides industriales 106
5.4 Los floculantes sintéticos industriales 108
5.4.1 Los floculantes en biotecnología 110
5.5. Consideraciones finales. Diseño del floculador de planta 112
5.6 Notación 114

6. Precipitación 117

6.1 La solubilidad de las proteínas 118
6.1.1 Estructura y tamaño 119
6.1.2 Carga eléctrica de la proteína en disolución 120
6.1.3 Efecto de los solventes no solventes en el medio 120
6.1.4 Precipitación por efecto salino 121
6.1.5 Más sobre el efecto de las sales: la ecuación de Cohn 122
6.1.6 Precipitación por calor 123
6.2 Cinética de precipitación de proteínas en un tanque agitado 124
6.2.1 Mezcla rápida 125
6.2.2 Nucleación 127
6.2.3 Floculación browniana: crecimiento pericinético 128
6.2.4 Floculación por esfuerzos de corte del agitador: agregación ortocinética 129
6.2.5 Ruptura y degradación mecánica del precipitado 131
6.3 Precipitación de proteínas a mayor escala: las reglas del cambio de escala 133

6.3.1 Cambio de escala manteniendo P/V = constante: gradientes de corte máximos ... 134
6.3.2 Cambio de escala manteniendo el gradiente de corte constante: valores resultantes de P/V ... 134
6.4 Conclusiones ... 136
6.5 Notación ... 137

7. Extracción líquido-líquido ... 139

7.1 Fundamentos de la extracción ... 140
7.1.1 Constantes de equilibrio: solventes de extracción ... 141
7.1.2 Selección del disolvente ... 142
7.1.3 Sistemas de tipo I y de tipo II: coordenadas rectangulares ... 143
7.2 Cálculo del número de etapas de equilibrio ... 145
7.2.1 Un mezclador-sedimentador continuo o discontinuo ... 145
7.2.2 Contactos con corrientes cruzadas (o por cargas sucesivas) ... 145
7.2.3 Multietapa a contracorriente, líquidos parcialmente miscibles ... 147
7.2.4 Rendimiento de etapa y rendimiento global ... 149
7.3 Disoluciones diluidas, solventes totalmente inmiscibles ... 150
7.3.1 Aplicaciones en biotecnología ... 150
7.3.2 Factor de extracción y ecuación de Kremser ... 151
7.4 Extracción de antibióticos, *pH swing* y extracción inversa o re-extracción ... 152
7.5 Extracción diferencial con contacto continuo ... 155
7.5.1 Transferencia de masa ... 155
7.5.2 Balance de masa en un *dz* de torre ... 156
7.5.3 Cálculo de NTU_{Ox} ... 157
7.5.4 El extractor como un intercambiador de calor (v. figura 7.14) ... 157
7.6 Cálculo y selección de columnas industriales ... 160
7.6.1 Altura equivalente a un plato teórico (o HETS) ... 160
7.6.2 Aparatos industriales de extracción ... 160
7.6.3 Especificación de un extractor industrial y cambio de escala ... 164
7.7 Extracción con un solvente acuoso bifásico ... 166
7.7.1 Balance de soluto en la extracción acuosa ... 168
7.7.2 Líneas de enlace en un solvente bifásico ... 169
7.8 Conclusiones ... 174
7.9 Notación ... 175

8. Adsorción ... 177

8.1 Fundamentos de la adsorción y aplicaciones a la biotecnología ... 179
8.2 Velocidad y equilibrio de adsorción según Langmuir ... 180
8.2.1 Otras isotermas: la isoterma lineal y de Freundlich ... 182
8.2.2 Energética ... 182
8.2.3 Regeneración térmica ... 184
8.2.4 Regeneración del adsorbente en biotecnología ... 184
8.2.5 Isoterma de Freundlich ... 185
8.2.6 Isoterma generalizada para carbón activado ... 185
8.3 Cálculo de las operaciones de adsorción ... 186
8.3.1 Una o diversas etapas de contacto. Operaciones por cargas ... 186
8.3.2 Operación de adsorción en lecho fijo, isoterma lineal ... 188
8.3.3 Perfil parabólico intrapartícula y fuerza impulsora lineal ... 189
8.3.4 Equilibrio local (o en un centro activo) ... 190

8.3.5 Modelo de la adsorción en lecho fijo: curva de ruptura 190
8.4 Operación de desorción de soluto de un lecho fijo, en el caso de una isoterma lineal 195
8.4.1 Resumen de las soluciones del modelo de adsorción lineal 197
8.5 Pérdida de carga por fricción en lechos porosos 197
8.6 Cálculo empírico del cambio de escala: método LUB 198
8.6.1. Cálculo de la LUB a partir de pruebas a escala reducida 199
8.7 Momentos de la respuesta temporal 201
8.8 Cambio de escala basado en los parámetros del modelo 203
8.8.1 Metodología de cambio de escala más simple 203
8.8.2 Metodología de cambio de escala más elaborada 204
8.9 Adsorción no lineal: isoterma de Freundlich 205
8.9.1 Isoterma no lineal: cálculo del punto de ruptura 206
8.9.2 Estimación del punto de ruptura. Diseño del adsorbedor 206
8.10 Evaluación de los parámetros y consideraciones finales 210
8.11 Notación 212

9. Cromatografía 215

9.1 Fundamentos de la cromatografía de elución 217
9.1.1 Velocidad del frente de onda de un componente 217
9.2 Análisis de una columna como una serie de N adsorbedores 219
9.2.1 Consecuencias 221
9.2.2 Efecto de la transferencia de masa 222
9.3 Análisis de la columna continua 223
9.4 Eficacia de la columna: ecuación de Van Deemter 224
9.5 Parámetros que definen la separación de dos componentes 227
9.5.1 Resolución de dos picos 227
9.5.2 Control de la resolución 229
9.5.3 Control de la anchura del pico 229
9.6 Diseño de la columna, separación de proteínas y cambio de escala 231
9.6.1 Velocidad de operación de la columna y difusividad de los solutos 232
9.6.2 Diámetro de partícula 232
9.6.3 Diseño por cambio de escala en cromatografía 233
9.6.4 Otras reglas de cambio de escala de las columnas y los lechos fijos 235
9.6.5 Columnas de purificación de proteínas: regla de Yamamoto 235
9.6.6 Utilización de columnas en paralelo 239
9.7 Tipos de cromatografía más utilizados en biotecnología 240
9.7.1 Cromatografía de intercambio iónico 241
9.7.2 Cromatografía de afinidad 242
9.7.3 Permeación sobre gel (GPC o de exclusión por tamaño) 242
9.8 Consideraciones finales 243
9.9 Notación 244

10.Filtración tangencial 247

10.1 Los procesos de filtración tangencial 248
10.2 Los fundamentos de la filtración tangencial 251
10.2.1 Definiciones: factor de concentración, rendimiento, presión osmótica y Δp 252
10.2.2 Factor de retención y propiedades de la membrana 255
10.2.3 Membranas comerciales 255

10.2.4 Diseño del proceso de UF 257
10.3 Modelos de transporte de soluto a través de la membrana 257
10.3.1 Modelo de resistencias en serie: cálculo del flujo 258
10.3.2 Modelo de transferencia de masa: cálculo del flujo 259
10.3.3 Polarización y concentración de gelificación 259
10.3.4 Coeficientes de transferencia de masa 265
10.4 Microfiltración 269
10.4.1 Flujo de permeación en MF 269
10.5 Operaciones y procesos de filtración tangencial en biotecnología 272
10.5.1 Proceso de concentración: operación por cargas con recirculación 272
10.5.2 Operación de concentración: proceso por cargas (con recirculación) Caso de polarización $\beta = 1$ 276
10.5.3 Proceso de concentración en continuo: una etapa o varias etapas en serie 276
10.5.4 Proceso de diafiltración (DF): operaciones de lavado o de cambio de tampón 279
10.6. Módulos comerciales premontados para la filtración tangencial 280
10.7. Cambio de escala de la filtración tangencial 282
10.8 Consideraciones finales y conclusiones 283
10.9 Notación 284

11. Cristalización 287

11.1 Fundamentos de la cristalización 289
11.1.1 Cristales 290
11.1.2 Sobresaturación 291
11.1.3 Pureza 294
11.1.4 Velocidad de nucleación 298
11.1.5 Velocidad de crecimiento de un cristal 299
11.2 Cristalización de bioproductos. Operaciones por cargas y continuas 300
11.3 Distribución de las medidas de los cristales (DMC), número de cristales y densidad de la población 301
11.3.1 Operaciones de cristalización: proceso continuo 301
11.3.2 Función de densidad de la población 302
11.3.3 Momentos 305
11.3.4 Tamaño de cristal predominante, más frecuente o de diseño 307
11.3.5 Coeficientes cinéticos 307
11.3.6 Número de cristales por kg de producto 308
11.3.7 Relación velocidad de nucleación *vs*. velocidad de producción 308
11.4. Cristalización discontinua 310
11.4.1 Enfriamiento: Perfil Temperatura-Tiempo a sobresaturación constante 311
11.4.2 Cristalización discontinua con dilución 315
11.4.3 Cálculo del proceso de cristalización con dilución 316
11.5 Cristalizadores industriales 321
11.6 Cambio de escala de los cristalizadores 323
11.7 Nomenclatura 324

12.Secado 327

12.1. Los secaderos 327
12.1.1 El contacto gas-sólido 330

12.1.2 Perfiles de temperatura en un secadero 330
12.2 Fundamentos del secado de sólidos 331
12.2.1 Secaderos discontinuos de contacto directo. Velocidad de secado: régimen de velocidad de secado constante 334
12.3 Secaderos industriales 338
12.4 Secaderos discontinuos de contacto indirecto 341
12.4.1 El caso más sencillo: secado por conducción, tiempo de secado. Secadero de bandejas y liofilizador 342
12.4.2 Secadero industrial de bandejas. Cálculo preciso de la transmisión de calor 344
12.5 Secaderos adiabáticos continuos 347
12.5.1 Balances de masa y entalpía en secaderos continuos 348
12.5.2 Fluidización y secadero de lecho fluidizado. Cálculo semiempírico 350
12.6 Consideraciones finales 355
12.7 Notación 356

13.Diseño y evaluación económica de bioprocesos 359

13.1Diseño de proceso 359
13.2Tipos de estimaciones de diseño, su coste y precisión 361
13.3Diseño y evaluación económica 364
13.4Economía del proceso 365
13.4.1 Estimación del coste de capital 365
13.4.2 Estimación de los costes de producción 369
13.5Estudio de un caso: producción de la proteína GMF. Diseño y evaluación económica de la inversión 370
13.5.1 Proceso de producción de la proteína 370
13.5.2 Costes de la sección de fermentadores (o biosíntesis) 375
13.5.3 Costes de la sección de separación (o de procesado posterior) 376
13.5.4 Inversión total y costes anuales para la producción de GMF 378
13.6 Evaluación económica de un proyecto 378
13.6.1 Valor temporal del dinero 379
13.6.2 Evaluación de proyectos mediante el flujo de caja descontado 381
13.6.3. Comentarios sobre el método del flujo de caja: estudio de sensibilidad 384
13.7 Consideraciones finales y recomendaciones 385
13.8 Nomenclatura 386

Anexos 389

Anexo A. Teorema de Van der Laan 389
Anexo B. Tamaños de partícula y análisis granulométrico 390
Anexo C. Aire húmedo y diagrama psicrométrico 391

Bibliografía 395

Prefacio

Este libro trata de los fundamentos y las aplicaciones de los procesos corrientes para concentrar, separar y purificar, a escala de fabricación, los productos de las industrias biotecnológicas. Se dirige a los estudiantes interesados en los fundamentos de la biotecnología industrial y a los biotecnólogos en ejercicio que trabajan en la industria farmacéutica.

La biotecnología moderna se basa en la ingeniería genética, entendida como la manipulación genética de organismos vivos a fin de que produzcan productos útiles. Los bioproductos son sintetizados por células o gracias a enzimas en el biorreactor, o bien se extraen de plantas o de células vivas. Es indudable que las personas interesadas en la biotecnología –estudiantes, biólogos, científicos, farmacéuticos, ingenieros– se sienten atraídas principalmente por los avances y por el potencial de la biología moderna. Sin embargo, si la biotecnología debe ser efectiva, ha de generar productos en cantidades apreciables. Sin los procesos de separación y purificación en la fase de producción, ningún bioproducto llega a ser una realidad comercial. Los procesos de separación se inventan en el laboratorio a pequeña escala –a nivel de gramos o, a veces, miligramos–, pero acaban en la planta de producción a gran escala en kilos.

Como sucede en todas las industrias, los científicos y los ingenieros cooperan para llevar a cabo un producto o un proceso reproducible, eficiente, seguro y económico, que sea útil para la salud. Existe, sin embargo, una diferencia muy importante con respecto a otras industrias. En biotecnología, los procesos de recuperación y purificación del producto –que se denominan *downstream processing*, eso es, son las operaciones que siguen a la síntesis– pueden llegar a representar más del 80 % del coste directo de producción, como ocurre con ciertas las proteínas plasmáticas, con los ácidos nucleicos y sus derivados.

La separación del bioproducto comprende una larga secuencia de pasos, en cada uno de los cuales se aplican uno o diversos métodos de purificación, tales como la filtración, la precipitación o diversas cromatografías etc., antes de entrar en la tecnología farmacéutica convencional (preparados farmacéuticos, comprimidos, inyectables, kits). Estos procesos se preparan con esmero en el laboratorio y se trasladan a la planta industrial, reali-

zando una actividad multidisdisciplinaria de cambio de escala o extrapolación. Los capítulos de este libro presentan cada una de estas etapas como operaciones diferenciadas a partir del biorreactor, en el sentido de aislar primero el producto y después incrementar su pureza, tal como sucede en la realidad. Las bioseparaciones se escalonan a partir del fermentador y se exponen en los capítulos que comentamos a continuación.

En el capítulo 1, se explican cuáles son los bioproductos actuales y por qué las bioseparaciones son costosas. A continuación, se dedican cinco capítulos, del 2 al 6, a la generación y a la separación de partículas de los caldos de fermentación; la filtración convencional, la centrifugación, la disrupción celular, la floculación y la precipitación de proteínas. En los capítulos 7 y 8, se estudian los procesos de aislamiento del bioproducto, que son la extracción líquido-líquido y la adsorción-desorción, cuyo objeto es preparar un concentrado con cerca de un 10 % de materia activa. A partir de este punto, se pasa a los procesos de purificación mediante diversos tipos de cromatografía líquida. En ellos, se consiguen purezas de hasta el 80 %. Los tipos de cromatografía utilizados son: de exclusión por tamaño o GPC, de intercambio iónico, de adsorción HIC y la cromatografía de afinidad. En el capítulo 9, se exponen con detalle los procedimientos de cambio de escala para pasar a la planta de producción. En la industria biotecnológica, no son raras las columnas cromatográficas de 1 m de diámetro.

En el capítulo 10, se presentan los métodos de filtración a través de membrana (filtración tangencial, ultrafiltración y microfiltración), que se utilizan a menudo para acondicionar la alimentación a una separación cromatográfica posterior. Después de las separaciones cromatográficas, se obtiene un producto preparado para la cristalización, y posteriormente, para el secado. Estas dos operaciones –cristalización y secado– son procesos corrientes de acabado del producto, que producen cristales de pureza cercana al 100 % y que son típicos en biotecnología. Estos dos procesos se tratan en los capítulos 11 y 12. El capítulo 13 es una introducción al diseño y a la evaluación económica de los bioprocesos. Trata del cálculo práctico del fermentador y de los aparatos de separación, los costes de inversión y producción, y la evaluación económica de la inversión.

En el libro, se tratan los siguientes temas: 1) La extracción en fase acuosa bifásica (cap. 7); 2) El cálculo de la cristalización por dilución (cap. 10); y, 3) el diseño de adsorbedores de lecho fijo con una isoterma no lineal (cap. 8). En el capítulo 8, además, se presenta una solución exacta de la adsorción y la desorción en lecho fijo, obtenida sin simplificaciones, para el caso de una isoterma lineal.

El libro es el resultado de la experiencia del autor en la docencia y el desarrollo de procesos en la industria química y de polímeros, en diferentes empresas y universidades. En la UPC, el autor ha impartido las asignaturas Operaciones Básicas de planta piloto durante 27 cursos a lo largo de los últimos años, Procesos Químicos Unitarios en las enseñanzas regladas de Ingeniería Industrial (intensificación química) y de Ingeniería Química de la ETSEIB. Más recientemente, ha impartido las asignaturas Biotecnología Farmacéutica y Operaciones de Separación en el Máster en Ingeniería Biotecnológica de la UPC.

Hemos preferido ofrecer un texto completo sobre la materia. El nivel de conocimientos del libro es adecuado para los alumnos de los grados de Biotecnología y Farmacia, en especial para la asignatura Procesos de Separación y Purificación, y otras de índole similar; por ejemplo, Simulación de Bioprocesos o Proyectos, para las cuales el libro puede

servir de manual de consulta. Es muy importante que el alumno sea guiado por el profesor, el cual sabrá seleccionar y resumir la parte esencial de cada capítulo. El enfoque del libro corresponde al de las universidades que imparten biotecnología orientada a la producción industrial, es decir, con un

enfoque no estrictamente biológico. Como ya se ha comentado, primero se aborda el fundamento de cada proceso; después, se resuelven los problemas de diseño u operación, y, finalmente, se exponen los cálculos de cambio de escala y los aparatos más adecuados. Una preocupación constante del autor ha sido el rigor y la claridad de exposición, es decir, que los temas se entiendan bien.

Numerosos biólogos, bioquímicos y farmacéuticos, con una formación fragmentaria en ingeniería química, se ven en la necesidad de desarrollar procesos en el laboratorio y tener que pasarlos a planta, o bien especificar equipos nuevos, adquirirlos y hacerlos funcionar a plena escala. Buena parte de los ejemplos del libro se han orientado a cubrir esta necesidad.

Agradecimientos

Agradezco al profesor Juan J. Pérez, responsable del Master de Ingeniería Biotecnológica de la UPC, que me brindara la oportunidad de impartir las operaciones de separación en varias asignaturas de Ingeniería Biotecnológica y del Máster en Ingeniería Química, temas que son la base de este libro. Tengo que agradecer al Sr. Jordi Prats, que creyó desde el primer momento en el proyecto de edición de este libro dentro de Iniciativa Digital Politècnica (IDP-UPC). Agradezco a las Sras. Ana Latorre (IDP-UPC), Àngela de la Rosa, y Montserrat Tornés (biblioteca de la ETSEIB) su ayuda en distintos aspectos de la edición. Otras personas que me han ayudado de una forma u otra son los siguientes colegas y profesores: Enric Velo y Núria Saperas (ambos de la UPC), Marc Carnicer (IQS), Francisca Blánquez (UAB) y Eva Martín del Valle (Universidad de Salamanca). De especial ayuda han sido los biotecnólogos e ingenieros de la industria: Raimon Forés (Celgene), Laura Molina (Leitat Technological Center) y Eduard Lack (Natex Prozesstechnologie, Austria), experto en fluidos supercríticos. Agradezco especialmente a SULZER Chemtech, Ltd. (Winterthur, Suiza) la portada que muestra rellenos estructurados Sulzer tipos SMV/SMVP empleados como mezclador estàtico y en columnas de extracción líquido-líquido.

Hemos procurado ser cuidadosos en el texto y en los ejemplos, pero si el lector encuentra errores, puntos oscuros, y fallos de impresión, o quiere hacer sugerencias para mejorar aspectos técnicos, le agradeceremos que lo comunique.

Francesc Recasens
Febrero de 2018

→1

Procesos de bioseparación

En este libro se exponen los fundamentos de las operaciones unitarias más utilizadas para concentrar, separar y purificar a gran escala los productos de la biotecnología industrial moderna. En la literatura inglesa, este conjunto de procesos reciben el nombre de *downstream processing*, que designa la recuperación y la purificación del bioproducto después de la biosíntesis.

El procesado previo (o *upstream processing*) corresponde a las técnicas de biotecnología actuales, que comprenden la puesta a punto de cepas y células, su cultivo y el control del biorreactor a escala de producción. Podemos avanzar que estas técnicas biológicas conforman el núcleo fundamental de la biotecnología, y comprenden:

a) La selección, el diseño y la ingeniería molecular de las especies, o las cepas, técnicas de ADN recombinante y la modificación de la expresión genética de la célula.

b) La modificación del funcionamiento del biopr y la optimización de la fermentación.

c) El paso a plena escala del fermentador.

Este último aspecto, el cambio de escala, está relacionado con la problemática industrial de las técnicas de bioseparación, porque es una actividad propia de la ingeniería, como el resto de las operaciones de separación.

Con respecto al procesado después del biorreactor, pueden distinguirse dos actividades: el bioprocesado reactivo y el extractivo. El bioprocesado reactivo es aquel en que el bioproducto es obtenido en el fermentador. Como ya hemos visto en la enumeración anterior, los aspectos biológicos previos incluyen la selección de biocatalizadores y su enriquecimiento, el aislamiento, la propagación y la manipulación de células mediante técnicas de ADN recombinante y de hibridación, como también la optimización del medio y su formulación.

La fermentación no es necesariamente anaerobia; en general, se produce en presencia de aire y consiste en el crecimiento de bacterias y hongos, en el cultivo de células vivas de origen animal y vegetal, y algas, o en el crecimiento biológico con el fin de producir enzimas.

El bioprocesado reactivo se compone, pues, de tres etapas: Bioprocesado previo→ Crecimiento biológico→ Operaciones de bioseparación

1.1 ¿Qué separamos en la bioseparación?

Los productos que separaremos se pueden clasificar de diversas maneras. En la tabla 1.1, se clasifican según su naturaleza química.

Tabla 1.1
Productos de la biotecnología (Ghosh, 2006)

Categoría	Ejemplos
Disolventes	Butanol, acetona, etanol, dioles
Ácidos orgánicos	Ácidos cítrico, láctico, butírico, itacónico
Vitaminas	Ácido ascórbico, vitamina B12
Aminoácidos	Lisina, fenil-alanina, glicina
Antibióticos	Penicilinas, estreptomicina, gentamicina, tetraciclina, cefalosporina, lincomicina
Azúcares, polisacáridos	Glucosa, fructosa, dextranos, almidón
Ácidos nucleicos	Plásmidos, ADN, vectores retrovirales, ribozimas, enzimas diagnósticas
Proteínas purificadas	Enzimas terapéuticas, anticuerpos monoclonales, insulina, interferón, factores de crecimiento humano, vacunas, citocinas, interleucinas, hormonas
Proteínas semipurificadas	Proteinas industriales, proteínas del huevo, de la leche, de la soja o del suero
Células	Levadura de pan, levadura de cerveza, lactobacilo liofilizado, algas
Extractos celulares crudos	De levadura, de soja, de tejido animal
Hidrolizados	De soja, de suero, de tejidos animales
Alcaloides y esteroides	Prednisolona, codeína, morfina, quinina, estricnina, taxol

Estos bioproductos tienen su mercado en forma de productos químicos industriales, agroquímicos, farmacéuticos, alimentarios, nutracéuticos, de diagnóstico, productos químicos convencionales, especialidades, reactivos de laboratorio, productos de cosmética, etc.

En general, son productos de alto valor añadido, superior al valor de las especialidades de la industria química. Cabe señalar que la incidencia económica del coste de la bioseparación sobre el coste directo del producto es, como mínimo, del 20 %, aunque puede llegar a ser el 80 % del coste total directo (materias primas, fermentación, energía y otros costes directos). La tabla 1.2 da una idea de la influencia de los costes de separación

sobre el coste de producción directo. A medida que la especialización del bioproducto es mayor, el coste de separación también va aumentando, ya que las técnicas son menos convencionales. Esta tendencia se puede ver en la figura 1.1, que muestra claramente una relación inversa entre la concentración inicial y el precio de venta final.

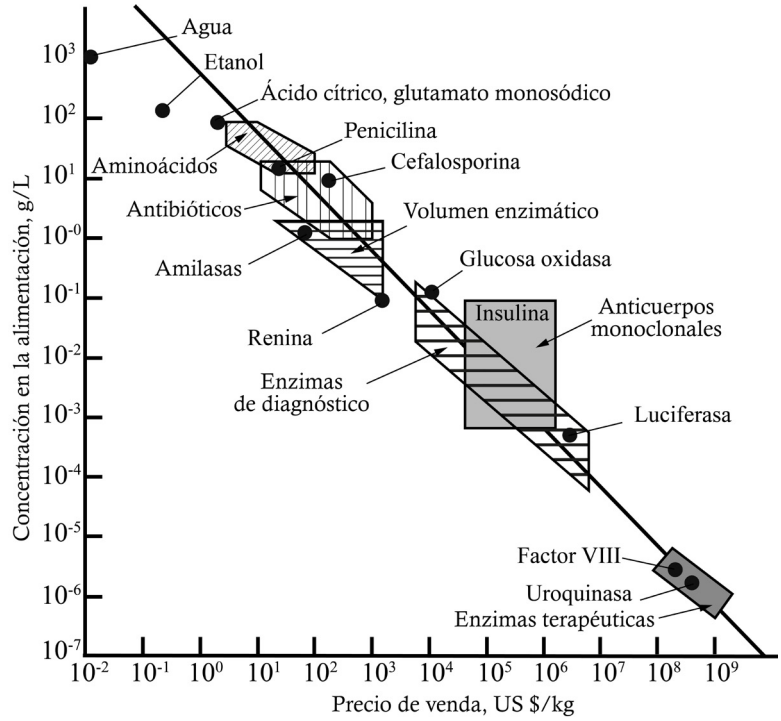


Fig. 1.1
Relación entre la concentración inicial del bioproducto y el precio final de venta (Blanch-Clark, 1997)

Bioproducto	**Coste de la bioseparación del coste de producción directo (en %)**
Disolventes	15-20
Células y extractos celulares crudos	20-25
Ácidos orgánicos, vitaminas y aminoácidos	30-40
Biopolímeros	40-50
Antibióticos	20-60
Enzimas industriales	40-65
Proteínas terapéuticas (no recombinantes)	50-70
r-ADN	60-80
Anticuerpos monoclonales	50-70
Ácidos nucleicos y derivados	60-80
Proteínas plasmáticas	70-80

Tabla 1.2
Incidencia del coste de separación (Ghosh, 2006)

1.2 ¿A qué es debido el elevado coste de bioseparación?

Podemos mencionar algunas causas:

1. La pequeña concentración del bioproducto en el caldo final de las fermentaciones, que en ocasiones es de miligramos por litro de caldo.

2. El grado de pureza que requieren algunos bioproductos, que obligan a una serie de etapas de separación, donde se trata una mezcla compleja con otros productos que interfieren y que son considerados impurezas que hay que dejar de lado.

3. Las múltiples separaciones y recuperaciones, que implican utilizar más aparatos y personal especializado.

4. Algunos bioproductos pueden desnaturalizarse por el calor y son sensibles a gradientes de corte elevados; por tanto, requieren la aplicación de técnicas "delicadas" con relación a la temperatura, el pH, la fuerza iónica, etc.

5. Los bioproductos termolábiles tienen que estar a temperaturas inferiores a la de ambiente.

En general, hay que seguir una estrategia adecuada de separaciones que permita maximizar la pureza y minimizar los costes.

Con respecto a la concentración final en el fermentador, es habitual obtener concentraciones de producto del orden de 100 g/m^3, como en el caso de los antibióticos, las cuales afectan todas las operaciones siguientes. Por ejemplo, en el caso de la extracción con solvente de antibióticos, la estrategia se basa en que el soluto cumple las leyes de la disolución diluida, lo cual resulta fundamental para calcular las etapas de extracción y la manera de hacerlas funcionar. Ello determina una logística compleja de disolventes de extracción y aguas residuales, debido a las grandes cantidades de líquidos que se manejan.

En la tabla 1.3, se especifican los requisitos de pureza que han de cumplir algunos productos biotecnológicos.

Tabla 1.3
Pureza requerida en función de la dosis (Blanch-Clark, 1997)

Utilización	**Dosis**	**Pureza**
Diagnóstico	*in vitro*	95 %
Vacuna	100 mg	99 %
Eritropoyetina (EPO)	1 g	99,9 %
Superóxido dismutasa (SOD)	3 g	99,99 %
Hormona del crecimiento humano (HGH)	>10 g	99,999 %

Las operaciones que hay que realizar se deciden en función del grado de pureza que se quiere alcanzar. En los productos derivados de células vivas (como las proteínas recombinantes), la recuperación dependerá, en parte, del microorganismo.

La localización de la proteína después de la secreción es un factor determinante. En el caso de las bacterias, la proteína puede ser intracelular, y entonces hay que liberarla al caldo. En otros casos, sin embargo, ha sido segregada de forma soluble y se halla en el caldo de fermentación final (con una concentración pequeña). Ello ahorra alguna operación costosa (homogeneización), pero plantea otros problemas.

Blanch y Clark (1997) señalan los principales microorganismos productores de proteínas que se utilizan normalmente para la modificación genética. Son: *Escherichia coli, Bacillus subtilis* y *Saccharomyces cerevisiae.* Aparte, también se puede trabajar con algunas células de mamífero. Además, se dan las características biológicas de interés (velocidad de crecimiento, rendimiento producto/sustrato, etc.), pero eso ya pertenece a la actividad profesional de los microbiólogos industriales.

1.3 Características de los procesos de separación: el agente de separación

En la figura 1.2, se representa un dispositivo de separación separación genérico. La alimentación consiste en una o varias corrientes entrantes. Tiene que haber, al menos, dos corrientes de salida de productos de la etapa que difieran en composición y que generalmente corresponden a fases diferentes. La separación es causada por un *agente de separación* específico, que constituye el fundamento del proceso. El agente de separación puede ser un disolvente, calor, un campo de fuerza o una barrera física (p. ej., una membrana semipermeable), y se representa mediante otra corriente en la figura 1.2.

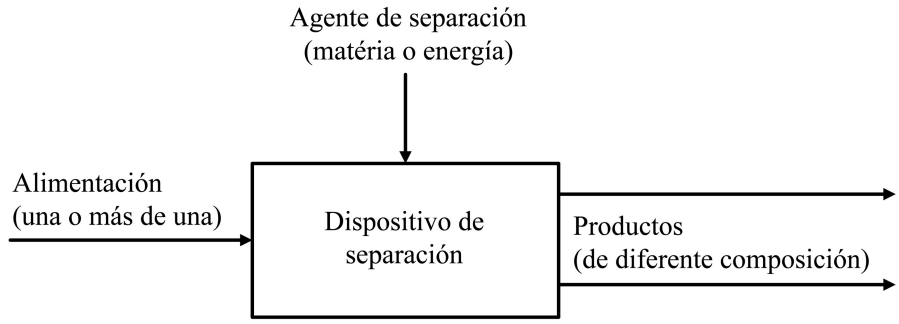


Fig. 1.2
Funcionamiento de una etapa o dispositivo de separación. Alimentación, agente de separación, corrientes de salida (King, 1980)

Se distinguen varios tipos de operaciones de separación según la naturaleza del agente de separación que se utilice (King, 1980). Son:

- *Operaciones mecánicas*. La alimentación es heterogénea (contiene 2 o 3 fases) y se obtienen 2 o 3 fases por separado.

- *Operaciones de etapas de equilibrio*. Un componente se transfiere de una fase a otra hasta alcanzar el equilibrio de las fases con respecto a él. Estas operaciones son

reversibles. En la figura 1.2, las corrientes de salida se hallan en equilibrio con respecto al soluto. La fase ligera se ha enriquecido, y la fase pesada lo ha perdido.

– *Operaciones gobernadas por la velocidad de transferencia de masa*. Un soluto se transfiere más rápidamente que otro. Estas operaciones son irreversibles (p. ex., la diálisis, etc.).

– Operaciones de transferencia simultánea de masa y calor (p. ej., el secado, la liofilización, etc.).

A diferencia de la ingeniería química, planteamos el estudio de las operaciones de separación en el mismo orden en que tienen lugar en la planta de bioproceso, de manera secuencial. Del fermentador hacia adelante, las operaciones se ordenan con el fin de aumentar la fracción de la materia activa y/o la pureza hasta el valor final requerido. Así pues, tenemos (Harrison *et al*., 2003):

1. *Generación y separación de partículas*. Sedimentación, centrifugación, floculación, homogeneización, filtración y precipitación.

2. *Aislamiento del producto*. Adsorción-desorción, extracción líquido-líquido, ultrafiltración.

3. *Purificación del producto*. Cromatografía líquida, métodos de afinidad, cristalización.

4. *Operaciones de acabado.* Deshidratación, secado.

Tabla 1.4
Ejemplo de etapas de procesado de antibióticos. (Belter et al., 1988)

		Producto	
Etapa	**Proceso**	**Conc., g/L**	**Materia activa,%**
Caldo de cultivo	Fermentación	0,1-5	0,1-1
Separación de insolubles	Filtración	1-5	0,2-2
Aislamiento	Extracción	5-50	1-10
Purificación	Cromatografía	50-200	50-80
Acabado	Cristalización	50-200	90-100

La tabla 1.4 establece los procesos anteriores para un caso general y la figura 1.3 ilustra el diagrama de bloques de la fabricación de un antibiótico. Téngase en cuenta que no todas las operaciones participan en todos los procesos. Así, las operaciones de fabricación del ácido cítrico son distintas, aunque se parecen a las mencionadas. Las operaciones que se han enumerado más arriba, de la primera a la cuarta, son representativas del conjunto de las operaciones que se utilizan en biotecnología.

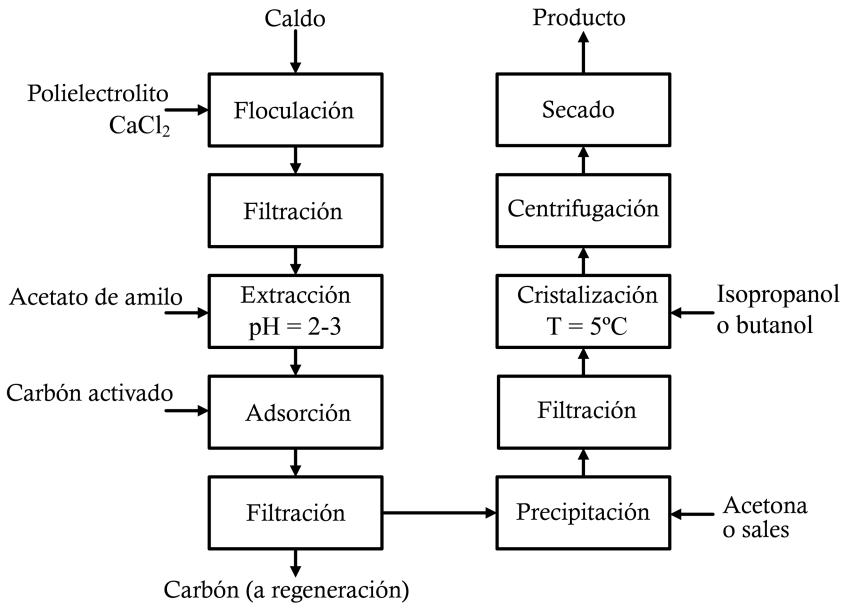


Fig. 1.3
Diagrama de bloques del proceso de purificación de un antibiótico a partir del caldo inicial

1.4. Diagrama de bloques de un ejemplo: la recuperación de los antibióticos

La producción de antibióticos se basa en el crecimiento aerobio de hongos muy especializados, según el antibiótico de que se trate. Como ya se ha dicho, la incidencia de las bioseparaciones sobre el coste de los antibióticos puede representar exactamente el 50 % de los costes de fabricación.

La figura 1.3 ilustra el diagrama de bloques de recuperación de la penicilina, y se comentan los aspectos que se presentan en la tabla 1.4. La etapa clave es la extracción líquido-líquido mediante un solvente adecuado (isopropanol o butanol). El extractor es del tipo Podbielniak, de forma que el tiempo de contacto con el solvente es mínimo, y así se evita la degradación del antibiótico en contacto con el solvente orgánico.

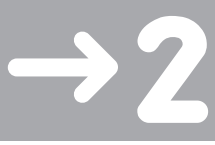
Normalmente, se utilizan colonias de musgos (micelios) para fabricar la penicilina. Así pues, se utiliza un filtro rotativo convencional para retirar el filtrado claro. Con el fin de tener una suspensión filtrable, se realiza la coagulación y la floculación de la suspensión con iones Ca y polielectrolitos, que permiten obtener un flóculo estable mayor, de fácil filtración. A continuación, la penicilina pasa por un lavado hasta pH neutro. Estas operaciones aumentan la materia activa unas 100 veces. Después de la extracción, se aplica un tratamiento con carbón activado con el fin de retirar impurezas por adsorción. Se separa el carbón gastado y la solución de penicilina se prepara para la precipitación en forma de sal sódica o potásica. Para ayudar a la formación de la sal insoluble, se dosifica acetona como no solvente y se lava con un alcohol soluble en agua, a fin de disolver las impurezas. En función de los diferentes solventes utilizados, la economía del proceso viene determinada en gran parte por la recuperación de los disolventes.

Las últimas etapas del proceso consisten en eliminar la humedad de los cristales, primero mecánicamente (centrifugación o filtración al vacío) y después por secado, mediante la evaporación del agua superficial con aportación de calor.

Estas dos etapas finales son comunes a la mayoría de procesos, pero pueden incluir otros (p. ej., la liofilización).

1.5 Conclusiones

A diferencia de las operaciones básicas de ingeniería química, las operaciones de separación de la biotecnología se estudian a partir del fermentador. Algunas operaciones son comunes a ambas tecnologías, pero otras son muy específicas de la biotecnología y se inventan para cada separación concreta, como es el caso de la adsorción, seguida de la desorción, la cromatografía de producción o la ultrafiltración.



Filtración

Este es el primer capítulo que trata de la separación sólido-líquido. El objetivo de este método de separación es recuperar el líquido filtrado o la biomasa, o ambos. Muy a menudo, el líquido contiene el bioproducto deseado, pero la biomasa también puede interesar. Un ejemplo de ello es la fermentación alcohólica, en que se quiere obtener tanto etanol como levadura.

Las operaciones de separación sólido-líquido más importantes en biotecnología son la filtración y la sedimentación centrífuga. La filtración de suspensiones líquidas se aplica a la filtración de partículas sobre dos tipos de medios:

- Tela, papel, lecho de partículas
- Membrana semipermeable

Estos dos tipos de filtración tienen un fundamento físico diferente, aunque las dos están inducidas por presión mecánica. En ambos casos, la fuerza impulsora es la diferencia de presión entre un lado y el otro del medio filtrante. En los filtros, el fluido se mueve y las partículas forman un depósito poroso. La acumulación de material sólido poroso que se deposita sobre el medio filtrante se denomina *torta*.

El primer tipo es la operación de *filtración convencional*, con flujo de fluido perpendicular a la superficie del medio filtrante y retención del sólido en forma de torta. Es decir, se comprime la suspensión perpendicularmente al medio filtrante con una bomba.

En la *filtración tangencial sobre membrana*, el flujo de filtrado se produce también a través de la membrana, pero la suspensión se hace fluir paralelamente a ella, con la ayuda de una bomba.

En la sedimentación centrífuga, las partículas se mueven en el seno del líquido, debido a una fuerza de sedimentación creada externamente.

La figura 2.1 ilustra los dos procesos de filtración. En este capítulo, se estudia la filtración convencional y, en el capítulo 10, los procesos de filtración tangencial a través de membrana. La filtración y la centrifugación se utilizan en las operaciones iniciales del bioproceso, en que interesa *separar grandes volúmenes de agua* del fermentador, el cual contiene pequeñas cantidades de sólidos (del 2 al 4 % en peso). En cambio, la filtración tangencial sobre membrana se utiliza varias veces entre ciertas operaciones de un mismo bioproceso, sobre todo para proceder al cambio de tampón para las diversas cromatografías. Esta operación se denomina *ultrafiltración* o *diafiltración*. Véase el ejemplo del proceso del interferón que se presenta en la figura 10.2 del capítulo 10.

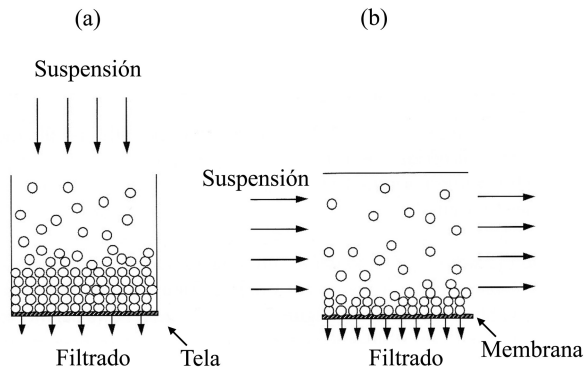


Fig. 2.1
Los dos tipos básicos de filtración: *a*) filtración convencional a través de una tela; *b*) filtración tangencial a través de una membrana (v. cap. 10)

En biotecnología, la filtración sirve para separar partículas en suspensión, fundamentalmente células (animales, vegetales), dejando el bioproducto soluble en el filtrado. Se utiliza en los procesos de producción de antibióticos y en la filtración en condiciones estériles. Pero también en la producción de biomasa (levadura de pan, proteína unicelular o SCP, etc.) como producto.

En este capítulo, tratamos de los principios de la filtración mecánica convencional (v. fig. 12.1a). La teoría de la filtración comprende los procesos de filtración:

- A presión constante
- A caudal constante

Aquí solo estudiamos la filtración a presión constante, que es la que interesa más en biotecnología industrial.

Después de una introducción general, veremos los medios filtrantes y los aparatos más importantes en biotecnología. Acto seguido, presentaremos la teoría de la filtración y la caracterización experimental de laboratorio de la operación. Normalmente, la filtración va seguida del lavado o enjuagado de la torta, que estudiamos a continuación. Después exponemos los filtros rotativos, y cómo se dimensionan y cómo se efectúa el cambio de escala. Los más comunes en biotecnología son los filtros continuos rotativos, aunque también se utilizan los filtros prensa. En el capítulo 10, se estudia la filtración tangencial sobre membrana.

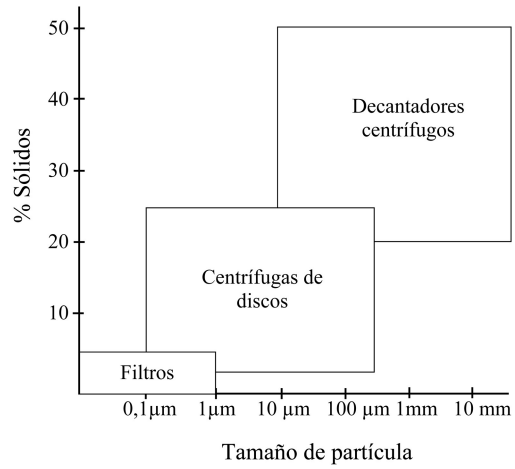


Fig. 2.2
Tipos de aparatos que se utilizan normalmente para la separación de sólidos y líquidos. Eje de ordenadas: porcentaje de sólidos (% de peso); eje de las abscisas: tamaño de las partículas. Los aparatos de este capítulo se utilizan para eliminar gran cantidad de líquido

En la tabla 2.1, se resumen los aparatos y los dispositivos de filtración que se utilizan para separar sólidos de fluidos de forma general. En cambio, los separadores centrífugos permiten separar partículas más pequeñas, de un tamaño mínimo de 1 μm En el capítulo 3, se estudia la centrifugación. La figura 2.2 ilustra los intervalos aproximados de porcentajes de sólidos y tamaños de partícula de filtros y centrífugas.

Tabla 2.1
Aparatos de filtración de partículas en el agua o en el aire

Aparato/dispositivo	Intervalo de tamaños de partícula, en μm
Membrana sintética	10^{-5}-10^{-4}
Ultracentrífuga	10^{-3}-1
Centrífuga	0,05-5
Colector de tela	0,05-500
Panel de filtros o de candelas	0,1-10.000
Filtro de aire	2-50
Separador centrífugo	1-1.000
Ciclón (alta eficacia)	6-35
Filtro prensa (tela)	10-50
Filtro de tela y fibras	20-10.000
Sedimentador por gravedad	45-10.000
Malla de tamices	50-20.000

En algunos casos, se utilizan coadyuvantes de filtración para la formación de una precapa para aumentar la velocidad, en las filtraciones difíciles, y floculantes para aumentar el tamaño de partícula de la suspensión. En la tabla 2.2, se describen los flujos de filtración habituales según si son fáciles o de difíciles de filtrar. Y, en la tabla 2.3, se dan los valores de algunos bioproductos y microorganismos relacionados con los antibióticos.

Tabla 2.2
Clasificación de la filtración según el valor del flujo (en el laboratorio al vacío)

Velocidad de filtración del líquido	Valor del flujo de filtración
Rápida	de 0,1 a 10 cm/s
Media	de 0,1 a 10 cm/min
Lenta	de 0,1 a 10 cm/h

Tabla 2.3
Velocidades de filtración al vacío típicas de los bioproductos

Bioproducto	Microorganismo	Flujo de filtración normal, en L/m²h
Kanamicina	*S. kanamyceticus*	~ 0,7
Lincomicina	*S. lincolnensis*	2,6-3,8
Eritromicina	*S. erythraeus*	2,9-5,7
Neomicina	*S. fradiae*	~ 1,1
Penicilina	--	12-16
Proteasa	*B. subtilis*	0,9-3,7

*Con coadyuvante de filtración (precapa), sobre filtro de hoja al vacío

2.1 Factores que intervienen en la filtración

Hay una serie de variables que afectan al proceso de filtración, a tener en cuenta para seleccionar un filtro. Como variables del fluido y la suspensión, tenemos:

- La concentración de sólidos en suspensión
- El tamaño de partícula de los sólidos
- La viscosidad y la densidad del fluido, y su reología
- El pH y la temperatura

Como variables de diseño a especificar, debemos considerar:

- El área del filtro, el material de la tela y su resistencia
- El caudal que hay que tratar
- La caída de presión que se debe vencer
- La cantidad de sólidos que quedan retenidos en el filtro constituyendo la torta
- La humedad final de la torta
- El tiempo de lavado de la torta

A continuación, se exponen los tipos de aparatos que se pueden utilizar para realizar la filtración, ya sea convencional o para efectuar bioseparaciones.

2.1.1 Medios filtrantes y filtros industriales

Tabla 2.4
Medios filtrantes (se incluyen membranas)

Tipo	Ejemplos	Tamaño de la partícula capturada, en µm
1. Fabricación de sólidos	Tubos de malla	5
2. Medio poroso rígido	Cerámica, metal sinterizado	1 3
3. Metal	Placas perforadas, malla tejida	100 5
4. Plásticos porosos	Hojas, placas, membranas	3 0,005
5. Tejido	Natural, sintético, de fibra	10
6. Tejido no tejido	Fieltro, papel, celulosa	10 5
7. Cartuchos	Fibras especiales	2
8. Sólidos sueltos	Fibras, asbesto, celulosa	Submicra

Fuente: tabla basada en Sinnott (1993)

En el laboratorio, se utilizan normalmente papel de filtro, de tipo Büchner, o placas de vidrio poroso para los trabajos de filtración habituales. Sin embargo, se recomienda tener en cuenta las posibilidades industriales cuando se desarrollan los datos de selección de un filtro. La tabla 2.4 resume los medios filtrantes habituales en función del tamaño mínimo de la partícula retenida. Hoy en día, las telas de filtro son de tejido de polipropileno, con diferente gramaje y porosidad. Por debajo de las 2 μm, se recomienda pensar en un filtro de precapa con coadyuvantes de filtración (v. Perry), o bien en un pretratamiento térmico o con floculantes (v. capítulo dedicado a la precipitación para el tema de la floculación).

Con respecto a los filtros industriales, describimos solo los más interesantes en biotecnología. Se puede hallar una descripción bastante completa en Coulson-Richardson (2003). Los principales tipos de filtros industriales son los siguientes:

Filtro Nutsche. Es un filtro por cargas simple. Consiste en un tanque con la base perforada que soporta el medio filtrante.

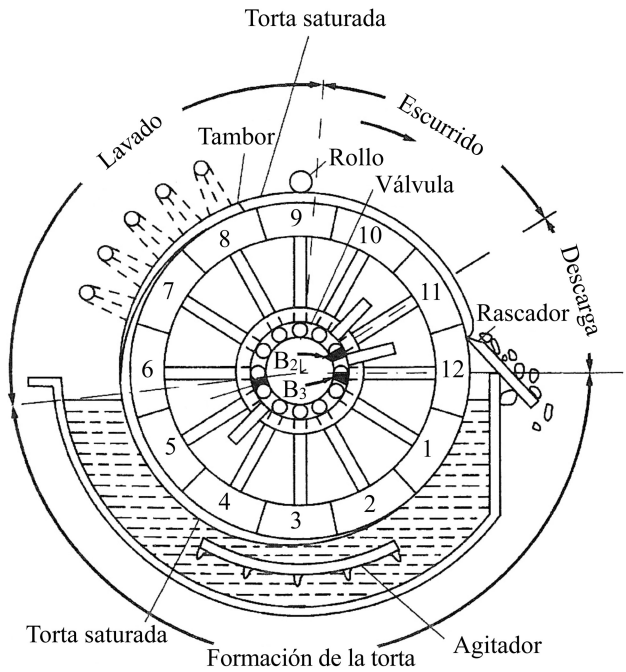


Fig. 2.3
Esquema de un filtro rotativo continuo al vacío (v. sentido de rotación). La tela filtrante está montada sobre el tambor giratorio y el vacío se hace desde el centro del aparato, cuando el tambor está sumergido. La secuencia de operaciones es: formación de la torta (de 12 a 6), lavado de la torta (de 6 a 9), soplado (de 9 a 11) y descarga (12). La fracción sumergida equivale al 30-40 % de la superficie total de la tela

Filtro rotativo al vacío. Es el tipo más corriente y económico de filtro continuo (v. fig. 2.3). Esencialmente, es un tambor giratorio sobre el cual reposa la tela y que está sumergido durante 1/3 del ciclo en la suspensión, y el filtrado es aspirado a través del medio gracias al vacío practicado desde dentro del cilindro. Sigue rodando y la torta formada se aclara con el lavado y se sopla con aire comprimido para eliminar parte de la humedad. Las presiones habituales son de hasta 0,9 bar (a). Para retirar la torta de la máquina, se utilizan cuchillas, *jets* de aire o alambres, que hacen desprender la torta escurrida. La frecuencia de rotación es pequeña, de 1-2 rpm. Admite grandes producciones, de hasta

2.500 kg/m^{2}h. En la figura 2.4, se muestra el diagrama del proceso de instalación de un filtro conectado al sistema de vacío de la planta, a través de un condensador barométrico.

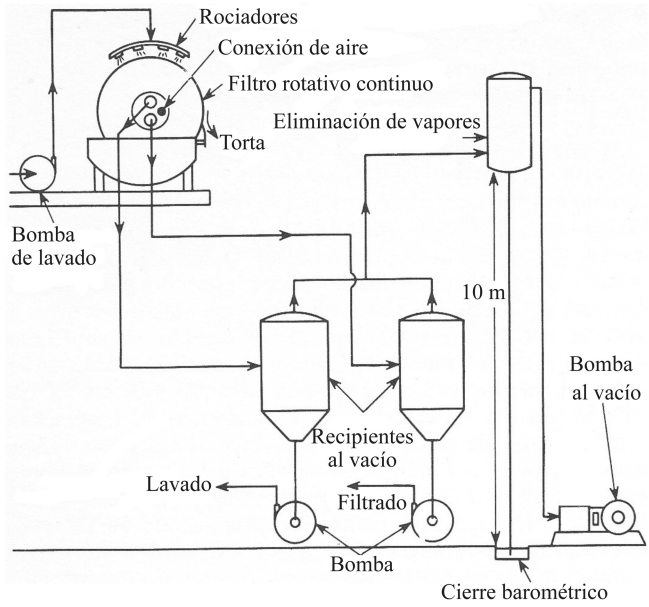


Fig. 2.4
Diagrama de flujo del sistema de vacío de un filtro rotativo (arriba, a la izquierda). El sistema de vacío incluye: la captura de los vapores (condensador barométrico), la bomba de vacío de la planta (abajo, a la derecha) y la columna de 10 m de altura, que tiene el cierre barométrico a nivel del suelo, de la cual rebosan los vapores condensados. Fuente: diagrama adaptado de McCabe-Smith (1968)

Filtro de banda. Una variante del filtro rotativo de vacío continuo es el filtro de banda. Esencialmente, es como un filtro rotativo estirado con una tela sin fin, semejante a una máquina de papel. Se construye con una superficie filtrante de entre 1,5 m^2 y 84 m^2 y, por tanto, admite grandes producciones. Las unidades Pannevis-Larox se emplean en la filtración de levadura, biomasa y biolignina. Su mantenimiento es menor que el de los filtros rotatorios convencionales, gracias al movimiento de las cajas de vacío que siguen a la tela y a una mecánica mejorada.

Para filtros de vacío a escala de la planta piloto, se puede prescindir del condensador barométrico, empleando una bomba de vacío de anillo líquido de capacidad sobrada, acoplada directamente al colector de filtrado. El agua fría del anillo líquido de la bomba sirve para condensar los vapores.

Filtro prensa. Es un filtro de presión que puede operar hasta varias atm. Es el tipo más antiguo de filtro industrial y trabaja por cargas. Consiste en un conjunto de 20 a 30 filtros planos, alimentados en paralelo (v. figs. 2.5 y 2.6). Es muy versátil y se fabrica con platos marco de 10×10 cm a 1×1 m o mayores. Permite trabajar con suspensiones de gran consistencia y viscosidad. Actualmente, se hacen máquinas de gran precisión y muy automatizadas, que permiten abarcar un rango de partículas muy grande. Trabaja a presiones de 2 a 6 bar y con velocidades específicas de 0,5 a 10 m^3/m^{2}h, según las características de la torta.

Un aspecto importante de los filtros es el porcentaje de sólidos en la torta final. Industrialmente, es más económico retirar mecánicamente la humedad en un filtro o en una centrífuga haciendo un escurrido vigoroso, que retirar la humedad por secado, que es un

proceso más caro. En los filtros al vacío continuos, los porcentajes de sólidos no superan el 30-40 %. Este es un factor importante a la hora de calcular la economía de un filtro.

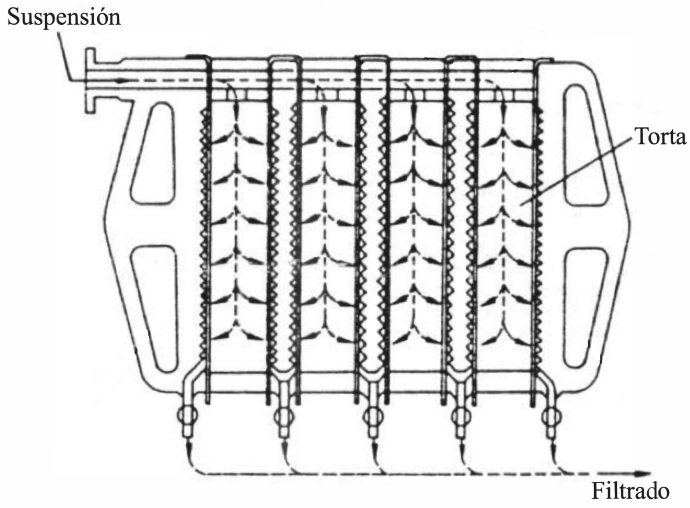


Fig. 2.5
Filtro prensa. Consiste en un conjunto de filtros que se alimentan en paralelo. Cuando el espacio entre placas filtrantes está lleno, los marcos/platos se abren automáticamente, y se expulsan las tortas formadas. Las placas y los marcos pueden medir desde 50×50 cm hasta 2×2 m. La suspensión se comprime con una bomba a 4-6 bar

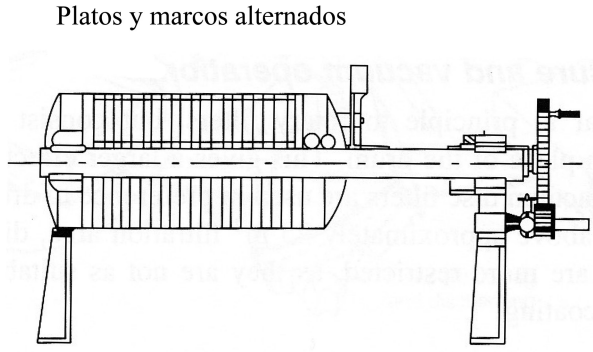


Fig. 2.6
Vista exterior de un filtro prensa, con mando manual de los marcos y platos montados sobre un bastidor.

2.2 Teoría de la filtración

Denominamos *flujo de filtración* el volumen de líquido claro producido por unidad de tiempo y por unidad de área de filtro. Lo designamos por J y representa la velocidad superficial del líquido sobre el medio:

$$J = \frac{1}{A}\frac{dV}{dt} \tag{2.1}$$

J se expresa en m^3/m^2s (= m/s).

Ley de Darcy. En flujo laminar, el caudal de filtrado es directamente proporcional al área filtrante y a la caída de presión, e inversamente proporcional al espesor del filtro L y a la viscosidad del fluido. Es la llamada *ley de Darcy*. Es decir:

$$\frac{dV}{dt} = k\frac{A(-\Delta p)}{\mu L} \tag{2.2}$$

válida para condiciones laminares. Teniendo en cuenta que J = u, tenemos:

$$u = \frac{1}{A}\frac{dV}{dt} \tag{2.3}$$

El número de Reynolds a través de un lecho fijo de partículas ha de ser laminar. El flujo de líquido a través de un lecho fijo es laminar si:

$$\mathrm{Re}_p = \frac{d_p u \rho}{\mu} < 100 \tag{2.4}$$

siendo d_p= diámetro de las partículas, en m; u = J = velocidad superficial, en m^3/m^2s (= m/s). Esta condición de Re_p se cumple en las bioseparaciones, que con frecuencia tienen una viscosidad superior a la del agua (hasta 40 cP, agua = 1 cP). Diversos investigadores han mostrado que, en un lecho fijo, la turbulencia empieza cuando $Re_p > 100$, que se detecta por la separación de la capa límite detrás de las partículas.

Durante la filtración, las partículas rígidas se depositan sobre el medio filtrante y forman una torta porosa. El espesor de la misma va aumentando, al tiempo que se forman canales o capilares entre los sólidos por los cuales el filtrado fluye en régimen laminar. Puesto que la cantidad de sólido depositado va en aumento, el caudal de líquido filtrado (a presión constante) disminuye. La ecuación que relaciona el flujo de filtración a través de un lecho con la caída de presión es:

$$u = \frac{k(-\Delta p)}{\mu L} \tag{2.5}$$

donde u es la velocidad del líquido, en m/s; (–Δp) es la caída de presión en el filtro, en Pa; μ es la viscosidad del fluido, en Pa·s, y L es el espesor de la torta, en m. La constante k es la constante de Darcy (en m^2), que se denomina *permeabilidad*. La resistencia total es la combinación de la del medio filtrante y la de la torta; como son resistencias en serie:

$$\frac{L}{k} = R_m + R_c = R \tag{2.6}$$

donde R_m es la resistencia de la tela y R_c, la resistencia de la torta, en m^{-1}. La primera es fija y depende de si la tela es más o menos tupida, mientras que la segunda es variable y aumenta con el tiempo de filtración, a medida que se van depositando partículas y la torta incrementa su espesor. Combinando la ley de Darcy con la ecuación básica de la filtración, el flujo se puede expresar como:

$$\frac{1}{A}\frac{dV}{dt} = \frac{(-\Delta p)}{\mu(R_m + R_c)} \tag{2.7}$$

La torta de filtración puede ser incompresible o compresible. A continuación, se deducen las ecuaciones de la teoría de la filtración, tanto para tortas incompresibles como compresibles. Y, acto seguido, estas ecuaciones se aplican a un filtro de vacío rotativo, que, como ya se ha comentado, se utiliza ampliamente en bioseparaciones industriales.

2.3 Filtración a presión constante. Torta incompresible

Si la torta que se va formando es incompresible, su espesor es directamente proporcional al volumen del líquido filtrado e inversamente proporcional al área del filtro. Por tanto, en este caso, la resistencia de la torta se puede expresar como:

$$R_c = \frac{\alpha C V}{A} \tag{2.8}$$

donde α es la resistencia específica de la torta, en m/kg; C es la masa de sólido depositado por unidad de volumen de filtrado, en kg/m^3 (eso es, la concentración de sólidos en la suspensión) y, por tanto, el producto CV representa la masa (en kg) de sólidos depositados sobre el filtro cuando ha pasado un volumen de filtrado V. R_c se expresa en m^{-1}.

Si sustituimos las ecuaciones anteriores en la ecuación básica de la filtración (ec. 2.7), tenemos:

$$\frac{1}{A}\frac{dV}{dt} = \frac{(-\Delta p)}{\mu\left[\alpha C \frac{V}{A} + R_m\right]} \tag{2.9}$$

Invirtiendo esta ecuación, separando variables e integrando (con $-\Delta p$ = constante), con V(0) = 0, se obtiene:

$$\frac{t}{V} = \frac{\mu\alpha C}{2A^2(-\Delta p)}V + \frac{\mu R_m}{A(-\Delta p)} \tag{2.10}$$

Las ecuaciones 2.9 y 2.10 son las ecuaciones fundamentales de la filtración. La ecuación 2.10 relaciona el volumen de filtrado V obtenido, durante un tiempo t, manteniendo constante la caída de presión en el filtro, en función de la resistencia combinada del filtro (medio + torta). La altura de la torta formada, h(t), está relacionada con los valores de V y t, a través de la ecuación de R_c (ec. 2.8). Así, pues:

$$h = \frac{CV}{\rho_c A} \tag{2.11}$$

donde la densidad de la torta se puede calcular a partir de la relación siguiente:

$$\rho_c = \varepsilon\rho_L + (1-\varepsilon)\rho_s \tag{2.12}$$

siendo ε la porosidad o fracción vacía. Algunos autores introducen los parámetros *a* y *b*, definidos como:

$$a = \frac{A^2(-\Delta p)}{\mu\alpha C} \tag{2.13a}$$

$$b = \frac{AR_m}{aC} \tag{2.13b}$$

El parámetro *a* está relacionado con la resistencia de la torta, R_c, y el parámetro *b*, con la resistencia del medio, R_m. Con estos parámetros, la ecuación diferencial de la filtración (ec. 2.10) pasa a ser:

$$(b+V)\,dV = a\,dt \tag{2.14}$$

que se puede integrar entre t = 0 y V = 0, y t = t y V. El volumen de filtrado al cabo de un tiempo t, V(t), valdrá:

$$V(t) = \sqrt{b^2 + 2at} - b \tag{2.15}$$

Inversamente, el tiempo t en función del volumen filtrado V, vale:

$$t(V) = \frac{V^2}{2a} + \frac{b}{a}V \tag{2.16}$$

Consecuencias

1. La primera es que si disponemos de datos experimentales de volumen filtrado V en función del tiempo, t, a presión constante, y con α constante, se pueden caracterizar los parámetros del filtro, α y R_m. La ecuación 2.10 indica que la regresión de datos de t/V *vs*. V es una recta cuya pendiente es función de la caída de presión y de las propiedades de la torta, y su ordenada en el origen es independiente de las propiedades de la torta, pero es proporcional a la resistencia del medio filtrante. Haciendo diferentes pruebas de filtración en un filtro, a vacíos constantes diferentes, se obtienen líneas rectas diferentes (v. ejemplo 2.1). En resumidas cuentas, para el gráfico de t/V *vs*. V, la pendiente vale:

$$\text{Pend.} = \frac{\mu\alpha C}{2A^2(-\Delta p)} = \frac{1}{2a} \tag{2.17}$$

   y la ordenada en el origen:

$$Ord.\ origen = \frac{\mu R_m}{A(-\Delta p)} = \frac{b}{a} \tag{2.18}$$

2. En general, la resistencia de la tela es despreciable; entonces, la ecuación 2.10 se puede simplificar haciendo $R_m = 0$, y b/a = 0. Por tanto, se tiene:

$$t = \left[\frac{\mu\alpha C}{2(-\Delta p)}\right]\left(\frac{V}{A}\right)^2 \tag{2.19}$$

Luego, el tiempo de filtración es proporcional al cuadrado del volumen filtrado. E, inversamente, V es proporcional a $\sqrt{t}$.

Las ecuaciones básicas para el dimensionado de filtros de acuerdo con la teoría de la filtración, con a = constante, son las siguientes. Para tortas incompresibles, podemos es-

timar el valor de *a* de los datos de filtración (v. ejemplo 2.1). Si no tenemos datos experimentales, podemos estimar *a* mediante la ecuación de Kozeny-Carman para partículas rígidas iguales, cuya expresión (McCabe *et al.*, 1993) es la siguiente:

$$\alpha = \frac{5a_p(1-\varepsilon)}{\varepsilon^3 \rho_p} \tag{2.20}$$

que corresponde a régimen laminar para lechos de partículas de área específica a_p, con una porosidad del lecho ε y una densidad de la partícula ρ_p.

Para lechos compresibles de microorganismos, α puede variar ampliamente con $(-\Delta p)$. La mayoría de los microorganismos de interés dan valores de α variables. En la gráfica de la figura 2.7, se da α en función del diámetro de partícula d_p (v. ejemplo 2.2). Aunque los datos del gráfico no son muy extensos, son útiles para un cálculo inicial de un filtro. El diámetro de la figura 2.7 corresponde a:

$$d_p = \frac{6V_p}{A_p} \tag{2.21}$$

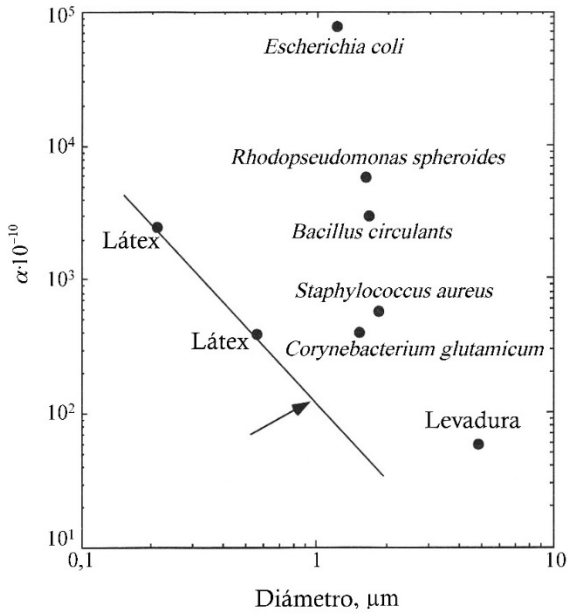


Fig. 2.7
Valores de la resistencia específica α, para tortas de microorganismos frecuentes en las fermentaciones, con tamaños de 1 a 5 μm. La línea recta del gráfico corresponde a la ecuación de Kozeny-Carman para esferas incompresibles de PS. Las unidades de α son m/kg (Kato-Yoshida, 2013)

En los ejemplos que siguen, se ilustra la utilidad de la teoría de la filtración.

Ejemplo 2.1. Parámetros de un filtro

Uno de los filtros continuos más utilizados en biotecnología es el filtro rotatorio. Para obtener datos de selección de un filtro industrial, se pueden utilizar los datos de laboratorio medante un embudo Büchner. En este caso, utilizamos una tela circular de 20 cm de diámetro. La caída de presión a través de la torta es de $-\Delta p = 0{,}7$ bar, por conexión a una bomba de vacío constante. Para un problema de filtración de una suspensión de

Streptomyces, tenemos una densidad de 1.050 kg/m^3, una viscosidad de 32 mPa·s y una concentración de biomasa (partículas) de 30 kg/m^3. En una prueba con el embudo de laboratorio, se obtienen las lecturas del V de filtrado, en función del tiempo:

t(s)	189	320	507	727	940	1.204	1.481	1.791	2.116	2.479
V(cm^3)	100	150	200	250	300	350	400	450	500	550

1. Represéntense los datos de t/V en función de V.

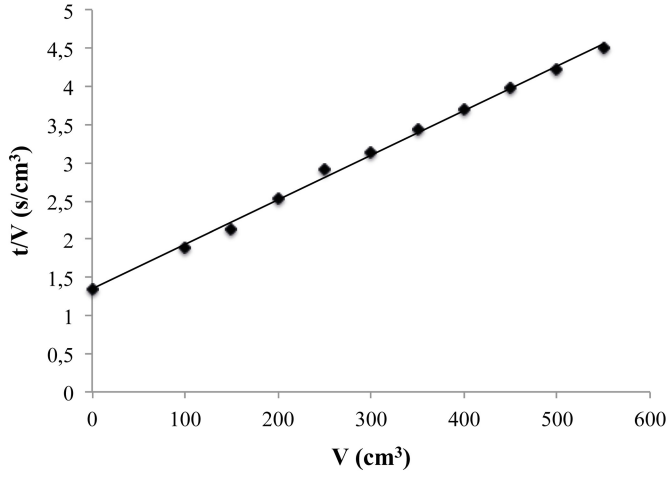
2. Para el filtro Büchner, determínese la resistencia específica de la torta α (en m/kg) y la resistencia del medio filtrante R_m (en m^{-1}).

1. La ecuación de filtración integrada es la ecuación 2.10. Haciendo la representación de t/V *vs*. V, obtenemos el gráfico de la figura del ejemplo 2.1, que da:

$$\text{pendiente} = \frac{\mu\alpha C}{2(-\Delta p)A^2} = 6,0\times10^{-3}\, s/cm^6 = 6\times10^9\, s/m^6$$

$$\text{ord.origen} = \frac{\mu R_m}{(-\Delta p)A} = 1,35 s/cm^3 = 1,35\times10^6\, s/m^3$$

Ejemplo 2.1
Regresión de los datos de t/V *vs*. V, de donde se lee la pendiente y la ordenada al origen de la recta



2. Los valores del filtro de laboratorio son: $-\Delta p = 0,7\times10^5$ Pa, A = 314 cm^2 (314×10^{-4}m^2), C = 30 kg/m^3, de donde los valores de α y R_m serán:

$$\alpha = \frac{(\text{pendiente})2(-\Delta p)A^2}{\mu C} = \frac{6\times10^9\times2\times0,7\times10^5\times\left(986\times10^{-6}\right)}{32\times10^{-3}\times30} = 8,627\times10^{11}\, m/kg$$

$$R_m = \frac{(\text{ord. origen})(-\Delta p)A}{\mu} = \frac{1,35\times10^6\times0,7\times10^5\times314\times10^{-4}}{0,032} = 9,27\times10^{10}\, m^{-1}$$

Ejemplo 2.2. Estimación del tiempo de filtración aproximado

Para un filtro para una suspensión de levadura bien caracterizada, se puede calcular a priori el tiempo de filtración si admitimos que α se puede evaluar con la figura 2.7, y el valor de R_m se estima a partir de su orden de magnitud, que es 10^{11} m^{-1}. Así pues, para *Saccharomyces cerevisiae*, 500 L de suspensión, con una concentración de 10 kg/m^3 (viscosidad = 1 cP), se quiere filtrar a una caída de presión de $-\Delta p$ = 1 bar. Disponemos de un filtro de A = 1 m^2 de superficie total. De la figura 2.7, para levadura, $\alpha = 7{,}5\times10^{11}\, m/kg$.

1. Calcúlese la curva de filtración prevista, V(t).
2. Según los criterios de la tabla 2.2, ¿cómo calificaría la dificultad de la filtración?

1. Los datos son A = 1 m^2, $\mu = 10^{-3}$ Pa·s, $-\Delta p = 10^5$ Pa. Utilizamos la ecuación básica de la filtración (ec. 2.10):

$$\frac{t}{V} = \frac{\mu a C}{2A^2(-\Delta p)}V + \frac{\mu R_m}{A(-\Delta p)}$$

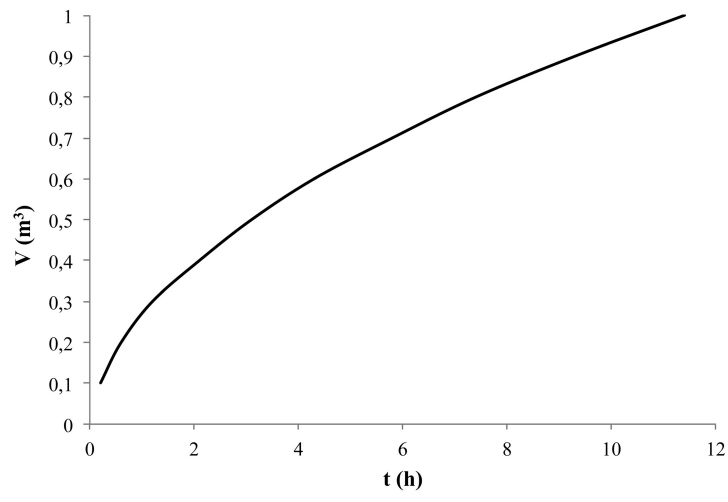
y calculamos t:

$$t = \frac{\mu a C V^2}{2A^2(-\Delta p)} + \frac{\mu R_m V}{A(-\Delta p)} = \frac{10^{-3}\times7{,}5\times10^{11}\times10}{2\times10^5}V^2 + \frac{10^{-3}\times3{,}5\times10^{11}}{1\times1\times10^5}V$$

de donde:

$$t = 37.500V^2 + 3.500V$$

para V = 0,5 m^3, t vale 11.250 s = 3,02 h. Podemos representar la gráfica V(t) de la ecuación anterior (v. fig. ejemplo 2.2).



Ejemplo 2.2
Estimación de la curva de filtración a presión constante, para 1 m^3 de caldo

2. El flujo total medio será:

$$J = \frac{0,5}{1 \times 11.250} = 4,4 \times 10^{-5}\ m/s = 0,26\ cm/\text{min}$$

que es de dificultad de filtración *media*.

2.3.1 Torta incompresible y compresible: datos de compresibilidad

La mayoría de microorganismos son compresibles. Así pues, para poder aplicar las ecuaciones vistas hasta ahora, hay que corregir la compresibilidad, α. Con el fin de estimar los efectos de compresión, se supone que la resistencia de la torta α es función de la caída de presión, ya que al aumentar la presión aumenta la resistencia específica. Una de las expresiones aceptadas es la siguiente:

$$\alpha = \alpha_0 \left(-\Delta p\right)^s \tag{2.22}$$

donde S es el llamado factor de compresibilidad de la torta, que depende del tamaño y forma de las partículas. En la práctica, S suele variar entre 0,1 y 0,8. Si la compresibilidad de la torta fuera muy elevada, habría que hacer un pretratamiento de la alimentación.

Los valores de S y α pueden determinarse representando el logaritmo de α frente al logaritmo de Δp, como se muestra en las figuras 2.8 y 2.9. Los datos de la figura anterior sirven para determinar S, para un amplio intervalo de presiones (v. McCabe-Smith, 1968).

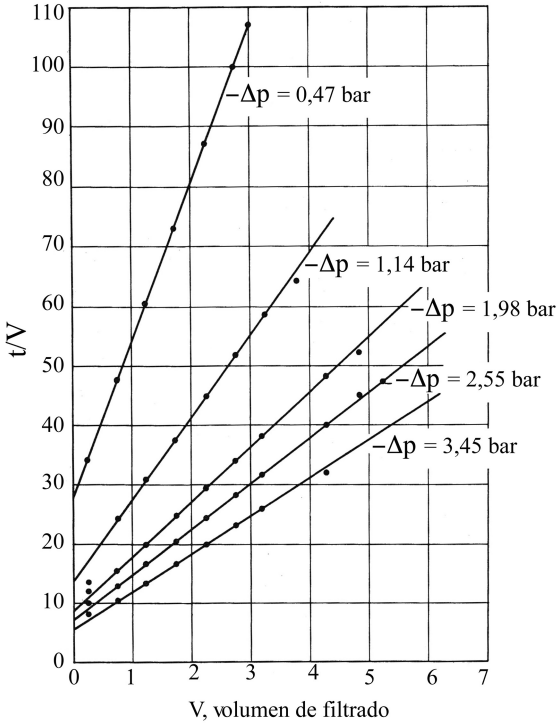


Fig. 2.8 Regresiones de tiempo/volumen de filtrado *vs.* volumen de filtrado, para un filtro que opera a diversas caídas de presión, con torta compresible. Cada recta corresponde a una −Δp constante. A lo largo de cada recta, el valor de α es constante. Así pues, la dependencia de α *vs.* −Δp se puede obtener de la pendiente de cada recta (v. texto)

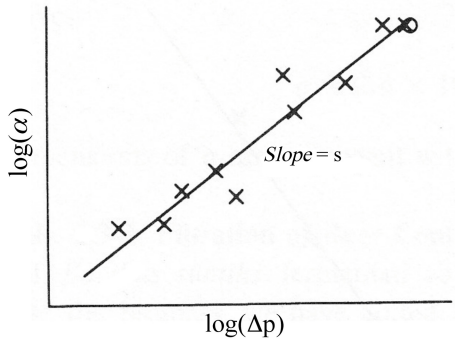


Fig. 2.9
Correlación logarítmica para tortas compresibles. En función de $-\Delta p$, α se obtiene de la regresión de la figura 2.8 y es del tipo α filtro Büchner $= \alpha_0 (-\Delta p)^s$. La mayoría de las tortas de microorganismos son compresibles (v. fig. 2.9). S = 0,1 a 0,9

2.3.2 Mejora de la velocidad de filtración

De la teoría de la filtración, se desprenden algunas posibilidades para aumentar la velocidad de filtración para el caso de las suspensiones de microorganismos:

1. Aumentar el área del filtro.
2. Aumentar la caída de presión, $-\Delta p$.
3. Reducir el espesor de la torta.
4. Reducir la viscosidad del filtrado.
5. Reducir la resistencia específica, α.
6. Aumentar la porosidad de la torta.
7. Reducir la superficie específica de las partículas, $a_p = S_p/V_p$.
8. Aumentar la temperatura.

En el ejemplo que se da a continuación, se muestra cuantitativamente uno de estos efectos.

Ejemplo 2.3. Torta compresible. Filtración en un embudo Büchner de un caldo de micelios. Efecto de Δp

Una muestra de 30 cm^3 de caldo se filtra al vacío (caída de presión = 0,33 bar) en un filtro de 3 cm^2 de superficie filtrante. El tiempo de filtración es de 4,5 min. Estudios previos muestran que la torta de *Penicillium chrysogenum* es compresible con un factor $\alpha = \alpha_0 (-\Delta p)^{0,5}$.

Debemos especificar un filtro al vacío para una fermentación semiindustrial. En la planta, disponemos de una hora de tiempo de proceso para la filtración. El volumen a filtrar es de 500 L.

Selecciónese un filtro si la caída de presión de trabajo vale: *a*) 0,33 bar, *b*) 0,67 bar.

Nota: La resistencia debida al medio es despreciable.

a) Datos: t = 4,5 min; V = 30 cm^3; S = 0,5; $-\Delta p$ = 0,33 bar; A = 3 cm^2. La ecuación básica de la filtración es la ecuación 2.10, que escribimos haciendo $R_m = 0$:

$$\frac{t}{V} = \frac{\mu C \alpha_0 (-\Delta p)^{0,5}}{2A^2(-\Delta p)} V = \frac{\mu C \alpha_0}{2A^2(-\Delta p)^{0,5}} V$$

Obsérvese que, tanto a pequeña escala (laboratorio) como a gran escala, el factor $\mu C \alpha_0$ es constante. Por tanto, podemos escribir como invariante este grupo de parámetros:

$$\mu C \alpha_0 = \frac{2tA^2}{V^2}(-\Delta p)^{0,5} = const.$$

Para el filtro de laboratorio (1), tardamos 4,5 min en filtrar 30 cm^3. Y, para el filtro grande (2), imponemos que el tiempo sea de 60 min. Así pues, igualando la constante anterior para los dos filtros:

$$\left(\frac{2 \times 4,5 \times 3^2 \times (0,33)^{0,5}}{30^2} \right)_1 = \left(\frac{2 \times 60 \times A^2 \times (0,33)^{0,5}}{(500 \times 10^3)^2} \right)_2$$

de donde el área del filtro grande valdrá A_2 = 1,37 m^2 (con una caída de la presión de 0,33 bar).

b) Ahora, si duplicamos la presión, $-\Delta p$ = 0,67 bar, en el filtro grande, tendremos que igualar:

$$\left(\frac{2 \times 4,5 \times 3^2 \times (0,33)^{0,5}}{30^2} \right)_1 = \left(\frac{2 \times 60 \times A^2 \times (0,67)^{0,5}}{(500 \times 10^3)^2} \right)_2$$

de donde A_2 valdrá ahora 1,16 m^2 (con 0,67 bar), es decir, duplicando la presión, hay una reducción de área de tan solo el 15 %.

2.4 Selección de un filtro continuo a presión constante: cálculo del caudal medio

En un filtro rotatorio (v. fig. 2.3), la alimentación, el filtrado y el sólido descargado fluyen a velocidad constante. Sin embargo, las condiciones de un elemento de superficie filtrante no son estacionarias, de modo que la formación de la torta y el filtrado están en *estado transitorio*, desde que empiezan hasta que terminan. En cambio, la caída de presión a través del filtro es constante. Por tanto, utilizaremos las ecuaciones 2.9 o 2.10 para caracterizar el primero de los procesos en serie (formación de la torta) que transcurren en el filtro.

En biotecnología, los filtros rotatorios continuos son muy utilizados, por ejemplo, en la fabricación de antibióticos (v. tabla 2.3). En estos filtros, ocurren las diferentes etapas en serie: 1) formación de la torta; 2) lavado/enjuagado de la misma; 3) soplado, seguido del aspirado de la torta; 4) expulsión del sólido. A menudo, disponemos en la planta de uno

o dos filtros multipropósito cuya capacidad debemos valorar para emplearlos en una fabricación determinada. Por tanto, tenemos que hacer estimaciones de su capacidad, de acuerdo con unas condiciones de sólidos, viscosidad y tiempo disponible para el proceso de filtrado.

Tomando como base la ecuación 2.9 y despreciando la resistencia del medio, R_m, tenemos:

$$\frac{dt}{dV} = \frac{C\alpha\mu}{A^2(-\Delta p)}V \tag{2.23}$$

Integrando esta ecuación entre t = 0 y V = 0, y t = t y V = V, durante la etapa transitoria de formación de la torta, se obtiene:

$$t = \frac{C\alpha\mu}{2A^2(-\Delta p)}V^2 \tag{2.24}$$

E, inversamente:

$$V = \sqrt{\frac{2tA^2(-\Delta p)}{\alpha\mu C}} \tag{2.25}$$

Es importante observar que, en estas ecuaciones, el tiempo t es *el tiempo empleado* en la formación de la torta en estado transitorio. Además, t es una fracción del tiempo total de rotación del tambor y A es el área del tambor que está sumergida, no toda el área del filtro (v. fig. 2.3). De acuerdo con las ecuaciones anteriores, debemos admitir que, si denominamos f la fracción efectiva de filtración, se cumplirá que:

$$\begin{aligned} t &= ft_c \\ A &= fA_T \\ t_c &= 1/N \end{aligned} \tag{2.26a, b, c}$$

donde A_T es el área total; N es la frecuencia de giro del tambor, y t_c es el tiempo que tarda el tambor en dar una vuelta. Normalmente, la frecuencia de rotación de un filtro es pequeña, de 2-3 rpm, con lo cual t_c vale ~ 0,5-0,33 min. Utilizando t_c en la ecuación 2.25, tendremos, para tortas incompresibles:

$$\frac{V}{At_c} = \sqrt{\frac{2f(-\Delta p)}{\alpha\mu Ct_c}} \qquad \alpha = const. \tag{2.27}$$

donde $A = f A_T$ es el área sumergida y t_c es el tiempo de ciclo. Cuando se trata de lechos compresibles:

$$\frac{V}{At_c} = \sqrt{\frac{2f(-\Delta p)^{1-S}}{\alpha_0\mu Ct_c}} \qquad \alpha = \alpha_0(-\Delta p)^S \tag{2.28}$$

Estas dos ecuaciones nos dan *el caudal medio de filtrado por unidad de área*, para tortas no-compresibles y compresibles, respectivamente. Es claro que estas expresiones sirven para filtros de vacío y para filtros de presión. Obsérvese que el flujo de filtrado medio es inversamente proporcional en la raíz cuadrada de la viscosidad y del tiempo de ciclo. Las ecuaciones anteriores permiten calcular el área necesaria de un filtro para un proceso (v. ejemplo 2.3). Debemos citar también que un método de control de los filtros modernos

es la variación de la sección sumergida (y, por tanto, del valor de f) que puede variarse automáticamente.

2.5 Cálculo del lavado

Una vez formada la torta, esta contiene una cantidad valiosa de solvente y de soluto, que se puede desplazar lavando la torta. Este lavado tiene dos objetivos: en primer lugar, desplazar el soluto presente en los poros y, posteriormente, permitir la difusión del soluto hacia afuera de la torta.

Naturalmente, el lavado debe hacerse con más volumen de agua que el volumen de líquido retenido en la torta si se quiere recuperar soluto. Ello es debido a que el producto acumulado en las zonas de retención y su transferencia al agua de lavado tiene lugar por difusión. Esta difusión es más lenta que el flujo convectivo de lavado; por tanto, hay que considerar dos factores: 1) el volumen de lavado y 2) el tiempo.

2.5.1 Volumen de lavado

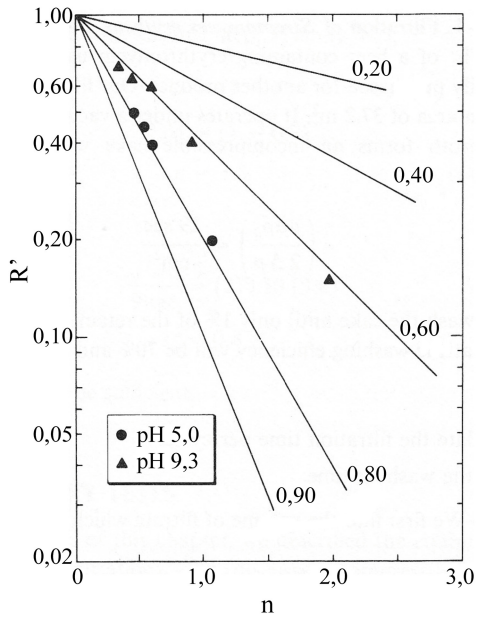


Fig. 2.10 Eficacia de lavado de un filtro convencional a $-\Delta p$ = constante. Esta representación es la prueba experimental de la ecuación empírica de lavado dada en el texto. R′ es la fracción de soluto que queda por lavar y n es la relación V_w/V_r. (de Belter *et al.*, 1988)

Choudhury y Dahlstrom (Belter *et al.*, 1985) introdujeron y comprobaron la ecuación empírica siguiente para el lavado de tortas de filtros:

$$R' = (1 - E)^n \tag{2.29}$$

donde R’ es la fracción en peso de soluto que permanece en la torta después de lavar (R’ = 1, antes de lavar; R’ = 0, con lavado completo), o sea:

$$R' = \frac{\text{Soluto retenido}}{\text{Soluto inicial}} \tag{2.30}$$

donde E es la eficacia del lavado. Según los autores, los límites de E son 0,35 y 0,86 (0,35 lavado rápido y 0,86 lavado lento). La figura 2.11 muestra el valor de R' frente a n, que se define como:

$$n = \frac{V_w}{V_r} \tag{2.31}$$

donde V_w es el volumen de agua de lavado y V_r es el volumen de líquido retenido en la torta. La figura 2.10 muestra el lavado de un caldo que contiene antibiótico (lincomicina) a dos pH diferentes, en un gráfico semilogarítmico, a eficacias de lavado E constantes, de entre 0,9 y 0,2. Los puntos de la figura 2.10 validan la expresión empírica dada en la ecuación 2.29.

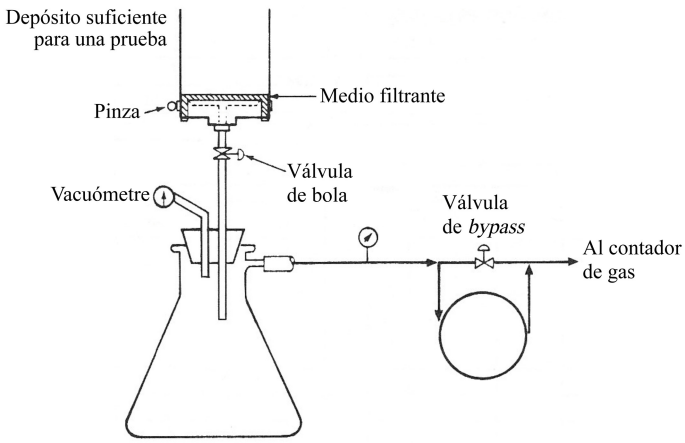


Fig. 2.11
Montaje de un Büchner para el diseño de un filtro rotatorio

A cada filtración, tratamos un volumen de suspensión igual al del volumen del contenedor superior, que tiene la tela filtrante. La bomba de vacío se representa en la parte inferior derecha. El vacío se mide con un vacuómetro. También se puede medir el caudal de aire con un contador de gas (a la derecha). La válvula cerca de la bomba sirve para regular el vacío al valor deseado. Los tiempos para filtrar una copa superior son iguales al tiempo que tardará la tela sumergida a la suspensión en el filtro rotativo (v. fig. 2.3). Para extrapolar los resultados a un filtro grande, solo hay que ampliar el área (v. ejemplo 2.5).

2.5.2 Tiempo de lavado

Consideremos que tenemos una torta no compresible. Queremos calcular ahora el tiempo y el volumen de lavado. El agua no contiene sólidos nuevos. Se supone que el caudal de lavado sigue el mismo caudal de filtración que ha finalizado después de un tiempo t_f, en que se ha recogido un volumen V_f. Es decir:

$$\frac{V_w}{t_w} = \left(\frac{dV}{dt}\right)_{V=Vf} \tag{2.32}$$

Dividiendo ambos lados de esta ecuación por A, y utilizando la ecuación del flujo (ec. 2.9) por $R_m = 0$, para la derivada, tendremos:

$$\frac{V_w}{A} = \frac{t_w}{A}\left(\frac{dV}{dt}\right)_{V=Vf} = \frac{(-\Delta p)t_w}{\mu R_c} \tag{2.33}$$

Sustituyendo Rc de la ecuación 2.8 a la ecuación anterior, tendremos:

$$\frac{V_w}{A} = \frac{t_w(-\Delta p)}{\mu\alpha C V_f / A} \tag{2.34}$$

de donde el tiempo t_f y el volumen V_f guardan la relación siguiente:

$$\frac{V_f}{A} = \left(\frac{2(-\Delta p)t_f}{\mu\alpha C}\right)^{1/2} \tag{2.35}$$

Introduciendo V_f/A de esta ecuación a la ecuación 2.34 y dividiéndolas miembro a miembro, se tiene:

$$\frac{t_w}{t_f} = 2\frac{V_w}{V_r}\frac{V_r}{V_f} = 2nF \tag{2.36}$$

donde V_r es el volumen de líquido retenido por la torta y F es la relación entre Vr y V_f, con n definida por la ecuación 2.31. Esta ecuación se puede utilizar fácilmente con la ecuación que da R' y el gráfico de la figura 2.10. Veamos el ejemplo siguiente.

Ejemplo 2.4. Tiempo de filtración y de lavado en un filtro rotativo

Queremos hacer una estimación rápida de un filtro para un caldo que contiene eritromicina, que deberá procesar 15.000 L/h. En la planta, tenemos un filtro de 37 m^2 (área útil o de tela sumergida). Una vuelta del tambor tarda 50 s. El sistema de vacío de la planta (similar al de la figura 2.4) puede trabajar bien a una presión absoluta de 500 mmHg. El microorganismo es el *Streptomyces erythraeus*, que tenemos que separar del líquido del caldo. Según datos del laboratorio, el valor usual del grupo de parámetros indicado es de 30 s/cm^2, calculado a partir de tortas no compresibles parecidas, es decir:

$$\frac{\mu\alpha C}{2(-\Delta p)} = 30\, s/cm^2$$

Suponiendo que la fracción del área sumergida es, generalmente, de 1/3 del tambor, calcúlese:

a) El tiempo de filtración, t_f, para el filtro de planta.

b) El tiempo de lavado para un residuo del 1%, si la eficacia de lavado es de E = 0,7.

a) *Tiempo de filtración*. Utilizamos la ecuación 2.10, con $R_m = 0$. Tendremos:

$$t_f = \frac{\mu\alpha C}{2(-\Delta p)}\left(\frac{V}{A}\right)^2$$

El área útil es A = 37 m^2 y el volumen filtrado por ciclo de 50 s será: (15.000 L/h) × (1/3.600) × 50 s = 208 L. Tenemos:

$$\frac{\mu\alpha C}{2(-\Delta p)} = 30 \quad s/cm^2 = 30\times(100)^2 = 3\times10^5\, s/m^2$$

de modo que el tiempo necesario para filtrar V = 208 L valdrá:

$$t_f = 3\times10^5\left(\frac{0,208}{37}\right)^2 = 9,5s$$

o sea, aproximadamente 9,5/ 50 = 19 % del ciclo se empleará en la formación de la torta.

b) *Tiempo de lavado*. La recuperación se fija en un 99 %. R' = 0,01 y E = 0,7, de donde, aplicando la ecuación 2.29:

$$R' = (1-E)^n$$
$$0,01 = (1-0,7)^n$$
$$n = \frac{\log 0,01}{\log 0,3} = 3,82$$

aplicaremos ahora la ecuación 2.36, con un valor de F = Vr/V_f = 0,1

$$\frac{t_w}{t_f} = 2nF = 2\times3,82\times0,1 = 0,8s$$

Por tanto, el tiempo de lavado será t_w = 0,8 × 9,5 = 7,6 s.

2.6 Cálculo de un filtro industrial a partir de datos de laboratorio

La instalación de un filtro de tipo Büchner de la figura 2.11 es la que utilizaremos en el laboratorio para obtener los datos del caudal de filtrado que aplicaremos para los cálculos de cambio de escala. El ejemplo 2.1 indica cómo podemos obtener los parámetros α y R_m de un filtro al vacío; sin embargo, un filtro no se diseña con estos parámetros, sino que se utilizan directamente los datos de laboratorio, extrapolándolos a flujo constante.

Tenemos que disponer de un método en que registraremos las medidas siguientes: el volumen de filtrado, el tiempo, la presión del filtro y la temperatura del filtrado. Además, necesitamos saber C, la concentración de las partículas en la suspensión.

Los caudales obtenidos en función del tiempo, a vacío constante, sobre un área reducida del filtro de laboratorio, son los mismos que se producirán en el filtro industrial, sobre un área mayor. Así pues, el método de extrapolación es sencillo. Para calcular el filtro grande, basta con aumentar el área del filtro, puesto que se mantendrán constantes la formación de la torta, el aspirado, la velocidad, el espesor, etc.

Así pues, los factores que hay que mantener constantes en la planta y en el laboratorio son:

- La misma suspensión de alimentación
- El mismo medio filtrante
- La misma caída de presión
- El mismo tiempo de filtración
- La misma temperatura

– Los mismos microorganismos y su concentración

En estas condiciones, podremos calcular el área necesaria del filtro grande para hacer el trabajo que queremos. Veamos este cálculo en el ejemplo siguiente.

Ejemplo 2.5. Evaluación de un filtro industrial a partir de los datos de laboratorio

Queremos saber si un filtro rotatorio que ya tenemos podrá filtrar una suspensión de *Saccharomyces* de una fermentación. El volumen a filtrar es de 50 m^3 (una carga de fermentador). El filtro industrial de la planta tiene una longitud L = 4 m y un diámetro D = 2 m. La caída de presión será de 0,5 bar. El área sumergida corresponde a un ángulo de 120º (fracción f = 0,34) y el área total de tela es de 25,1 m^2. La frecuencia de giro del tambor es de N = 2 rpm.

Las pruebas de laboratorio en un Büchner se hacen en las condiciones siguientes: tela circular de 10 cm de diámetro (del mismo tejido que el filtro industrial), $-\Delta p = 0,5$ bar; los datos de volumen filtrado *vs*. tiempo son los siguientes:

Tiempo, en s	7	10	19	36	58	86	119
Volumen, en cm^3	40	50	80	120	160	200	240

a) Para el filtro industrial, calcúlese el tiempo de filtración para tener un flujo de filtración igual que el de Büchner.

b) Calcúlense el área útil para la filtración y el tiempo necesario para filtrar 50 m^3 de líquido del fermentador.

a) La frecuencia de rotación del filtro es de N = 2 rpm y la fracción de área filtrante vale f = 0,34. El tiempo que tarda en formarse la torta y filtrar va desde que empieza a sumergirse el tambor a la suspensión hasta que sale. En la figura 2.3, se ve el filtro que gira en el sentido de las agujas del reloj. Se ve que el ángulo aproximado es de 120º desde el punto 12 hasta el punto 3 del tambor. El tiempo de filtración t_f disponible será:

$$t_f = \frac{1}{2} \times 60 \times 0,34 = 10s$$

y el área filtrante efectiva valdrá = 0,34 × 25,1 m^2 = 8,53 m^2. El filtro, pues, tiene que trabajar aspirando durante 10 s, a través de un área de tela de 8,53 m^2. Estas condiciones corresponden, aproximadamente, al segundo punto de la tabla de valores del filtro Büchner (10 s, 50 cm^3) y, por tanto, podemos admitir el mismo flujo.

b) Designemos el aparato de laboratorio con el subíndice 1 y el filtro grande, con el 2. Los datos del laboratorio son:

$$A_1 = \pi D^2/4 = \pi (10)^2/4 = 78,5cm^2$$

y el flujo vale:

$$J_1 = \frac{50 cm^2}{10 s \times 78,5 cm^2} = 0,063\, cm/s = 0,00063\, m/s = 2,27\, m/h$$

Impongamos ahora que $J_1 = J_2$. El caudal que el filtro grande tiene que filtrar será, pues:

$$dV/dt = J_2 \times A_2 = 2,27 \times 8,53 = 19,4\, m^3/h$$

El área útil del filtro vale 8,53 m^2 y el tiempo para obtener un filtrado de 50 m^3 valdrá:

$$\text{tiempo} = \frac{50}{19,4} = 5,57\text{h}$$

Por tanto, tenemos que contar que, con el filtro disponible en la planta, emplearemos 2,57 horas para filtrar el contenido del fermentador (50 m^3).

Esta filtración tiene una velocidad de 0,063 cm/s = 3,6 cm/min < 10 cm/min. Se trata, pues, de una filtración de dificultad *media*.

Nota: Los datos del filtro (R_m y α) obtenidos de la regresión de t/V *vs*. V de la tabla anterior permiten aplicar la ecuación de la filtración y obtener el mismo flujo que el que se ha obtenido por extrapolación directa, como puede comprobar el lector.

2.7 Consideraciones finales y recomendaciones

En este capítulo, se ha estudiado la filtración convencional a presión constante, que es el caso más corriente en el tratamiento de suspensiones en biotecnología. La filtración es el proceso inicial más común para separar las células del caldo de fermentación.

La operación de filtración es de las más conocidas en ingeniería (v. Perry, Coulson-Richardson) y permite hacer un cálculo preciso de un filtro, ya sea por extrapolación directa o bien a través de los parámetros del filtro, con tortas compresibles. El filtro más común es el filtro rotativo. El filtro de banda, que también trabaja al vacío, es más costoso, pero más perfeccionado y, en algunos casos, sale a cuenta.

En este capítulo, se han dado ejemplos de diseño o se han evaluado los filtros existentes en la planta. La filtración sobre tela se aplica con ventaja en alimentaciones diluidas (2-5 % sólidos), que es el caso de los caldos de fermentación, en que hay que eliminar grandes volúmenes de líquido. Los proveedores de filtros al vacío, rotativos y de banda, disponen de unidades de planta piloto transportables (con un sistema de vacío autónomo) para realizar pruebas en la planta del cliente, con el fin de verificar la idoneidad del filtro que se quiere adquirir.

En el capítulo siguiente, se estudia con detalle la centrifugación, que es una técnica más adecuada cuando se tienen suspensiones más concentradas, que filtran mal, procedentes de disrupción celular, pretratamiento por floculación, etc., o bien cuando se quieren separar dos fases líquidas inmiscibles después de la extracción. En el capítulo 10, se estudia

la filtración tangencial sobre membrana y la microfiltración, que son operaciones que se basan en principios físicos diferentes de lo que se ha estudiado aquí, pero también fundamentales para la eliminación de líquido y la purificación de proteínas.

2.8 Notación

A	Superficie de tela filtrante, en m^2
a	Const. ec. 2.13, en m^6/s
a_p	Área específica de la partícula, en m^2/m^3
A_T	Área total, en m^2
b	Const. ec. 2.14, en m^3
C	Concentración, en kg/m^3
d_p	Diámetro de la partícula, en m
E	Eficacia de lavado
f	Fracción de tiempo de rotación útil de filtrado
F	Fracción V_r/V_f
h	Espesor de la torta, m
J	Flujo de filtración, en m/s
k	Permeabilidad, en m^2
L	Espesor del filtro, en m
N	Frecuencia de rotación, en Hz
n	V_w/V_r
p	Presión, en Pa
R	Resistencia de la torta, R_c, del medio, R_m, en m^{-1}
R´	Fracción retenida
S	Exponente de la ec. 2.22
t	Tiempo de filtración, en s
t_c	Tiempo de ciclo, en s
t_f	Tiempo de filtrado, en s
t_w	Tiempo de lavado, en s
U	Velocidad superficial, en m/s
V, V_f	Volumen de filtrado, en m^3
V_p	Volumen de la partícula, en m^3
α	Resistencia específica de la torta, en m/kg
ρ	Densidad, en kg/m^3
μ	Viscosidad, en Pa·s
α_0	Coef. const. de la resistencia específica, en m/(kg Pa·s)
-Δp	Caída de presión, en Pa

→3

Centrifugación

La separación de células, detritus celulares o materiales celulares sólidos se puede realizar en algunos casos, como hemos visto, por filtración convencional. A veces, sin embargo, se utiliza la sedimentación, la centrifugación o la flotación. Estas operaciones dependen de la diferencia de densidades entre las partículas y el fluido. En la tabla 3.1, se presenta un resumen de las densidades de las biopartículas y moléculas más importantes.

La sedimentación es debida a la acción de la gravedad, por ejemplo, en el tratamiento de fangos activados en aguas residuales. Una estación depuradora ocupa una gran superficie, debida a la gran área transversal de sedimentadores, decantadores y tanques de oxidación aerobia realizada por microorganismos. Los sedimentadores, en particular, son extensos, porque la velocidad de sedimentación por gravedad de las partículas en suspensión es muy pequeña, como veremos en este capítulo.

Partícula	Diámetro de sedimentación, en µm	Densidad, en kg/m^3	Aceleración relativa, G	Velocidad de sedimentación V_g*, en cm/h	Re
Levadura	5	1.100	1	0,5	7×10^{-6}
Bacterias	1	1.100	1	0,02	6×10^{-8}
Proteína	0,010	1.300	10.000	0,06	2×10^{-9}

* Ecuación 3.4.

Tabla 3.1 Velocidades de sedimentación calculadas y número de Reynolds (para $\rho = 10^3 kg/m^3$ $\mu = 1$ mPa·s)

En la producción biofarmacéutica, se utilizan aparatos de centrifugación en que el campo de fuerza puede ser 100.000 veces o más la aceleración de la gravedad; por tanto, en tan solo unos pocos m^2, podemos tener concentrada una superficie enorme de sedimentación, a costa de trabajar con velocidades de rotación muy grandes. La fuerza se obtiene por la rotación de los tubos y canales en los cuales se crea un campo de fuerza central, aplicando velocidades de rotación elevadas. La centrífuga industrial fue inventada por De Laval en el siglo XIX en Suecia para el descremado de la leche. Enseguida (durante las guerras mundiales), se aplicó a la fabricación de plasma, penicilina, proteínas animales y vegetales, y a la fabricación de levadura y otros microorganismos.

Hoy en día, la centrífuga es una máquina esencial en biotecnología industrial, que se utiliza cuando la filtración no es aplicable debido a la naturaleza gelatinosa de algunas proteínas o coloides, que los hace intratables. En la figura 3.1, se representan los tipos de centrífugas más corrientes. En la figura 2.2 del capítulo 2, hemos visto que los tama-

ños mínimos de las partículas centrifugables van desde 0,1 μm hasta 100 μm, y las fracciones de sólidos, del 0,5 % al 30 % o más, con centrífugas de decantación (tipo *e* de la figura 3.1). El tipo más utilizado en biotecnología es la centrífuga de discos, que es un invento que data de 1888. Sus capacidades de tratamiento son elevadas, desde 40 L/min a 15.000 rpm hasta 1.500 L/min a 5.000 rpm.

Las unidades de laboratorio utilizan el mismo principio que las industriales. La centrífuga de discos es la más común (tipos *c* y *d* de la figura 3.1), tanto en la planta piloto como en la planta industrial.

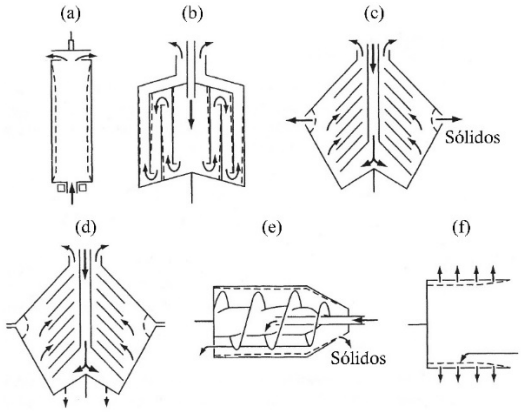


Fig. 3.1 Tipos corrientes de centrífugas de producción: *a*) cesta tubular, *b*) multicámara, *c*) de disco con tobera, *d*) de disco con descarga intermitente, *e*) decantador centrífugo, *f*) de cesta horizontal

El objetivo de este capítulo es explicar los fundamentos físicos de la centrifugación, analizando el funcionamiento de los tipos básicos (centrífuga de cesta tubular, de discos, etc.), con el fin de (1) poder seleccionar el tipo a utilizar en la planta, o bien (2) evaluar las máquinas ya disponibles en la planta, para ver si son adecuadas para una nueva fabricación. Efectuaremos los cálculos de cambio de escala basándonos en la teoría Sigma. También trataremos de la filtración centrífuga, la de laboratorio, etc., con diversos ejemplos de interés en biotecnología. Asimismo, estudiaremos la ultracentrífuga analítica, de interés en biofísica.

Tabla 3.2 Tipo de centrífugas para sedimentación de biomasa

Microorganismo	Tipo	Tamaño, en μm	Caudal relativo a la levadura	Tipo de centrífuga de discos
Levadura de pan	*Saccharomyces*	7-10	100	Tobera
Levadura de cerveza	*Saccharomyces*	5-8	70	Tobera, eyección de sólidos
Levadura de alcohol	*Saccharomyces*	5-8	60	Íd.
Proteína unicelular	*Candida*	4-7	50	Tobera, decantador
Antibióticos	Hongos	...	10-20	Decantador
Antibióticos	*Actinomyces*	10-20	7	Eyección de sólidos
Enzimas	*Bacillus*	1-3	7	Tobera y eyección
Vacunas	*Clostridia*	1-3	5	Cesta sólida, eyección de sólidos

En este capítulo, tratamos de la centrifugación en condiciones de no equilibrio. Sin embargo, en biología molecular, la centrifugación a veces se realiza en condiciones de equilibrio, en un gradiente de concentración creado ex profeso. Ello permite determinar la densidad de una partícula. La sedimentación de equilibrio se dice que ocurre en condiciones isopícnicas, pero este no es el caso de la centrifugación industrial. En la ciencia de polímeros y en biofísica, la ultracentrífuga analítica se utiliza para determinar pesos moleculares y coeficientes de sedimentación de macromoléculas. Algunos gránulos citoplasmáticos (p. ej., los ribosomas) se caracterizan por su coeficiente de sedimentación.

Adoptaremos la teoría Sigma, atribuida a Ambler (1952) y aceptada por la mayoría de constructores de centrífugas (Alfa Laval, Flottweg, Westfalia Separator, etc.) desde hace tiempo. Cuando se emplea la simulación fluidodinámica (CFD) para estudiar los fenómenos de sedimentación, se debe plantear el movimiento dentro de un canal con respecto a un sistema de referencia que, por su parte, es giratorio (con fuerza de Coriolis). La simulación permite predecir la influencia de determinados factores geométricos que la teoría Sigma no permite.

3.1 Velocidad terminal en un fluido por acción de la gravedad

El tamaño de las partículas que separamos por centrifugación es:

- precipitados (de 0,1 mm a 1 mm)
- células (de 1 μm a 10 μm)
- residuos celulares y virus (de 0,1 μm a 1 μm)

Tabla 3.3 Densidades de algunas partículas y moléculas de interés (Harrison *et al*., 2003)

Partícula/molécula	Densidad, en kg/m^3
Microorganismos	1.020
Partículas celulares	1.150-1.200
Proteínas	1.370
Ribosomas*	1.570
ADN*	1.680
ARN*	2.000

* Valores medios

Las densidades de las partículas y de las macromoléculas van de 1.200 a 2.000 kg/m^3. Y las velocidades de sedimentación normales se pueden ver en las tablas 3.1 y 3.2, y en la figura 3.2. Así pues, para un líquido como el agua (1 cP, 1 g/cm^3), se obtienen números de Reynolds de sedimentación pequeños, Re < 0,1, o sea, en régimen laminar. En el campo gravitatorio, las partículas sedimentan, pues, en el denominado *régimen de Stokes* (v. fig. 3.2), es decir, la fuerza de arrastre + fricción (suponiendo esferas de diámetro d y velocidad u) viene dada por la ecuación de Stokes:

$$F_D = 3\pi\mu du \qquad (3.1)$$

con un volumen de la partícula de:

$$V_p = \frac{\pi}{6} d^3 \tag{3.2}$$

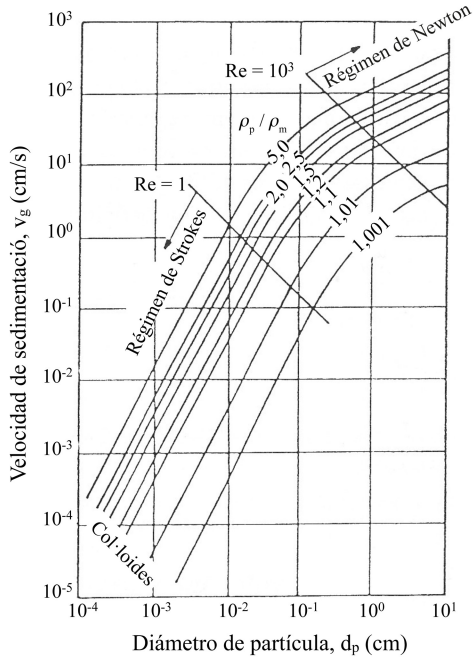


Fig. 3.2 Velocidades de sedimentación de las partículas en agua a 10ºC, según la relación densidad de la partícula/medio

Suponiendo que se trata de partículas esféricas de densidad mayor que la del agua, las fuerzas que actúan sobre una partícula en la dirección del movimiento son:

- El peso, con sentido hacia el centro de la Tierra.
- El empuje de Arquímedes, con sentido contrario al del peso.
- La fuerza de arrastre de Stokes, en sentido contrario a la velocidad.

En la sedimentación, se cumple, pues, la segunda ley de Newton:

$$V_p \rho_p g - V_p \rho g - 3\pi\mu du = V_p \rho_p \frac{du}{dt} \tag{3.3}$$

siendo el primer miembro la suma de fuerzas sobre la partícula y el segundo, la masa por la aceleración. Así pues, la partícula se acelera y el rozamiento va aumentando hasta que se iguala el peso efectivo, y la sedimentación se realiza a velocidad constante, denominada *velocidad de caída libre o terminal*, u_t. Haciendo du/dt = 0 en la ecuación anterior y despejando la velocidad terminal, se obtiene:

$$u_t = V_g = \frac{d^2 g}{18\mu}\left(\rho_p - \rho\right) \tag{3.4}$$

con la condición de que Re < 1. En la figura 3.2, se ve que, si R_e es mucho mayor, el régimen pasa a ser de Newton. La ecuación 3.4 que da V_g es válida siempre que (1) las

otras partículas no lo impidan; (2) no haya difusión; (3) las paredes no entorpezcan, y (4) estemos en el régimen de Stokes. La velocidad de caída libre, u_t o V_g, dada por la ecuación 3.4 es una ecuación fundamental.

Aiba *et al*. (1973) calcularon que, cuando un conjunto de partículas sedimentan, se tiene que introducir una corrección debida al impedimento:

$$\frac{V_h}{V_g} = \frac{1}{1+\beta\varepsilon^{1/3}} \tag{3.5}$$

donde V_h es la velocidad terminal impedida y ε es la fracción en volumen de partículas, y $\beta = 1–2$ para $\varepsilon \geq 0{,}15$.

3.1.1 Movimiento de una partícula en un campo centrífugo

El movimiento circular de la centrífuga induce una fuerza centrífuga debida a la inercia. Sobre una masa puntual m, esta fuerza vale:

$$F_c = m\omega^2 r \tag{3.6}$$

que aparece por efecto de la inercia al ir cambiando de dirección en una rotación. El sentido de la fuerza centrífuga es desde r = 0 (centro de rotación) hacia afuera, r > 0, en la dirección del radio. Así, la aceleración centrífuga $a = r\omega^2$ aumenta con el radio r durante la sedimentación de una partícula en un campo centrífugo. Escribiendo la segunda ley de Newton, tendremos, en este caso:

$$V_p\rho_p g - V_p\rho g - 3\pi\mu d\frac{dr}{dt} = V_p\rho_p\frac{d^2r}{dt^2} \tag{3.7}$$

Podemos suponer ahora que la aceleración tiene lugar al principio de la sedimentación, es decir, que enseguida se hace $dr^2/dt^2 = 0$. Sin embargo, a diferencia de lo que pasa en el campo gravitatorio, la fuerza centrífuga *aumenta siempre* al aumentar el radio y, por tanto, no se llega a una velocidad terminal constante, sino que la partícula llega al fondo del tubo a máxima velocidad. Si despreciamos el término de inercia de la ecuación 3.7 y aislamos la derivada dr/dt, tendremos la velocidad de sedimentación:

$$\frac{dr}{dt} = \frac{d^2(\rho_s - \rho)r\omega^2}{18\mu} \tag{3.8}$$

que nos indica que la velocidad aumenta con el radio r. Sustituyendo V_g dada por la ecuación 3.4 en esta la ecuación 3.8, resulta:

$$V = V_g\frac{\omega^2 r}{g} \tag{3.9}$$

donde V_g es una constante para el régimen de Stokes. Esta última relación (ec. 3.9) indica un hecho simple: la velocidad de sedimentación en una centrífuga es la velocidad terminal en el campo gravitatorio incrementada en un factor variable adimensional, G:

$$G = \frac{\omega^2 r}{g} \tag{3.10}$$

que se denomina *fuerza de sedimentación relativa o aceleración relativa.*

3.1.2 Tiempo de sedimentación en una centrífuga

Con las mismas hipótesis que hasta ahora, podemos calcular el tiempo para recorrer una distancia dada. Separando variables e integrando la ecuación anterior con los límites, t = 0, r = r_0 y t = t, r = R (fondo del tubo u otro radio), tendremos:

$$V_g \frac{\omega^2}{g} t = \ln \frac{R}{r_0} \tag{3.11}$$

con V_g dado por la ecuación 3.4. Comparando estas dos ecuaciones, tenemos:

$$\frac{V(r)}{V_g} = \frac{r\omega^2}{g} \tag{3.12}$$

3.2 Centrífuga de cesta tubular: el valor Sigma

En la figura 3.1.*a*, se representa una centrífuga de cesta tubular. Es un aparato que trabaja en semicontinuo, en que se alimenta la suspensión por debajo, el sólido se va decantando y el líquido clarificado rebosa por arriba. El sólido permanece dentro de la centrífuga a lo largo de la longitud de la cámara de sedimentación (v. figs. 3.3 y 3.4). En la figura 3.4, se muestran las coordenadas del sistema plano. Consideramos una partícula que entra por debajo. Los componentes del vector velocidad serán:

$$V_z = \frac{dz}{dt} = \frac{Q}{\pi\left(R_o^2 - R_1^2\right)} \tag{3.13}$$

donde Q es el caudal de suspensión y V_z es el componente axial de la velocidad en el transporte por convección. El componente de sedimentación radial es debido al rozamiento de Stokes, V_r, o sea:

$$V_r = \frac{dr}{dt} = \frac{d^2\left(\rho_p - \rho\right) r\omega^2}{18\mu} \tag{3.14}$$

En la figura 3.4, se observa que la suma de los dos vectores, V_r y V_z, da lugar al vector velocidad total, cuya dirección es tangente a la trayectoria. La ecuación diferencial de la trayectoria se obtendrá calculando el cociente de los escalares. Así pues:

$$\frac{dr}{dz} = V_g \left(\frac{r\omega^2}{g}\right) \frac{\pi\left(R_o^2 - R_1^2\right)}{Q} \tag{3.15}$$

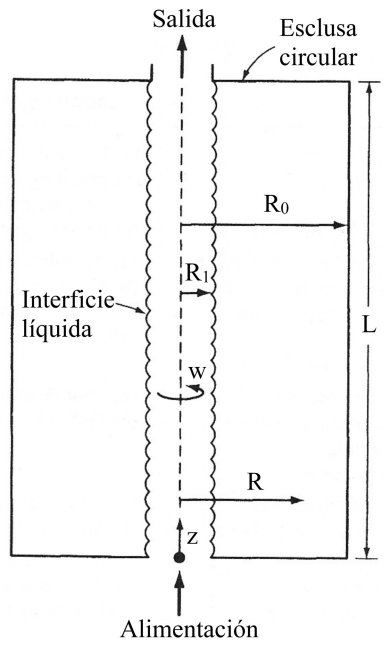


Fig. 3.3
Sección de una centrífuga de cesta tubular. Entrada inferior y salida por el rebosadero circular de arriba.
Altura = L

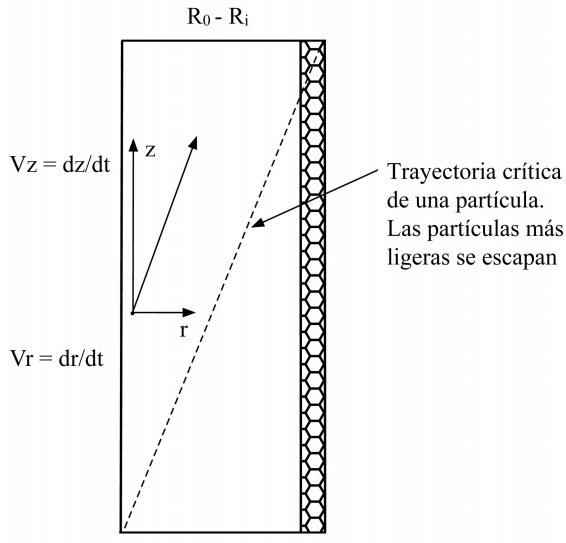


Fig. 3.4
Capa líquida de una centrífuga tubular que muestra la trayectoria de una partícula capturada cuando z = L

La trayectoria de la partícula en el plano x-y será la curva r(z), tangente a la velocidad resultante. Se cumple que para V_g suficientemente grande, la partícula sedimenta rápidamente solo entrar en la centrífuga. Inversamente, para Q grande, la partícula entra en r = R_o y permanece en R_o en todo su trayecto, llevada por la corriente, y, por tanto, no sedimenta y se escapa de la máquina. Como puede verse en el ejemplo 3.2, las propias células determinan el caudal de ruptura.

Separando variables a la expresión d_r/d_z e integrando, y despejando Q, se obtiene:

$$Q = V_g \frac{\pi\omega^2 L\left(R_o^2 - R_1^2\right)}{g \ln \frac{R_o}{R_1}} = V_g \frac{2\pi\omega^2 L R_m^2}{g} \tag{3.16}$$

donde R_m^2 es la media siguiente:

$$2R_m^2 = \frac{R_0^2 - R_1^2}{\ln \frac{R_0}{R_1}} \tag{3.17}$$

Se conoce como valor Sigma, Σ, de la centrífuga el factor que multiplica V_g en la fórmula del caudal de la máquina (v. ec. 3.16). Las unidades de Sigma son m^2. Los valores Sigma de diversas máquinas se dan en la tabla 3.4. El significado de Σ es muy importante y se comenta en apartado 3.4.

Tabla 3.4
Resumen de las Sigma calculadas

Tipo de centrífuga	**Expresión de Σ**	**Símbolos**	**Observaciones**
1. Cesta tubular	$\Sigma = \frac{\pi\omega^2 L}{g} \frac{R_o^2 - R_1^2}{\ln \frac{R_o}{R_1}} = \frac{\pi\omega^2 L(2R_m^2)}{g}$	R_o = radio exterior R_1 = interior R_m = radio medio L= longitud de la cesta	
2. Centrífuga de discos cónicos	$\Sigma = \frac{2\pi(Z-1)\omega^2 \cot\theta}{3g}\left(R_o^3 - R_1^3\right)$	Radios R_o, R_1 *ídem*. tipo 1. Z = número de discos	
3. Decantador	$\Sigma = \frac{\pi\omega^2}{g}\left[L_1(\frac{3}{2}R_2^2 + \frac{1}{2}R_1^2)\right] + + \left[L_2(\frac{R_2^2 + 3R_2R_1 + 4R_1^2}{4})\right]$	L_1 = long. parte cilíndrica L_2 = long. parte cónica. R_1= radio interior del líquido R_2= radio interior de la cesta	Axelsson (2013)
4. Centrífuga lab. cesta cónica	$\Sigma = \frac{\pi\omega^2}{g} L_{con} R_1 (R_o^2 - R_1^2)$	L_{con}= long. generatriz del cono	Ottens *et al.* (2006)
5. Centrífuga lab. tubos basculantes (clínica)	$t = \frac{g}{V_g \omega^2} \ln \frac{R_2}{R_1}$	R_1= radio menisco líquido R_2 = fondo del tubo t= tiempo de desplazamiento de R_1 a R_2	Axelsson (2013)

ω = 2πN; N = frecuencia de rotación, en Hz

Ejemplo 3.1. Cálculo de una centrífuga tubular a partir de datos de laboratorio

Queremos saber si una centrífuga de planta, del tipo cesta tubular, puede tratar cierta alimentación. A este efecto, hacemos una prueba con una centrífuga de tubos basculantes en el laboratorio con la misma suspensión. La centrífuga de laboratorio tiene las características siguientes:

$$\text{Radio medio: } \frac{R_1 + R_2}{2} = 10$$

$$\text{Distancia de sedimentación: } R_2 - R_1 = 12\text{cm}$$

El tiempo de clarificación en el laboratorio es de 4 min. La centrífuga de planta tiene un valor Sigma =1.200 m^2. Calcúlese el caudal que podrá tratar.

El caudal que puede tratar una centrífuga viene dado por la ecuación 1 de la tabla 3.4, de modo que solo hay que calcular V_g de las pruebas de laboratorio. Para la centrífuga de laboratorio, se tiene:

$$t = \frac{g}{\omega^2 V_g} \ln \frac{R_2}{R_1}$$

En el laboratorio, tenemos un tiempo de sedimentación de t = 4 min = 240 s. De las relaciones dadas entre los radios, obtenemos R_1 = 4 cm y R_2 = 16 cm. N = 1.200 rpm = 1200/60 = 20 Hz y $\omega = 2\ \pi N = 2\ \pi\ 20 = 125$ rad/s. De la ecuación anterior, V_g valdrá:

$$V_g = \frac{9{,}8}{(125)^2\ 240} \ln \frac{16}{4} = 3{,}58 \times 10^{-6}\ m/s$$

de donde $Q = V_g \Sigma = 3{,}58 \cdot 10^{-6}\ \ 1.200 = 4\ 10^{-3}$ m^3/s = 15 m^3/h, que será el caudal que podrá tratar la centrífuga grande.

3.3 Centrífuga de discos: valor Sigma

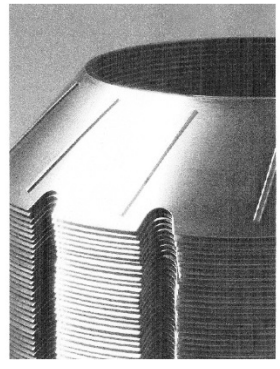


Fig. 3.5
Pila de discos concéntricos de una centrífuga de discos. Los bafles rectos sirven para evitar la rotación del sedimento en las cámaras entre los conos. El número Z de discos es de 30 a 200

La centrífuga continua de discos apilados (v. fig. 3.1 *c* y *d*, y fig. 3.5) es una de las más utilizadas en biotecnología y en muchas industrias de proceso para la separación de só-

lidos, en nuestro caso células, partículas celulares, etc. También se utiliza para la separación de dos fases líquidas inmiscibles, por ejemplo, después de la extracción con solvente, o bien como separador de tres fases (el *tricanter* de Westfalia Separator).

Como se ve en las figuras 3.5 y 3.6, consta de un conjunto de discos cónicos coaxiales, montados sobre un eje giratorio a alta velocidad de rotación. El número de discos es de 50 a 250. En la figura 3.7, se representa el caudal de líquido entrante, que pasa por el entrehierro de los discos en dirección ascendente, al tiempo que el sólido se mueve contra la pared del disco superior en sentido contrario por la componente vertical del peso, resbalando hacia abajo. De esta forma, se realiza la separación.

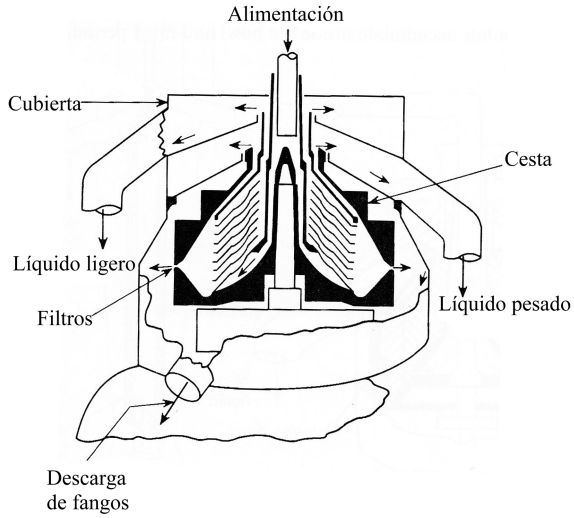


Fig. 3.6 Disposición de los conos en una centrífuga de discos, con descarga por tobera

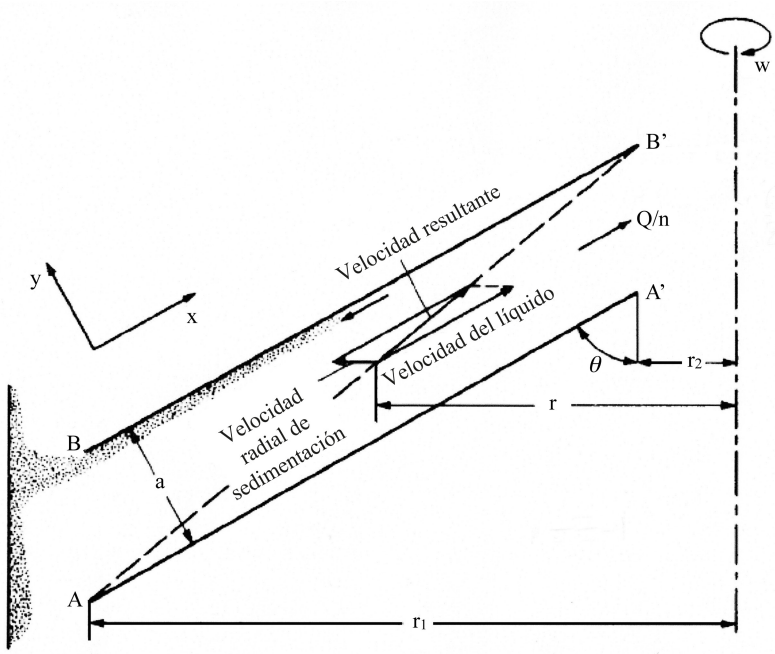


Fig. 3.7 Velocidades de una partícula que sedimenta. Velocidad radial, V_r; velocidad a lo largo del canal, V_x, y velocidad resultante. La trayectoria AB´ sería la crítica. Diagrama basado en Coulson-Richardson (2003). El sistema de referencia x,y está sometido a rotación. Los bafles de la figura 3.5 tienden a evitar la rotación

A continuación, analizamos las velocidades de la partícula dentro de los canales. En la figura 3.7, se representa la geometría del canal, en que el punto de entrada de la partícula se hace en $r = r_1$ y el de salida, en $r = r_2$. Tomando como ejes x,y los indicados, consideramos el problema bidimensional en el plan x-y. Tenemos las propiedades geométricas siguientes:

$$\frac{dy}{dr} = \cos\theta \qquad -\frac{dr}{dx} = \sin\theta \tag{3.18}$$

donde θ es el ángulo de los conos con el eje de rotación. La sección de paso del caudal total de líquido que entra a la centrífuga, en un entrehierro cónico de anchura *a* (= separación entre dos conos), es:

$$A = 2\pi ra \tag{3.19}$$

y el caudal que pasa *por cada entrehierro* valdrá Q/*n*, en que *n* es el número de espacios cónicos y *n = Z-1*, siendo Z el número de conos. Por tanto, la velocidad de arrastre de la partícula por el caudal de líquido a lo largo del canal vale:

$$V_x \equiv \frac{dx}{dt} = \frac{Q}{2\pi ra\left(Z-1\right)} \tag{3.20}$$

ya que la sección recta de cada canal vale $A = 2\pi ra$ y la velocidad radial de la partícula es la correspondiente al régimen de sedimentación según Stokes (ec. 3.9), es decir:

$$V_r \equiv \frac{dr}{dt} = V_g \frac{r\omega^2}{g} \tag{3.21}$$

Estas velocidades son instantáneas y, por tanto, dependen de la posición r de la partícula a cada tiempo. Véase que el vector suma resultante vale:

$$V_s = V_x + V_r \tag{3.22}$$

que representa el vector velocidad de sedimentación efectiva de la partícula en el canal. Obsérvese que la partícula tiende a irse hacia la pared del disco superior y sedimentar. Como la anchura del canal es muy pequeña (aproximadamente, de 1 mm), la sedimentación tiene lugar enseguida. Una vez allí, la partícula cae a causa de la componente del peso en la dirección de la pared, hasta salir por abajo.

Como queremos que la partícula sea capturada antes de salir del canal:

1) Calculamos la trayectoria.

2) Imponemos que, en $r = r_2$, $y = a$

Cálculo de la trayectoria crítica. La velocidad de una partícula que entra en r_1 en el sentido de $y > 0$ cumplirá:

$$\frac{dy}{dt} = \frac{dy}{dr} \times \frac{dr}{dt} = \cos\theta \frac{\omega^2 r}{g} \tag{3.23}$$

de donde la ecuación diferencial de la trayectoria sobre el plano y-r, dy/dr, utilizando las expresiones anteriores por las derivadas respecto de t, se calcula, en función de éstas, como:

$$-\frac{dy}{dr} = -\frac{dy/dt}{dr/dt} = \frac{2\pi(Z-1)aV_g\omega^2\cot\theta}{Qg}r^2 \qquad (3.24)$$

Con el fin de obtener la ecuación de la trayectoria en el canal, separamos variables e integramos la ecuación 3.24, de donde:

$$-\int_0^a dy = -a = \frac{2\pi(Z-1)aV_g\omega^2\cot\theta}{Qg}\int_{r1}^{r2} r^2 dr \qquad (3.25)$$

El límite superior de y es igual a *a*, es decir, imponemos que la partícula *llega a la pared justo* cuando r = r_2. La expresión anterior integrada da, pues, la *trayectoria crítica y(r)*. De la ecuación anterior, se deduce que el caudal de la centrífuga de discos y la Sigma valdrán, respectivamente:

$$Q = V_g\Sigma$$
$$\Sigma = \frac{2\pi(Z-1)\omega^2\cot\theta}{3g}\left(R_1^3 - R_2^3\right) \qquad (3.26, 3.27)$$

donde V_g es la velocidad de sedimentación por gravedad. Es interesante notar que, según la teoría Sigma, las ecuaciones de la centrífuga de discos son independientes de la distancia entre discos, *a*. No es así si se tiene en cuenta la fuerza de Coriolis.

Ejemplo 3.2. Centrífuga de discos para el proceso de la insulina humana

En las etapas iniciales del proceso de la insulina humana, hay que hacer una operación de clarificación para recuperar los cuerpos de inclusión y el precipitado de proinsulina (TrpE-Meth-proinsulina). Nuestra planta tiene diversas centrífugas de discos (de descarga por tobera). Queremos saber cuál es la más adecuada. Los datos de una máquina son: número de discos = 200, ángulo θ = 50º, radio exterior r_1 = 0,25 m; radio interior r_2 = 0,08 m, distancia entre discos = 1 mm; máxima frecuencia de rotación = 5.000 rpm.

Características de la alimentación. Medio líquido de densidad = 1.025 kg/m^3; densidad de los sólidos = 1.090 kg/m^3; viscosidad del líquido = 31 mPa·s; concentración del producto disuelto = 1 g/L; diámetro de las células = 2 μm; concentración de células = 2,5 % del peso; alimentación = 25.000 kg, a tratar en 5 horas.

Calcúlese la capacidad de la centrífuga para la suspensión que se quiere separar. Y:

¿Cuántas máquinas como la especificada trabajando en paralelo se necesitan para procesar la alimentación en 5 horas?

Datos de la máquina

n = 200 entrehierros (201 discos), R_0 = 0,25 m, R_1 = 0,08 m; semiángulo del cono, θ = 50º, distancia entre conos = 1 mm, N = 5.000 rpm

Datos de la alimentación

$\mu = 31 \cdot 10^{-3}$ Pa·s; $\rho = 1.025$ kg/m^3; $\rho_p = 1.090$ kg/m^3; conc. X = 1 g/L; dp = 2 µm; conc. de células = 2, 5% peso

A continuación, calculamos la V_g de las células y después la Sigma de la máquina:

$$V_g = \frac{d_p^2 (\rho_p - \rho) g}{18\mu} = \frac{(2\times10^{-6})^2 (1.090 - 1.025) \times 9{,}81}{18 \times 31 \times 10^{-3}} = 4{,}7 \times 10^{-9}\ m/s$$

Para la Sigma, tomando el valor de Σ de la tabla 3.4:

$$\omega = 2\pi N = 2x\pi \times \frac{5.000}{60} = 523\, rad/s$$

$$tg\theta = 1{,}19$$

$$\Sigma = \frac{2\pi (Z-1)\omega^2 \cot\theta}{3g}\left(R_o^3 - R_1^3\right) = \frac{2\pi \times 200 \times (523)^2}{3 \times 1{,}19 \times 9{,}81}\left(0{,}25^3 - 0{,}08^3\right) = 148.405 m^2$$

Así pues, el caudal de trabajo máximo de una centrífuga valdrá:

$$Q = V_g \Sigma = 4{,}7 \times 10^{-9} \times 0{,}148 \times 10^6 \times 3600 = 2{,}63\, m^3/h$$

Por tanto, para filtrar 25 m^3 en 5 horas (5 m^3/h), tenemos que conectar dos centrífugas en paralelo, cada una de las cuales reciba 2,63 m^3/h de caldo desde el fermentador.

3.4 Utilidad de la teoría Sigma

En el ejemplo anterior, ya hemos visto qué significa la Sigma de una centrífuga. El concepto de Sigma fue introducido como una manera práctica para relacionar la capacidad de una centrífuga con sus dimensiones. En las ecuaciones 3.26 y 3.27, se define Σ como la superficie teórica que, junto con V_g, da el caudal de filtración Q de la máquina:

$$Q = V_g \Sigma \qquad (3.28)$$

En esta ecuación, V_g es la velocidad de sedimentación en el régimen de Stokes, a la misma temperatura y viscosidad de la máquina, a una fuerza gravitatoria g = 9,81 m/s^2, dada por la ecuación 3.4. En la tabla 3.4, se resumen los valores de Sigma deducidos en este capítulo.

Con respecto a los términos, hay que retener el significado de cada uno:

– V_g = función de la *partícula* y el *fluido* (V_g, tamaño d_p, fluido, densidades, viscosidad)

– Σ = función de la *máquina* (longitud, radios de trabajo, ángulo, distancias, rpm)

– Q = *caudal equivalente de un sedimentador por gravedad*, que separa partículas que sedimentan en una superficie igual a Σ m^2, a una velocidad V_g, m/s. Como el valor de orden de magnitud de V_g es de 10^{-7} m/s, el orden de magnitud de Σ será de miles a cientos de miles de m^2.

Ejemplo 3.3. Determinación de la Sigma a partir del caudal de ruptura

Queremos caracterizar una centrífuga de planta piloto que hemos adquirido de segunda mano. Hacemos una alimentación de una suspensión de levadura, que trabaja a 500 g constantes y vamos aumentando el caudal alimentado en la máquina hasta que empieza a salir levadura, es decir, determinamos lo que se denomina el *caudal de ruptura*. La ruptura se produce cuando el caudal llega a Q = 10 L/min. En estas condiciones, la velocidad de sedimentación de la levadura en la centrífuga vale V = 100 μm/s. A partir de estos datos, determínese el valor de Σ de la centrífuga.

Como hemos visto en la teoría de la centrífuga tubular, el caudal de ruptura o máximo, Q, es aquel en que todas las partículas son retenidas por sedimentación (v. ec. 3.16 y tabla 3.3). Se denomina valor Σ de la máquina el valor del área que hace que:

$$Q = V_g \Sigma$$

El valor de Q se establece a una velocidad de rotación dada, con una suspensión de la levadura hasta lograr un funcionamiento estable sin que se observe levadura en la salida. Entonces, se va aumentando poco a poco Q y se anota el caudal para el cual la levadura empieza a fugar por la salida.

La relación entre V y V_g viene dada por la ecuación 3.9, de donde $Q = V_g \Sigma$ y la velocidad de sedimentación en la máquina vale $V = V_g \dfrac{\omega^2 r}{g}$. Ahora, como sabemos que V = 100 μm/s y que la fuerza relativa de la máquina vale 500 g, tendremos:

$$V_g = \frac{V}{r\omega^2/g} = \frac{V}{500}$$

donde la velocidad es V = 100 μm/s = 10^{-4} m/s. Entonces:

$$V_g = \frac{10^{-4}}{500} = 2 \times 10^{-7}\ m/s$$

$$Q = \frac{10/1.000}{60} = 0,00017\ m^3/s$$

y, por tanto, Sigma valdrá:

$$\Sigma = \frac{Q}{V_g} = \frac{0,00017}{2 \times 10^{-7}} = 850 m^2$$

3.4.1 Concepto de rendimiento de una centrífuga

La teoría de la Sigma no se cumple completamente, de forma que necesita factores de corrección. El factor más necesario, según Alfa Laval, es el rendimiento con respecto al caudal teórico. Así pues, el rendimiento se define como

$$\eta = \frac{Q_{real}}{Q} \qquad Q_{real} = \eta Q = \eta V_g \Sigma \tag{3.29}$$

siendo Q el caudal teórico (el de las ecuaciones, Tabla 3.4) y Q_{real} el caudal que admite realmente la máquina para un cierto tamaño de partícula.

Los valores del rendimiento dependen del tipo de centrífuga y algunos valores se resumen en la tabla 3.5. Dicha tabla útil como veremos, a la hora de seleccionar una centrífuga. En el ejemplo 3.5, se ilustra cómo se especifica una centrífuga con este rendimiento, utilizando la tabla 3.5.

Centrífuga	Rendimiento, en η%	Caudal, Q, en m^3/h	Valor de Q_{real}/Σ, m/s*
Cesta tubular	90	0,4 - 4	$0,5 - 3,5\times10^{-7}$
De discos	45	0,1 - 110	$0,7 - 4,5\times10^{-7}$
Decantador	60	0,7 - 15	$0,15 - 1,5\times10^{-5}$
Centríf. de cesta	75	0,4 - 10*	$0,05 - 4\times10^{-4}$

Rendimiento definido por la ecuación 3.29

*Datos de Sinnott (1998)

Tabla 3.5
Tabla de selección de centrífugas basada en el caudal, Q. Q_{real}/Σ, y rendimientos recomendados (Sinnott, 1998). Recuérdese que Q_{real}/Σ = velocidad de sedimentación

3.4.2 Cambio de escala. Pruebas en una máquina piloto

Realizando pruebas preliminares en una centrífuga piloto, nos haremos una idea del valor que se obtiene de la variable Q_{real}/Σ. La magnitud Q/Σ se utilizará como criterio de cambio de escala. Este valor representa la velocidad de la partícula que sedimenta, y esta es constante para una suspensión dada y una temperatura.

Entonces, para realizar un estudio del cambio de escala, se siguen los pasos siguientes, experimentando en una máquina piloto y *viendo qué debería cumplirse en la máquina grande* o industrial.

Hacemos las pruebas en una centrífuga de la planta piloto a la cual le imponemos una serie de condiciones que impondremos también a la máquina industrial:

1) El mismo tipo de centrífuga que la máquina grande.

2) La misma geometría.

3) Los mismos valores fluidodinámicos, diámetros, etc., y de pérdidas de carga en las tubuladuras de entrada y salida, de forma que $\eta_1 = \eta_2$ (rendimientos iguales)

Entonces, aplicamos la igualdad del factores de semejanza:

$$\left(\frac{Q_{real}}{\Sigma}\right)_1 = \left(\frac{Q_{real}}{\Sigma}\right)_2 \tag{3.30}$$

donde 1 y 2 denotan las máquinas 1 y 2. De esta ecuación, generalmente conocemos tres de las cuatro variables que aparecen –por ejemplo, de la máquina piloto (1), sabemos el caudal y la Sigma, y de la máquina grande (2), solo el caudal que tiene que tratar, pero no su Sigma. De acuerdo con los catálogos de máquinas grandes, especificamos la centrífuga que tenga el valor de Sigma obtenido de la ecuación 3.30.

La ecuación 3.30 presupone que el rendimiento de las dos máquinas es el mismo. Así pues, el rendimiento de la máquina de catálogo será el mismo que el de la máquina 1; por tanto, se cumplirá exactamente la ecuación 3.30.

Margaritis (2007) añade otras condiciones interesantes con respecto a la selección de una centrífuga para un proceso. Estas son:

a) La centrifugación en un bioproceso es aplicable siempre que en el laboratorio se realice la sedimentación en un tiempo máximo de 10 min a 3.000 g. Con respecto al pretratamiento del caldo, es interesante observar la regla siguiente:

b) Si la velocidad Q_{real}/Σ es inferior a 10^{-8} m/s, hay que considerar el acondicionamiento de la suspensión mediante floculación, a fin de aumentar el tamaño de la partícula.

c) Si Q_{real}/Σ es superior a 10^{-8} m/s, no es necesario flocular.

En el caso *b*, hay que tener en cuenta cómo afecta la floculación a la separación, ya que tanto el tamaño de la partícula como la viscosidad quedan afectadas por la coagulación; así pues, V_g cambia drásticamente (v. ejemplo 3.6).

Ejemplo 3.4. Selección de una centrifuga con la tabla 3.5

Esta tabla resume los rendimientos y los intervalos de caudal de las diferentes máquinas. Veamos un ejemplo de selección de una centrífuga. Supongamos que queremos separar en continuo un precipitado (tamaño de partícula = 10 μm). El caudal de suspensión es de 5,5 m^3/h y contiene un 5 % de precipitado. Los datos son: densidad de la partícula = 2.300 kg/m^3, densidad del fluido = 1.050 kg/m^3, viscosidad del líquido = 4 mPa·s, dp = 10 μm.

En principio, recomendamos, por ejemplo, una centrífuga de cesta continua (rendimiento del 75 %), pero hemos de ver si es adecuada según la tabla 3.5.

Suponemos que es posible escoger una centrífuga de cesta, para la cual la tabla 3.5 da $\eta = 0{,}75$ (75 %).

Caudal de clarificado: $Q_{real} = 0{,}95 \times 5{,}5 = 5{,}23\ m^3/h = 1{,}45 \times 10^{-3}\ m^3/s$. El valor de V_g, aplicando la ecuación 3.4, valdrá:

$$V_g = \frac{d^2 g(\rho_s - \rho)}{18\mu} = \frac{(10\times10^{-6})^2 \times 9{,}8 \times (2.300 - 1.050)}{18 \times 4 \times 10^{-3}} = 1{,}7 \times 10^{-5}\ m/s$$

Por tanto, aplicaremos la ecuación de Sigma con el rendimiento supuesto hasta ahora (75 %):

$$Q_{real} = \eta V_g \Sigma \quad \text{de donde} \quad \Sigma = \frac{Q_{real}}{0{,}75 \times V_g} = \frac{1{,}45\times10^{-3}}{0{,}75\times1{,}7\times10^{-5}} = 114 m^2$$

Podemos encontrar una cesta adecuada con la tabla 3.5 (o bien, en el catálogo del constructor). Para el margen de caudales, $0,4 < 5,23\ m^3/h < 10$, nuestro caudal sería aceptable, según la tabla 3.5. Con respecto a la velocidad de sedimentación, la velocidad que tenemos cae dentro del intervalo de $5 \times 10^{-6} < 1,7 \times 10^{-5} < 40 \times 10^{-5}$ para máquinas de cesta. Las máquinas de cesta continuas existen, pero no las hemos estudiado aquí (v. fig. 3.1, caso *f*). Son de eje horizontal y descargan sin parar de rodar. Emplean un rascador o son máquinas de empuje que extraen la torta del sólido fuera de la cesta sin detenerse completamente.

Ejemplo 3.5. Efectos del tratamiento de disrupción en la capacidad de una centrífuga

Queremos utilizar una centrífuga de cesta tubular para concentrar una suspensión de *Escherichia coli* antes de pasar a su disrupción. La cesta tiene las dimensiones siguientes: 12,7 cm de radio y 73 cm de longitud. La frecuencia de rotación es de 16.000 rpm y la capacidad es de 200 L/h. *a*) Calcula la velocidad Vg de la *E. Coli*. *b*) Después del proceso de disrupción, el tamaño de las células se reduce a la mitad y la viscosidad aumenta cuatro veces. Calcúlese la reducción de capacidad de la máquina.

Datos de la centrífuga: R_0 = 12,7 cm, L = 73 cm, N = 16.000/60 = 267 Hz, $\omega = 2\ \pi\ 267 = 1.674$ rad/s

$$V_g = \frac{Qg}{2\pi LR^2\omega^2} = \frac{(0,200/3.600)\times 9,8}{2\pi \times 0,73 \times (0,127)^2\,(1.674)^2} = 2,5\times 10^{-9}\ m/s$$

Veamos ahora la relación de caudales. La velocidad de sedimentación valdrá:

$$V_g = \frac{Qg}{2\pi LR^2\omega^2} = \frac{d_p^2 \Delta\rho g}{18\mu}$$

Despejando Q y aplicando la ecuación que resulta a los dos casos –sin primas, antes de la disrupción; con primas, después del tratamiento–, resulta:

$$\frac{Q'}{Q} = \frac{(d')^2/\mu'}{d^2/\mu} = \left(\frac{d'}{d}\right)^2\left(\frac{\mu}{\mu'}\right) = \left(\frac{1}{2}\right)^2\left(\frac{1}{4}\right) = 0,0625$$

donde Q' son las nuevas condiciones; dp' es el nuevo diámetro, y μ' es la nueva viscosidad. Es decir, la capacidad pasa a ser un 6,25 % de la capacidad inicial.

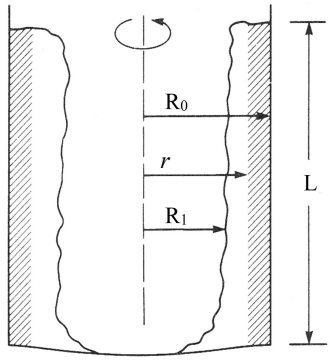
3.5 Centrífuga filtrante

En muchas aplicaciones industriales, se utiliza la centrífuga con cesta como simple filtro. Para este filtro, se monta una tela dentro de la cesta y siendo ésta un cilindro metálico de paredes perforadas que opera con el eje de giro vertical. La cesta filtrante se alimenta por la boca de la centrífuga, de forma semicontinua (v. fig. 2.2, *f*) pero vertical (v. fig. 3.8). Cuando la torta se ha formado, lavado y escurrido, se para la máquina o bien se expulsa

la torta relativamente más seca fuera de la cesta. Así pues, se aprovecha la fuerza centrífuga para hacer fluir el filtrado a través de la torta. En las centrífugas filtrantes (fig. 3.1, tipo *f*) de rascador o de empuje, no hay que parar de girar para descargar el sólido.

En la figura 3.8, se muestra la geometría cilíndrica, de radios R_o y R_1, y la variable r. Recordemos que la caída de presión a través del lecho fijo (torta), en función de la resistencia de la torta y la viscosidad, valdrá:

Fig. 3.8
Centrífuga filtrante por cargas



$$-\frac{dp}{dr} = \alpha\mu Cu \tag{3.31}$$

y el caudal de filtrado en función de la velocidad, valdrá:

$$2\pi rLu = Q \tag{3.32}$$

donde L es la altura de la cesta. Y, combinando las dos ecuaciones anteriores, tendremos:

$$-\frac{dp}{dr} = \alpha\mu C\frac{Q}{2\pi rL} \tag{3.33}$$

Esta ecuación se puede integrar para hallar la presión ejercida sobre la torta. Por otra parte, sabemos que la caída de presión total Δp prácticamente es debida a la fuerza centrífuga, o sea, $m\omega^2 r$ aplicada sobre una masa, *m*, igual a la masa de torta, o sea, que valdrá:

$$\Delta p = \frac{1}{2}\rho_L\left(R_o^2 - R_1^2\right)\omega^2 \tag{3.34}$$

Combinando las ecuaciones anteriores, 3.31, 3.32 y 3.33, tendremos el caudal de filtrado en función de r:

$$Q(r) = \frac{\pi\omega^2\rho_L L\left(R_o^2 - R_1^2\right)}{\mu\alpha C\ln\dfrac{R_o}{r}} \tag{3.35}$$

donde r es el radio de la torta, que es variable. Por tanto, el caudal no es constante. De manera que:

$$Q = \frac{dV}{dt} \tag{3.36}$$

Además, se cumple:

$$\rho_c \pi \left(R_o^2 - r^2 \right) L = CV \tag{3.37}$$

siendo r el radio de la torta a t = t. Sustituyendo estas dos últimas ecuaciones en la ecuación 3.35, que da Q(r), obtenemos una expresión del tiempo de filtración necesario para obtener un cierto espesor de torta, r. Con alguna simplificación, la expresión resultante del tiempo t (r), es (Belter *et al*., 1988):

$$t(r) = \frac{\mu \alpha \rho_c r^2}{2\rho_L \omega^2 \left(R_0^2 - R_1^2 \right)} \left[\left(R_o / r \right)^2 - 1 - 2 \ln \left(R_o / r \right) \right] \tag{3.38}$$

que es el tiempo necesario para obtener un espesor relativo, R_o/r. La expresión anterior, aunque utiliza propiedades físicas bien establecidas (α, μ, etc.), no es de mucha utilidad práctica. Es preferible determinar el tiempo total experimentalmente en el taller del constructor.

3.6 Ultracentrifugación en biología molecular y biotecnología

En fisicoquímica de macromoléculas, se utiliza la ultracentrifugación para determinar pesos moleculares y coeficientes de sedimentación y difusión. La ultracentrífuga fue desarrollada por Svedberg y sus colaboradores a principios del siglo XX, y ello le valió el premio Nobel. La ultracentrifugación es un método exacto para determinar el peso molecular de las macromoléculas (naturales o sintéticas) y las partículas intracelulares. La velocidad de giro del rotor es de hasta 70.000 rpm, en una cámara refrigerada al vacío, con el fin de aliviar el calentamiento debido al rozamiento (v. fig. 3.9, en que se muestra un esquema). Las unidades modernas pueden operar con aceleraciones de 600.000 g.

Hay dos tipos principales de ultracentrífuga, la analítica y la preparativa. Las analíticas están equipadas con un sistema óptico de observación y fotografía (v. fig. 3.9) o basado en el índice de refracción de la celda de sedimentación. Ello permite determinar la posición del frente de sedimentación-difusión en un gradiente de concentración, así como la dispersión de aquél. En biotecnología, se utilizan para determinar el coeficiente de sedimentación de las partículas –por ejemplo, una suspensión de fracciones de ribosomas– y recogerlas en la centrífuga preparativa (v. ejemplo 3.5).

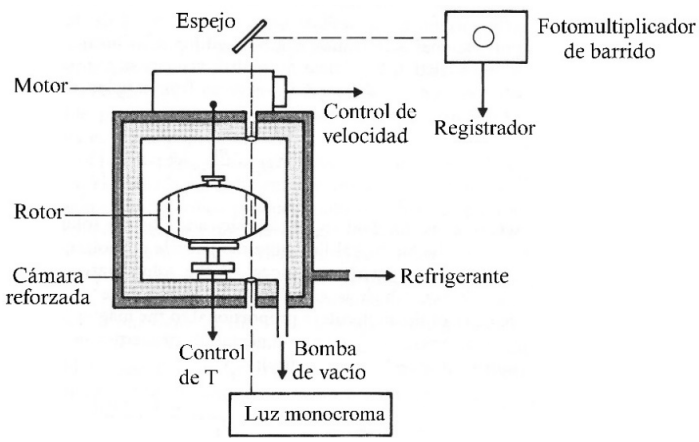


Fig. 3.9
Esquema de una ultracentrífuga analítica

3.6.1 Coeficiente de sedimentación

Se define como:

$$s = \frac{V}{\omega^2 r} \tag{3.39}$$

Es decir, la velocidad V que adquiere una partícula con respecto al campo de fuerza existente en r, $\omega^2 r$. Según esta definición, las unidades del sistema internacional del coeficiente *s* son segundos. En la práctica, la unidad habitual son los Svedberg, que se escriben con una S, de manera que 1 S = 10^{-13} s.

Veamos que la constante s se relaciona directamente con las propiedades del sistema partícula-campo centrífugo. Sustituyendo la V dada por la ecuación 3.4 en la ecuación anterior, tenemos que la expresión de s resultante es:

$$s = \frac{2R_p^2\left(\rho_p - \rho\right)}{9\mu} \tag{3.40}$$

que expresa s en función de las propiedades de la partícula (ρ, R_p) y del fluido (μ, ρ).

Ejemplo 3.6 Preparación de un concentrado de ribosomas 70 S

Como es sabido, los ribosomas son las unidades citoplasmáticas de la maquinaria celular que traduce el ARN-m a proteína. En este ejemplo, queremos ver si podemos hacer un preparado en una centrífuga relativamente pequeña (una Sorvall de laboratorio refrigerada, de altas prestaciones), girando a N = 10.000 rpm. Queremos determinar el tiempo para clarificar una suspensión de ribosomas 70 S. La distancia radial es de 1 cm y el radio del menisco inicial, de 4 cm. El medio de sedimentación es agua (1 cP, densidad = 1 g/cm^3).

En la ecuación 3.37, podemos sustituir s por la expresión de la velocidad y se tendrá:

$$s = \frac{1}{\omega^2 r}\frac{dr}{dt}$$

o bien:

$$\frac{dr}{r} = s\omega^2 dt$$

que, integrada entre 0 y t, y r y r_o, respectivamente, da:

$$s\omega^2 t = \ln\frac{r}{r_o}$$

con r_o= 4 cm y r = 5 cm. Expresando el tiempo en segundos, $\omega = 2\pi N = 2\times\pi\times 10.000/60$, 70 S = 70×10^{-13} s, el tiempo de clarificación necesario valdrá:

$$t = \frac{\ln\left(r/r_o\right)}{s\omega^2} = \frac{\ln\left(5/4\right)}{70\times10^{-13}\times\left(2\pi\times167\right)^2} = 28.983s = 8,05h$$

que es un tiempo no muy exagerado. Habrá que procurar simplemente que la refrigeración no falle.

3.6.2 Determinación del peso molecular con la ultracentrífuga analítica

Consideramos el caso simple en que el análisis se basa en las ecuaciones 3.5 y 3.7, que dan el equilibrio de fuerzas en un campo centrífugo, a través de la segunda ley de Newton (partícula de volumen V_p, densidad ρ_s y masa m). En condiciones de sedimentación en la ultracentrífuga, habrá que considerar el peso efectivo (el peso, menos el empuje de Arquímedes) y la fuerza de arrastre/fricción de Stokes. Considerando el término de inercia 0, tendremos:

$$V_p\left(\rho_s-\rho\right)\omega^2 r-6\pi\mu du=0 \tag{3.41}$$

que es equivalente a la ecuación 3.5, expresada ahora en función de la masa m:

$$\frac{m}{\rho_s}\left(\rho_s-\rho\right)\omega^2 r=6\pi\mu R_\rho u \tag{3.42}$$

Si consideramos el volumen específico del componente macromolecular (que equivale al volumen específico parcial de la solución de polímero), podemos escribir, aproximadamente:

$$\bar{v}\approx 1/\rho_s \tag{3.43}$$

de donde:

$$V_p=m\bar{v}=m/\rho_s \tag{3.44}$$

Poniendo la masa en la ecuación 3.39 y despejando m, tenemos:

$$m=\frac{6\pi\mu du}{\left(1-\bar{v}\rho\right)\omega^2 r}=M_{ap} \tag{3.45}$$

que nos daría la masa m o el peso molecular M_{ap} de la macromolécula. Sin embargo, la centrifugación no se produce en condiciones infinitamente diluidas. Por tanto, la aglomeración de partículas en la celda de sedimentación tiene una cierta viscosidad. Describiendo las moléculas como una suspensión de esferas, su viscosidad puede expresarse mediante la ecuación de Stokes-Einstein (Reid *et al*., 1999):

$$D\mu=\frac{R_g T}{6\pi R_p} \tag{3.46}$$

de forma que la suspensión está sujeta a difusión. Por tanto, en la ecuación resultante intervendrá el coeficiente de difusión. Es decir, despejando de las ecuaciones anteriores, M_{ap}, tendremos:

$$M_{ap}=\frac{sRT}{D\left(1-\bar{v}\rho\right)} \tag{3.47}$$

que se conoce como ecuación de Svedberg.

3.6.3 Sedimentación en un gradiente de densidad

Diversos solutos (sacarosa, algunos polisacáridos, sílice coloidal, sales, etc.) permiten crear un gradiente de densidad en la celda de la ultracentrífuga girando a gran velocidad. Uno de los más utilizados es el CsCl, que permite crear un gradiente de densidad de 1 a 2 g/cm^3, aproximadamente, para una concentración de sal de 7,7 M a una velocidad de 45.000 rpm. Cabe esperar (v. ec. 3.44) que, si centrifugamos una disolución de la macromolécula del problema a un gradiente de densidad hasta el equilibrio, se estabilizará en un radio r_0 tal que la densidad del medio cumpla que $v\rho = 1$. Asimismo, se registra un pico de sedimentación, que indica la densidad de la macromolécula e, indirectamente, su peso molecular.

Se observa que la concentración de polímero en torno al radio $r = r_o$ donde tiene lugar el equilibrio de sedimentación es una distribución normal, o sea:

$$\frac{C}{C_{r=ro}} = e^{\frac{-(r-r_o)^2}{2\sigma^2}} \tag{3.48}$$

siendo C las concentraciones de soluto en la celda de sedimentación cercanas al máximo de C. La variancia del pico de la macromolécula depende de variables conocidas y del M_{ap} (Tanford, 1961):

$$\sigma^2 = \frac{RT}{\bar{v}(d\rho/dr)\omega^2 r_0 M_{ap}} \tag{3.49}$$

Esta expresión indica que, midiendo la variancia (p. ej., por métodos ópticos), se puede calcular M_{ap}, ya que todas las demás variables de la ecuación 3.49 son conocidas en un experimento de equilibrio. El gradiente de densidad es conocido; r_o y ω son medidos *in situ*, y el volumen específico viene dado por la densidad en $r = r_o$.

$$\bar{v} = \frac{1}{\rho_{r=ro}} \tag{3.50}$$

3.7 Consideraciones finales

En este capítulo, hemos estudiado las centrífugas que se utilizan más en biotecnología. La centrifugación es uno de los métodos más importantes para retirar los sólidos como primera opción en las bioseparaciones. En la industria, las centrífugas de discos cónicos y de cesta tubular son las que resuelven la mayor parte de las separaciones. En la figura 3.10, se muestran las áreas de selección. Se representa el número G en función del diámetro de las centrífugas. Como se ve, la capacidad máxima es de 60.000 g y 80 cm de diámetro. Ello quiere decir que la superficie que ocupan las centrífugas en una planta de producción es relativamente pequeña.

Para filtros centrífugos de gran diámetro en trabajo discontinuo y de otros aparatos de gran velocidad, hay que tener en cuenta primero la seguridad en lo relativo a la instalación. Es prudente instalar y operar una centrífuga grande en una planta baja, pues ello permite un buen anclaje de la base a un fundamento robusto en el suelo. Eso es importante si consideramos la energía que tiene con la cesta girando a plena carga. Muy a menudo, puede haber una distribución irregular de la carga que puede causar accidentes. Hay que pedir asesoramiento al proveedor para la obra de instalación de una centrífuga.

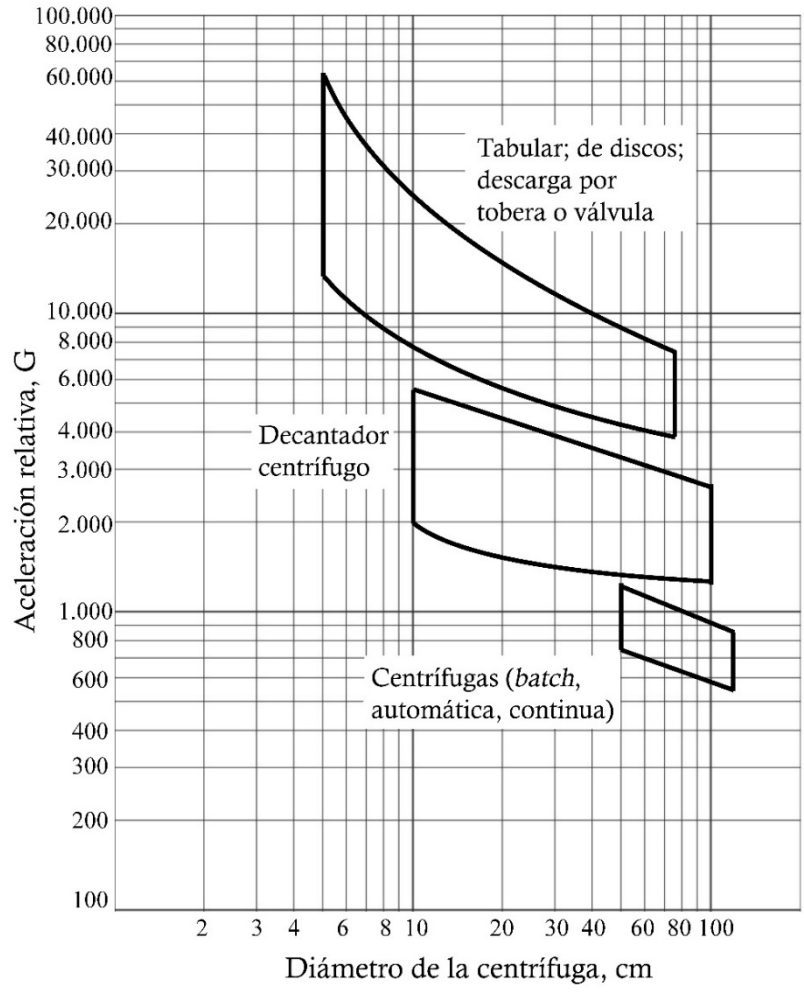


Fig. 3.10
Relación entre las dimensiones de las centrífugas (eje de abscisas) y el número de gravedades, G, que trabajan (eje de ordenadas
Fuente: Perry-Green (1998)

3.8 Nomenclatura

a	Distancia entre discos, en m
C	Concentración, en kg/m^3
d	Diámetro, en m
D	Difusividad, en m^2/s
d_p	Diámetro de la esfera, en m
F_c	Fuerza centrífuga, en N
F_D	Fuerza de fricción y arrastre sobre una partícula, en N
g	Aceleración de la gravedad, 9,81 m/s^2
G	Aceleración relativa
L	Longitud, en m
M_{ap}	Peso molecular aparente, en kg/kmol
N	Frecuencia, en Hz
Q	Caudal teórico, en m^3/s
Q_{real}	Caudal de la máquina, en m^3/s
r	Radio de giro de una partícula, en m
R	Radio, en m
R_g	Constante del gas ideal, 8,314 J/mol·K
R_m	Radio medio, en m
r_o	Radio inicial, en m
R_p	Radio de la partícula, en m
s	Coeficiente de sedimentación, en s
t	Tiempo, en s
u	Velocidad, en m/s
u_t	Velocidad terminal, en m/s
V	Velocidad d_r/d_t, en m/s
v	Volumen parcial específico, en m^3/kg
V_g	Velocidad de caída libre en el agua, en m/s
V_p	Volumen de una partícula, en m^3
V_r	Componente radial, vector, en m/s
V_z	Componente axial, vector, en m/s
Z	Número de discos

α	Coef. específico de filtración, en m/kg
ε	Fracción en volumen
η	Rendimiento
μ	Viscosidad, en Pa.·s
θ	Semiángulo del cono, en grados
ρ	Densidad fluido, en kg/m^3
ρ_p	Densidad partícula, en kg/m^3
Σ	Sigma de una centrífuga, en m^2
σ	Desviación tipustipo, en kg/m^3

Disrupción celular

Los bioproductos se sintetizan en el citoplasma de las células. En algunos casos, se liberan al medio de cultivo por secreción a través de la membrana celular. Muy a menudo, sin embargo, quedan retenidos en el citoplasma, ya sea disueltos en él o en inclusiones celulares adaptadas al efecto, en los ribosomas o en las mitocondrias, que son estructuras intracelulares fundamentales. Ni que decir tiene que es preferible tener el producto fuera de la célula, ya que simplifica las operaciones de recuperación. En algunos casos, los genetistas pueden obtener mutantes que secreten el producto, y ello resuelve el problema de la disponibilidad del mismo. En general, sin embargo, hay que aplicar técnicas de disrupción o de rotura celular que liberen el bioproducto. El objetivo de este capítulo es el estudio de estas técnicas.

Los procedimientos de rotura celular se resumen en la tabla 4.1. En este capítulo, analizamos primero la estructura de la membrana celular. Después, vemos los procedimientos químicos de rotura de la membrana (presión osmótica, detergentes, solventes, etc.). Luego, entre los procesos mecánicos, estudiamos la homogeneización, su rendimiento y la selección del equipo, así como la molturación mediante un molino de bolas, como técnicas más frecuentes. Cabe señalar que se emplea una gran cantidad de energía en los procesos de homogeneización, molido, etc., lo cual incide sensiblemente en el coste del producto, como consecuencia de los volúmenes de medio a tratar y de la energía específica que consumen.

4.1 La membrana celular

Se ha investigado mucho sobre la membrana celular, sobre todo por sus propiedades de transporte activo. Se conoce bastante su estructura con bastante detalle. Pero de ello no se deriva una guía directa de cómo destruirla. Las células más interesantes para la ingeniería y la manipulación genética son las procariotas, como *Escherichia coli*, aunque en la actualidad tienen mucho interés las células de mamíferos.

La *E. coli* no tiene núcleo y su dotación genética está contenida en un ADN más o menos libre en el citoplasma. Hoy en día, utilizamos *E. coli* como organismo clave para modificar su ADN, transferirlo y hacerlo expresar.

Los microorganismos y las células que se utilizan en biotecnología son simples (procariotas), o bien más complejas (eucariotas). La distinción entre ellas es la ausencia o la presencia de un núcleo celular organizado y rodeado por una membrana nuclear. En la mayoría de los casos, son bacterias y levaduras. Las bacterias tienen un tamaño de 1 μm, aproximadamente, mientras que las células de la levadura pueden llegar a tener 10 μm de diámetro.

La membrana celular tiene 1 nm de espesor en el caso de las bacterias y unos 10 nm en el caso de las levaduras. La complejidad estructural de la membrana es mínima en el caso de las células Gram-positivas; algo más compleja en las bacterias Gram-negativas, y mucho más compleja y resistente en los hongos y las células vegetales o animales. Ello se representa en la figura 4.1, donde se ven los diversos envoltorios que constituyen la membrana.

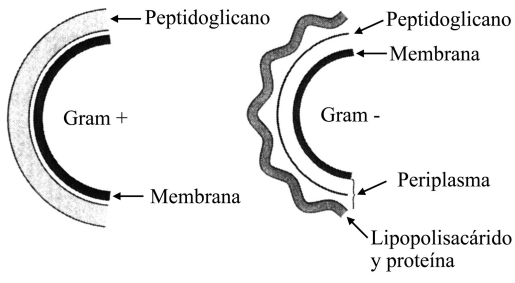


Fig. 4.1
Esquema de los envoltorios celulares de las bacterias, las levaduras y los hongos que se utilizan en biotecnología. El espesor de los envoltorios de las bacterias es de 10 nm. El espesor de las levaduras es 100 nm. Fuente: Belter *et al.* (1987)

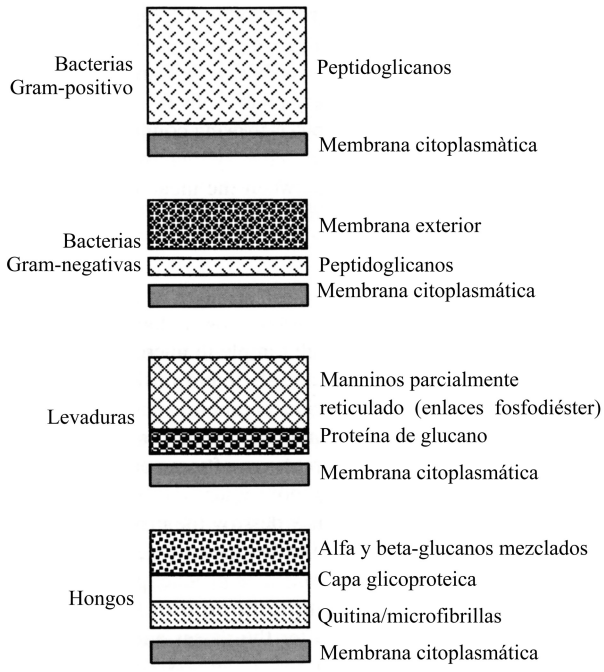


Fig. 4.2
Estructura detallada de la membrana plasmática, que muestra la doble capa de fosfolípidos y las cadenas hidrofóbicas. Fuente: García *et al.* (1999): *Bioseparation Process Science*

Los microorganismos más sencillos son las bacterias Gram-positivas, que tienen una capa lipídica interna de fosfolípidos y una capa externa de proteína o polisacárido denominada *mureína*. Las bacterias Gram-negativas tienen dos capas de fosfolípidos (interna

y externa) con un relleno de mureína. Las capas de fosfolípidos son hidrofóbicas, y, para ser solubilizadas en agua, se requiere la acción de un detergente/jabón potente, que disuelva o emulsione las capas oleosas (v. tabla 4.1).

Como se ha dicho, las levaduras son de tamaño mayor (10 μm). La membrana tiene diversas capas: la interior es lipídica y las otras se basan en glucano y mannano (dos polisacáridos) con inclusiones de proteína en medio (v. figura 4.2). Como es bien sabido, la disolución de los polisacáridos es difícil de realizar (piénsese en el proceso de fabricación de pasta de papel y celulosa a partir de la madera); por tanto, en las levaduras, es bastante difícil desmontar la membrana. A veces, se recurre a la digestión enzimática como operación especial. Asenjo *et al*. (1985) describen un modelo de digestión enzimática de membranas de levaduras como una operación unitaria más.

En la figura 4.3, se representa un esquema de estructura de la membrana plasmática. Se ve un ordenamiento vertical de cadenas de fosfolípidos con una zona común de cadenas hidrocarbonadas hidrofóbicas y con extremos inferiores y superiores de grupos hidrofílicos (zwitteriones). Incluidas en la membrana, hay proteínas globulares que tienen funciones específicas, posiblemente relacionadas con el transporte de azúcares, aminoácidos, agua e iones, a través de la membrana.

Tabla 4.1
Técnicas de rotura celular (Belter *et al.*, 1988)

Métodos	Técnica	Fundamento	Agresión hacia el bioproducto	Coste	Ejemplos
Químicos					
	Choque osmótico	Presión interna	Suave	Bajo coste	Rotura de glóbulos rojos
	R. enzimática	Digestión pared	Suave	Caro	*Micrococcus lysodeikticus* con lisozima de huevo
	Solubilización	Detergente	Suave	Bastante caro	Sales biliares sobre *E. coli*
	Dis. de lípidos	Solvente orgánico	Moderada	Poco caro	Disrupción de levadura con tolueno
	Tratamiento alcalino	Hidrólisis de lípidos	Violento	Poco caro	
Mecánicos					
	Corte (cuchillas)	Turmix/ Minipimer	Moderado	Moderado	Tejidos animales y células
	Molturación	Molino con abrasivos	Moderado	Poco caro	
	Sonicación	Cavitación con ultrasonidos	Violento	Caro	Suspensión de células a escala de laboratorio
	Homogeneización	Cizalla, cavitación	Violento	Moderado	A gran escala, excepto bacterias
	Molino de bolas	Células rotas, bolas (vidrio, acero)	Violento	Poco caro	A gran escala de suspensiones de células y tejidos vegetales

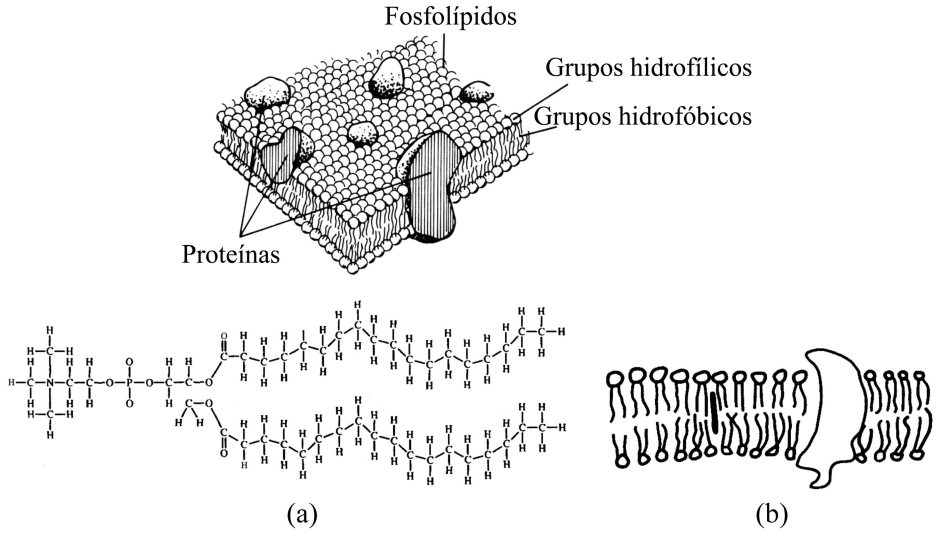


Fig. 4.3
a) Molécula de fosfolípido que muestra el extremo iónico y las cadenas hidrofóbicas. *b*) Disposición más o menos ordenada. Las moléculas son de 2,5 nm. Véase la inclusión de colesterol (barra negra vertical) y la inclusión de proteína. Fuente: Harrison *et al.* (2003)

4.1.1 Resistencia mecánica de la membrana: ósmosis y choque osmótico

Un método sencillo de romper las células es ponerlas en contacto con una disolución hipotónica, de forma que la propia membrana celular actúe de membrana semipermeable absorbiendo agua hacia adentro de la célula. El fenómeno de la ósmosis se produce cuando dos disoluciones de diferente concentración se ponen en contacto a través de una membrana semipermeable. Entonces intercambian solvente, lo cual genera una presión en la parte de alta concentración. La presión generada se llama *presión osmótica*. Este paso de agua sigue hasta equilibrar el potencial químico del agua a ambos lados de la membrana. La presión osmótica es una propiedad coligativa de las disoluciones líquidas, separadas por una membrana semipermeable. Recuérdese que las propiedades coligativas dependen del número de especies en la solución.

Queremos calcular ahora la presión osmótica (v. figura 4.4). El agua pura y el agua de mar están separadas inicialmente por una membrana semipermeable, de modo que sus presiones son iguales. Sin embargo, cuando se ha alcanzado el equilibrio de ósmosis, en el lado de la solución del agua de mar (izquierdo) hay una presión p_1 superior, mientras que en el lado del agua pura (derecho) hay una presión p_2. En el momento del equilibrio, hay una presión $p_1 > p_2$, de modo que la diferencia $p_1 - p_2 = \Pi$.

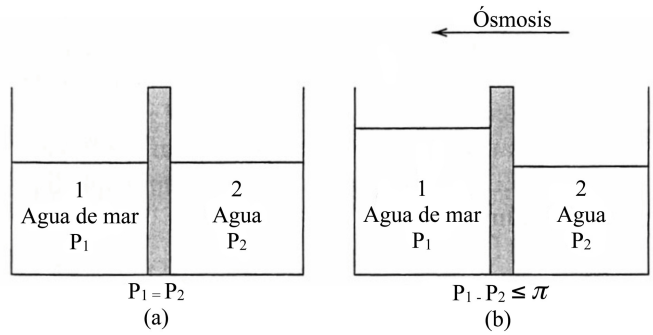


Fig. 4.4
El contacto a través de una membrana semipermeable de dos soluciones (una de agua de mar y la otra de agua pura) provoca el transporte de agua pura, que tiende a diluir la más concentrada hasta la presión osmótica o de equilibrio

Designemos por 2 el componente agua, y por 1 el componente sal. Supongamos ahora que las disoluciones son ideales y calculemos el potencial químico del agua (2) a ambos lados de la membrana.

En general, una disolución líquida a p y T se considera ideal cuando la dependencia del potencial químico de todos sus componentes se puede expresar como $\mu_2 = G_i + R_gT \ln x_i$, en que G_i es el potencial del componente cuando es puro a p y T. Así, a temperatura constante T, para el componente 2 tendremos:

a) El potencial químico del componente 2 en la disolución cuya fracción molar es x_2 vale:

$$\mu_2 = G_2(T, p_1) + R_gT \ln x_2 \tag{4.1}$$

b) El potencial químico del agua (componente 2) en el agua pura, $x_2 = 1$, vale:

$$\mu_2 = G_2(T, p_2) + R_gT \ln 1 \tag{4.2}$$

donde las G_2 del agua corresponden al estado de referencia del agua pura líquida a T, p_1 y a T p_2, respectivamente, en que $p_1 > p_2$.

En equilibrio, los potenciales del agua (2) a ambos lados de la membrana son iguales, resultando:

$$R_gT \ln x_2 = G_2(T, p_2) - G_2(T, p_1) \tag{4.3}$$

Teniendo en cuenta que la derivada de G_2 respecto a p es igual al volumen molar parcial del agua pura, tendremos:

$$\left(\frac{\partial G_2}{\partial p}\right)_{T,n_1,n_2} = \overline{V}_2 \tag{4.4}$$

Como el agua líquida es incompresible, su densidad (y su volumen molar) es independiente de la presión, a T constante. Así pues, de la ecuación 4.4, se sigue que $\Delta G_2 = V_2 (p_2 - p_1)$, de donde:

$$R_gT \ln x_2 = \overline{V}_2 (p_2 - p_1) = -\overline{V}_2 \prod \tag{4.5}$$

Como se trata de una disolución binaria, $\ln x_2 = \ln(1-x_1)$. Desarrollando en serie $\ln(1-x_1)$ y tomando $\ln (1-x_1) \sim (-x_1)$, ya que x_1 es pequeña, se tiene finalmente:

$$\prod = R_gT \frac{x_1}{\overline{V}_2} = R_gTC_1 \tag{4.6}$$

que es la expresión de van 't Hoff de la presión osmótica, válida para soluciones diluidas, donde C_1 es la concentración molar del soluto en kmol/m^3, T es la temperatura absoluta K, R_g = 0,0831 bar m^3/(kmol K) y Π será la presión osmótica en bar. Si la disolución salina es no ideal, la variable x_2 se tiene que sustituir por $\gamma_2 x_2$, donde γ_2 es el coeficiente de actividad del agua en la disolución salina.

Una aplicación es la siguiente: queremos saber cuál es la concentración efectiva de las sales y de los solutos dentro de las células. Teniendo en cuenta la vida de las especies marinas, la concentración en las células ha de ser similar a la salinidad del agua de mar a fin de mantener el equilibrio osmótico de la membrana celular. La salinidad del agua de mar se toma como 3,45 % NaCl, que daría una presión osmótica de más de 20 bar a 10ºC frente al agua pura. Se estima que la concentración citoplasmática de todos los solutos es del orden de 0,2 M (Belter *et al*., 1988), que daría una presión osmótica >10 bar a 37ºC. En el ejemplo 4.1, se calcula un valor más preciso.

Otra aplicación importante es la rotura de células inducida por un *choque osmótico*. El choque osmótico se utiliza para obtener hemoglobina de la sangre humana o de otros animales. Los glóbulos rojos tienen una membrana muy sencilla y son isotónicos frente a NaCl 0,3 M a temperatura ambiente (300 K). Por tanto, dispersando la sangre en agua pura, se libera la hemoglobina por rotura de la membrana.

Ejemplo 4.1. Presión osmótica de las células

Un análisis aproximado del contenido celular nos indica que el citoplasma contiene un 5 % en peso de solutos: 1 % es proteína de peso molecular 45.000; otro 1 % son lípidos solubles de peso molecular 400; otro 1 % son azúcares de peso molecular 170, y el 2 % restante son sales, tales como KCl (PM 74 g/mol). Calcúlese la presión osmótica del fluido en el interior de la célula respecto a agua pura a 37ºC (310 K).

Recuérdese que las propiedades coligativas dependen del número de partículas disueltas; por tanto, tenemos que considerar los moles de cada componente, incluyendo los de cada ion cuando se trate de una sal ionizable. Suponemos que la densidad es de 1 kg/L. La concentración de cada componente valdrá:

$$C\left(mol/L\right)=\frac{10\times\left(\%pes\right)}{PM}$$

Para el KCl (PM 74), suponemos que la sal está completamente ionizada; por tanto, un mol de sal da un mol de K^+ y un mol de Cl-, es decir, dos moles de partículas; por tanto, para el KCl, $\Pi = 2 \times RTC_{KCl} = 2 \times 0{,}0831 \times (37 + 273) \times 0{,}27 = 13{,}9$ bar.

En resumidas cuentas, a T = 37ºC, tendremos:

	Peso molecular, PM	% de peso	Conc. molar, en M	Presión osmótica, en bar
Proteína	45.000	1 %	$0{,}222 \times 10^{-3}$	0,006
Lípidos	400	1 %	0,025	0,64
Azúcares	170	1 %	0,058	1,49
KCl	74	2 %	0,27	13,9
			TOTAL	*16,03 bar*

La presión osmótica total frente a agua pura es, pues, de 16,03 bar.

Ejemplo 4.2. Determinación del peso molecular por osmometría

La medición de la presión osmótica de las macromoléculas en disolución es un método relativamente sencillo y rápido de determinar su peso molecular. Un ejemplo es el de la hemoglobina (Hb). Se pesan 4 g de Hb en un matraz aforado y se enrasa a 100 cm^3 con agua destilada. Se deposita en el aparato de ósmosis a 25ºC y se mide una presión de 1.600 Pa relativa a agua pura. A partir de este experimento, calcúlese el peso molecular de la hemoglobina, suponiendo que la solución es lo bastante diluida.

$$\Pi = R_g TC = R_g T \frac{C_w}{M}$$

$$C_w = 40\, g/L$$

$$M = \frac{R_g TC_w}{\Pi} = \frac{0,0831 \times 298 \times 40}{1.600 \times 10^{-5}} = 61.835\, g/mol$$

Tanford (1961) reporta para la Hb un PM = 67.000, medido por osmometría extrapolando a dilución infinita. El mismo autor da un PM de 60.000 a partir del coeficiente de sedimentación en la ultracentrífuga analítica. Así pues, se estima que nuestro valor obtenido por osmometría es aceptable.

4.2 Rotura celular con reactivos químicos

Los métodos químicos de disrupción se basan en la posible reacción de la membrana frente a los agentes siguientes. En primer lugar, por presión interna, que puede aumentar poniendo en contacto las células con soluciones salinas hipotónicas, como acabamos de ver. En segundo lugar, ante tres tipos de solventes químicos: los solventes aromáticos (como el benceno o el tolueno), que disuelven las grasas de la membrana; los tensoactivos, que no son exactamente disolventes pero solubilizan la membrana, y los álcalis (como la sosa, la potasa), que son un tipo más agresivo, que hidroliza los lípidos. Otro tipo celular de acción es debido a las enzimas y a los antibióticos.

4.2.1 Detergentes

Generalmente, los tensoactivos no iónicos y aniónicos son capaces de romper la membrana celular animal. Son más efectivos los tensoactivos aniónicos, que contienen grupos $-SO_3^-$ o $-COO^-$. Los no iónicos se basan en grupos polietoxietanol en el extremo hidrofílico y se obtienen por adición de óxido de etileno en el extremo de la cadena hidrocarbonada (octil- o nonilfenol, por ejemplo). Otros tensoactivos no iónicos típicos son el Tritón X-100 o el Tween-20, que tienen un cierto renombre en biología y una amplia aplicación industrial. La dosis efectiva de detergente es muy pequeña, por ejemplo, de 0,1 % a 0,3 % de Tritón X-100 por cada 50 millones de células/cm^3. Tanto con Tritón como con sulfonatos, se tiene que controlar la espuma, y añadir glicerol para estabilizar las proteínas. La utilización de tensoactivos se basa en pruebas experimentales, tanto para seleccionar el mejor tipo como para determinar su dosificación.

4.2.2 Solventes

Especialmente para las células eucariotas, se han utilizado solventes con el fin de romper la membrana. Sobre todo, se ha utilizado tolueno, el cual no es muy efectivo con las levaduras. Con células animales, se ha utilizado acetona, que además contribuye a la precipitación de las proteínas en forma de "polvo de proteína" después del secado. El proceso se hace a 0ºC, en que las proteínas retienen la conformación nativa. El polvo de precipitado se puede guardar y después disolver en un tampón calentándolo ligeramente.

4.2.3 Enzimas y antibióticos

Para las bacterias, se utiliza lisozima a una concentración de 1 g/L para digerir la pared celular, lo cual permite el choque osmótico posterior. La lisozima se utiliza con preferencia a otros enzimas, como las proteasas y las hidrolasas.

Con respecto a los antibióticos, se pueden utilizar las penicilinas para las células procariotas. La simple incubación de una población bacteriana durante unas cuantas horas por encima de la concentración mínima de inhibición produce divisiones celulares en que la síntesis de la pared celular está inhibida y el cultivo celular consiste básicamente en protoplastos.

4.3 Disrupción mecánica

La rotura mecánica se realiza a escala de laboratorio mediante diversos utensilios: *Dounces*, Minipimer^{TM}, ultrasonidos, molino vibrante, etc., pero el consumo unitario de potencia es tan grande que no se pueden emplear en operaciones industriales. Por ejemplo, el sonicador, que es muy efectivo en el laboratorio, desarrolla una potencia unitaria de 500 kW/m^3, impensable en la industria.

Industrialmente, la disrupción mecánica se realiza por homogeneización o por molturación en un molino de bolas. La homogeneización se realiza en un aparato en continuo, mientras que la molturación se hace generalmente por cargas. A continuación, describimos estos dos procesos.

4.3.1 Homogeneización

El instrumento de laboratorio es la válvula que se representa en la figura 4.5, que contiene los elementos de una máquina industrial; básicamente se trata de una restricción por donde se hace circular el caldo de las células desde una bomba contra el asiento de un pequeño pistón, sometido a una presión fijada con un resorte y un tornillo de ajuste. La versión industrial en continuo se representa esquemáticamente en la figura 4.6. Consiste en un intercambiador de calor, una bomba de alta presión y una válvula de contrapresión donde tiene lugar la expansión del fluido hasta alcanzar la presión atmosférica. La válvula permite fijar la caída de presión en la válvula. A veces, el intercambiador de calor se sitúa después de la expansión, pero se puede colocar antes. Los elementos del proceso de compresión y expansión son una bomba multicilíndricaa 500-1.500 bar, con caudales de hasta 10 m^3/h, que induce la cavitación en el asiento de la válvula con una velocidad

del fluido de unos 300 m/s. La eficacia del homogeneizador se define con respecto a la proteína específica que se quiere liberar. En función de las células rotas, vale:

$$R = \frac{\text{Células rotas}}{\text{Células totales}} \tag{4.7}$$

Lo podemos referir también a la proteína liberada. Así, después de pasar por el homogeneizador, calcularemos R en función de las concentraciones medidas de proteína liberada y máxima como:

$$R = \frac{C_{N=1}}{C_{\max}} = 1 - \exp(-K) \tag{4.8}$$

en que el numerador es la concentración de proteína liberada en N = 1 paso.

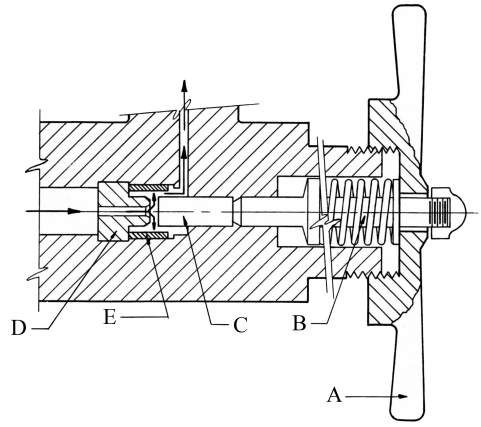


Fig. 4.5
Válvula de homogeneizador de alta presión.
a) Control de la presión.
b) Muelle de compresión.
c) Varita de la válvula.
d) Asiento. *e*) Anillo de impacto.
Fuente: Engler (1994): *Protein Purification Process Engineering*

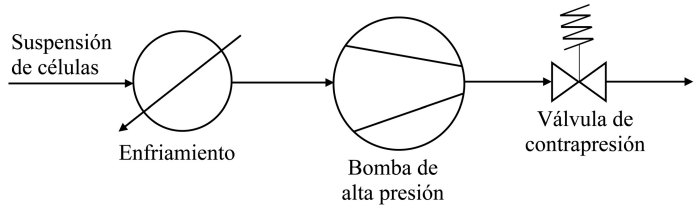


Fig. 4.6
Esquema de un homogeneizador continuo. Enfriamiento a 0ºC, bomba de pistones, alimentación de 100 a 1.500 bar, válvula de contrapresión (velocidad del fluido: ~300 m/s)

Cinética de la disrupción. La extensión del proceso depende de la presión; del número de pasos, N a través de la válvula; del diseño de la válvula, y, en menor grado, de la temperatura. También depende del microorganismo y sus condiciones de crecimiento. Engler indica los efectos del número de pasos y diferentes caídas de presión en la figura 4.7. De la figura, queda claro que el proceso es lineal con N, dependiendo de la caída de presión. En la figura 4.8, se indican los efectos de la disrupción según los tipos de células *S. cerevisiae* o *C. utilis*, en función de la caída de presión. En la figura 4.9, se muestra la dependencia de la constante de primer orden con respecto a la presión. Véanse las ecuaciones siguientes. A partir de los estudios de Engler, se resumen los efectos siguientes de las variables. La cinética es de primer orden con respecto al número de pasos por la máquina, N (v. fig. 4.7), con una constante cinética de primer orden, K. La constante de primer orden depende exponencialmente de la caída de presión, -Δp (v. fig. 4.8), según:

$$K = K'\left(-\Delta p\right)^{a} \tag{4.9}$$

donde el exponente *a* viene dado por el tipo de microorganismo y la máquina (v. tabla 4.2), y varía entre 0,8 y 2,9.

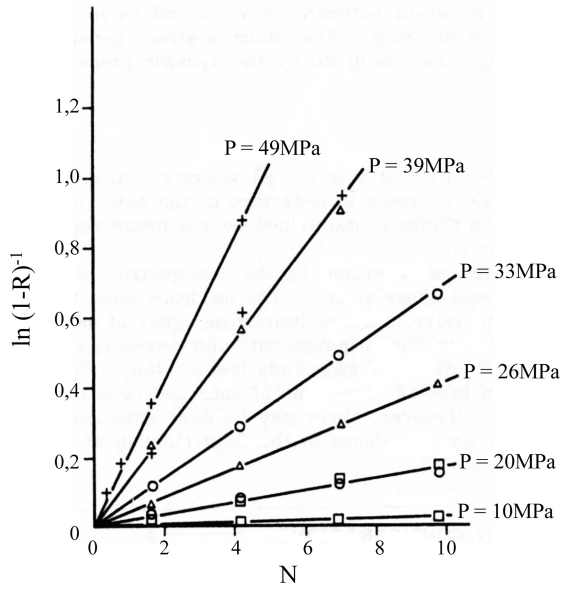


Fig. 4.7 Cinética de rotura de primer orden de levadura, en función del número de pasos N y de la caída de presión (Δp, en MPa). Fuente: Engler (1999)

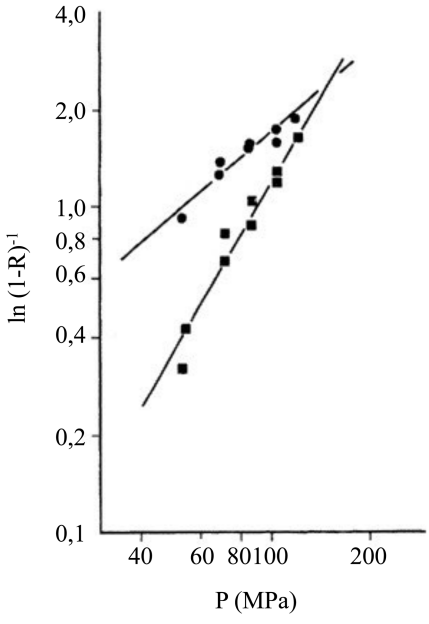


Fig. 4.8 (izqda.) Rotura de *S. cerevisiae* (círculos) y *C. utilis* (cuadrados), cultivadas en continuo en condiciones iguales Fuente: Engler (1999)

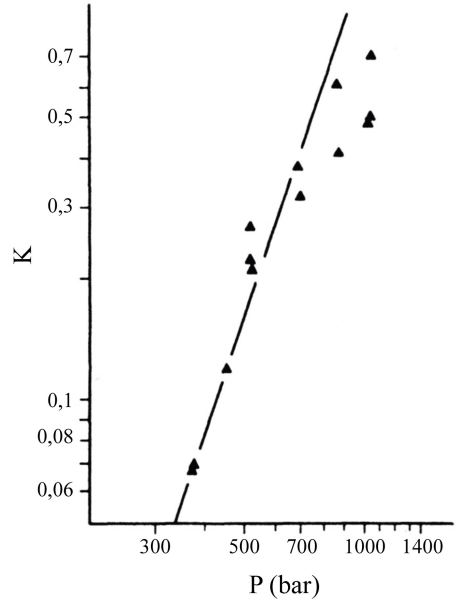


Fig. 4.9 (dcha.) Rotura de levadura. Constante de disrupción K en función de la presión. Fuente: Engler (1999)

$$K = K'\left(-\Delta p\right)^{a} \qquad (4.9)$$

donde el exponente *a* viene dado por el tipo de microorganismo y la máquina (v. tabla 4.2), que varía entre 0,8 y 2,9.

Tabla 4.2
Valores del exponente de la presión *a* del homogeneizador (Engler, 1987)

Microorganismo	Exponente *a*
Levadura de pan*	2,9
Bacillus brevis*	1,8
E. coli*	2,2
Candida utilis	1,8
S. cerevisiae	0,86
Bacillus subtilis	1,07

*Homogeneizador Manton-Gaulin de APV, Ltd.

Teniendo en cuenta cómo influyen los factores, podemos escribir una ecuación cinética empírica de la forma siguiente, que relaciona la R (definida por la ecuación 4.7) con el número de pasos N:

$$1-\frac{C_N}{C_{\max}}=\exp(-KN) \tag{4.10}$$

$$-\ln\frac{1}{1-R}=K'N(-\Delta P)^a \tag{4.11}$$

donde las unidades de $-\Delta p$ son bar y las de K' son bar $^{-a}$. Algunos autores incluyen un denominador, Δp_0, como parámetro; así:

$$1-R=\exp\left[-k\left(\frac{\Delta p}{\Delta p_0}\right)^a\right] \quad \text{N=1} \tag{4.12}$$

$$1-R=\exp\left[-kN\left(\frac{\Delta p}{\Delta p_0}\right)^a\right] \quad \text{N=N} \tag{4.13}$$

donde $(1\text{-}R)^N$ representa las células que quedan para romper, después de N pasos. Normalmente, en la industria, N = 2 como máximo. Véase en el ejemplo 1.3 cómo se manejan las ecuaciones.

4.3.2 Termodinámica

Nos referimos al esquema de la figura 4.6 para el proceso de homogeneización en una máquina comercial. Se trata de un sistema a flujo continuo, en que hay una compresión adiabática (bombeo del líquido) y una expansión en la válvula. Ambos procesos son irreversibles y tienen un consumo neto de energía. Primero, calculamos el calentamiento en la válvula de laminado.

Calentamiento en la válvula. La experiencia muestra un calentamiento apreciable durante la expansión, que hay que controlar, ya que muchas proteínas pueden desnaturalizarse por encima de 40ºC. Sea p_1-p_2 la caída de presión en la válvula. Apliquemos la ecuación de la energía mecánica (Bernoulli) a dos puntos hipotéticos: 1, antes de la válvula, y 2, después, de manera que las elevaciones y las velocidades del fluido sean iguales en estos dos puntos. No hay vaporización de agua y la densidad del líquido es aproximadamente constante. La energía degradada en la fricción, $-\Delta E$ (J/kg), valdrá:

$$-\Delta E = \left[\frac{u_1^2}{2} + gz_1 + \frac{p_1}{\rho}\right] - \left[\frac{u_2^2}{2} + gz_2 + \frac{p_2}{\rho}\right] = \frac{Q_f}{m} \tag{4.14}$$

que corresponde a la pérdida de carga del fluido que se transforma en calor. Este calor se utiliza para calentar el líquido adiabáticamente (la válvula está calorifugada). Con las hipótesis anteriores, el calentamiento de T_1 a T_2 se obtiene de la ecuación anterior, como:

$$\frac{Q_f}{m} = \frac{p_1 - p_2}{\rho} = C_p\left(T_2 - T_1\right) \tag{4.15}$$

de donde el calentamiento del fluido en la válvula, $\Delta T_v = T_2\text{-}T_1$, valdrá:

$$\Delta T_v = \frac{p_1 - p_2}{\rho C_p} \tag{4.16}$$

donde C_p es el calor específico del líquido, Cp = Cv = 4.184 J/kgºK; ρ es la densidad = 1.000 kg/m^3, y p_1 y p_2 son las presiones antes y después de la válvula, en Pa. Con los datos de presión de la máquina, se puede calcular este calentamiento y si hay que instalar un intercambiador de calor para compensarlo. En la figura 4.6, el cambiador está situado antes de la válvula.

Potencia del homogeneizador. Consideramos que el fluido pasa por la bomba de manera isotérmica, es decir, despreciamos el pequeño aumento de T. Para calcular la potencia de la bomba, aplicamos la primera ley a un sistema a flujo en régimen estacionario. Entre las bridas 1 y 2 de la bomba, el balance de energía se escribirá como:

$$\Delta H + \Delta u^2/2 + \Delta gz = Q + W \tag{4.17}$$

donde W es el trabajo mecánico realizado por la bomba sobre el fluido. En primer lugar, expresaremos el cambio de entalpía en función de la entropía y la presión, como ΔH = TΔS + VΔP = Q + VΔP, (Smith-Van Ness, 1987). Teniendo en cuenta que V = 1/ρ = constante (por ser el líquido incompresible), y sustituyendo ΔH dado por la última expresión en la ecuación (4.17), se obtiene:

$$\Delta\left(\frac{p}{\rho}\right) + \Delta\left(\frac{u^2}{2}\right) + \Delta gz = W \tag{4.18}$$

que se aplica entre los puntos 1 y 2, que resulta ser la ecuación de Bernoulli en J/kg de fluido. Ahora, con las hipótesis habituales ($u_1 = u_2$, $z_1 = z_2$), la potencia comunicada a m' kg/s de líquido valdrá:

$$\dot{W} = \frac{p_2 - p_1}{\rho} m' \tag{4.19}$$

Suponiendo un rendimiento de la bomba del 75%, se puede calcular la potencia como:

$$Pot_{bomba} = \frac{p_2 - p_1}{\rho \times 0,75} m' \tag{4.20}$$

donde las presiones se expresan en Pa; ρ, en kg/m^3; m', en kg/s, y la potencia, en W.

Ejemplo 4.3. Selección de un homogeneizador y condiciones de trabajo

Unas pruebas con nuestro homogeneizador de células indican que recuperamos un 40 % por paso de una proteína con una caída de presión de 400 bar. La proteína se desnaturaliza a partir de los 35ºC. Suponemos el exponente $a = 3$.

1. Calcúlese el número de pasos de la suspensión a fin de recuperar el 95%, con presiones de trabajo de 400

2. , 600, 800 y 900 bar.

3. Calcúlese el aumento de temperatura en la válvula por paso.

4. Supongamos que queremos tratar en continuo el volumen de nuestro fermentador (100 m^3) en un día con un homogeneizador comercial. Escogemos una caída de presión de 800 bar. Sospechamos que consumirá mucha potencia. Calcúlese la potencia del homogeneizador si el rendimiento de la bomba es del 75 %.

1. Primero calculamos los parámetros de la ecuación (4.10):

$$1-\frac{C}{C_m}=\exp\left[-KN(-\Delta P)^a\right]$$

Para N = 1, recuperamos el 40 %; así pues, esto permite calcular K:

$$1-0,4=\exp\left[-K\times 1\times 400^3\right]$$

$$K=-\frac{\ln 0,6}{400^3}=7,9\times 10^{-9}$$

Con esta K, para una recuperación del 95 %, a 400 bar, necesitaremos dar N pasos por la máquina, de donde:

$$0,95=1-\exp\left[-KN(400)^3\right]$$

De done obtenemos N:

$$N=\frac{\ln 0,05}{-K(400)^3}\approx 6 \text{ pasos}$$

Repitiendo el cálculo para diferentes presiones, tenemos:

Caída de presión en la válvula, en bar	Pasos necesarios, N
400	6
600	2
800	1
1.000	menos de un paso

2. Veamos ahora el calentamiento a cada presión de trabajo. Para 600 bar, tendremos:

$$T_2 - T_1 = \frac{p_2 - p_1}{\rho C_p} = \frac{600 \times 10^5}{1.000 \times 4.184} = 14,3°C$$

Los aumentos de T en la válvula para las diferentes presiones, a $C/C_{máx} = 0,95$, serán:

$-\Delta p$, en bar	ΔT_v, en ºC
400	9,5
600	14,3
800	19,0

Hay que prestar atención, ya que a la temperatura de entrada a la válvula, se le suma ΔT_v, y T_2 no puede superar los 35ºC para no desnaturalizar la proteína. Se tendrá que instalar un intercambiador de calor para enfriar la suspensión antes de entrar en la válvula.

3. Todo el volumen del fermentador se debe tratar durante 24 horas en el homogeneizador. Así pues, para una presión de 800 bar, la potencia absorbida por la bomba para tratar m' = 100 t/d = 1,16 kg/s, será:

$$Pot = \frac{\Delta p \; m}{\rho 0,75} = \frac{800 \times 10^5 \times 1,16}{1.000 \times 0,75} \approx 123.700W = 124kW$$

que es bastante elevada, pero permite realizar la operación en un solo paso.

4.3.3 Molinos de bolas

En instalaciones de proceso, se utilizan los molinos de bolas, en general, para disgregar sólidos y reducirlos hasta polvo impalpable. Para los sólidos más difíciles de moler, se utilizan molinos de bolas de esteatita de hasta 2 o 2,5 pulgadas de diámetro o de otros materiales de gran dureza (vidrio duro, óxido de aluminio, silicato u óxido de circonio,

etc.). Para los microorganismos, los molinos de laboratorio tienen bolas de vidrio más pequeñas, de 0,2 a 1,5 mm de diámetro. Los molinos suelen ser horizontales y los agitadores coaxiales giran a una velocidad periférica de unos 10 m/s. La figura 4.10 ilustra de manera esquemática, un aparato de estos. Y la figura 4.11 muestra en detalle los agitadores del molino y las cuchillas que hacen el trabajo. La cámara del molino está llena de suspensión y bolas en un 90 % de su volumen.

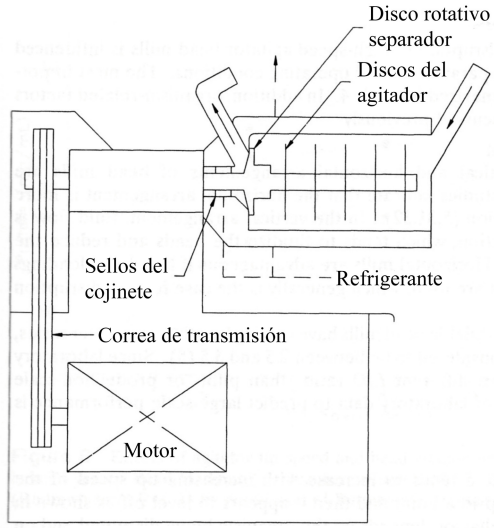


Fig. 4.10
Disposición de un molino de bolas que se utiliza en biotecnología (Dyno-Mill™ Bachofen, Basilea). El tambor mezclado por el agitador puede tener de 6 a 600 L, con bolas de 0,3 a 2,5 mm

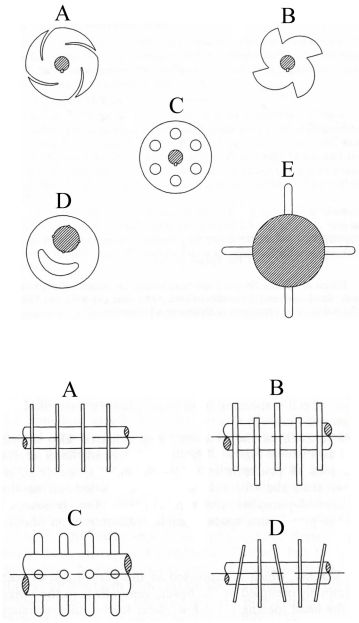


Fig. 4.11
Elementos de agitación y corte montados sobre el eje de un molino de bolas

Para nuestro proceso, interesarán tres aspectos de los molinos: el tiempo de operación necesario, la potencia a suministrar, y el tiempo y la temperatura de calentamiento en el caso de una operación adiabática.

El tiempo de operación es del orden de los 10 minutos (o poco más) y se puede evaluar a partir de la ecuación siguiente. Para molinos que trabajan *por cargas*:

$$\ln(1-R) = -kt \tag{4.21}$$

Para molinos que trabajan en *continuo con flujo de pistón* con *n* elementos en serie:

$$\frac{1}{1-R} = 1 + \left(\frac{kt_m}{n}\right)^n \tag{4.22}$$

donde t_m es el tiempo medio de residencia del fluido en el molino y n es el número de elementos de mezcla en serie (aproximadamente = número de agitadores). En realidad, n y k se tienen que determinar experimentalmente a partir de un estudio con trazadores aplicados al molino.

La eficacia del molino depende de los factores siguientes: el diseño de la cámara de mezcla, la velocidad de rotación, el tamaño de las bolas, el tiempo de residencia y la temperatura, y el microorganismo de que se trata.

En el ejemplo siguiente, se muestran algunos cálculos básicos del molino de bolas.

Ejemplo 4.5. Disrupción de células de levadura en un molino de bolas

En nuestra planta piloto, tenemos un molino de bolas Dyno-Mill™ de la serie KD 6, que presenta las características siguientes.

Tiene un motor de inducción trifásico de 15 kW de potencia nominal, a 380 V, que ofrece un rendimiento eléctrico del 87 % (v. Klöckner-Moeller, 1976). La capacidad del molino es de 6 kg de líquido y tiene una masa de 20 kg (cilindro más agitador). El movimiento del propio molino consume solo un 2 % de la potencia del motor. Prácticamente el 100 % de la potencia eléctrica comunicada se utiliza en arrastre y rozamiento de las bolas entre ellas y con el líquido. Téngase en cuenta que un molino de bolas trabaja con una cámara llena en un 90 % de bolas más la suspensión de células. Supongamos, además, que la distribución del calor dentro del molino es tal que todos los elementos presentes calientan por igual a la misma temperatura.

1. Suponiendo que el consumo de potencia debido a la molturación propiamente dicha es despreciable, calcúlese el caudal de agua de refrigeración que gastará el molino, si opera a una temperatura constante de la biomasa de 20ºC.

2. Si la constante de primer orden de disrupción del molino a 20ºC es de $k = 6{,}6\times10^{-3}$ s^{-1}, calcúlese el tiempo que se tarda con la refrigeración en marcha para alcanzar el 98 % de rotura de las células de levadura.

3. Queremos saber (por seguridad) si, arrancando el molino a 4ºC y fallando la refrigeración, dispondríamos de tiempo suficiente para salvar la proteína que estamos produciendo. Esta proteína se desnaturaliza a partir de los 35ºC; por tanto, nos interesa calcular el tiempo que se tarda en alcanzar esta temperatura cuando el molino trabaja sin refrigeración.

1. La potencia mecánica máxima empleada para molturar las células valdrá:

$$15kW \times (0,87 - 0,02) = 12,75kW$$

Si trabajamos a temperatura y presión constantes, el balance de energía nos indica el trabajo del motor que se utiliza casi íntegramente en generar calor, de donde:

$$W + Q = \Delta U = 0$$

Para que $\Delta U = 0$, se tiene que retirar una cantidad de calor que valdrá, como máximo:

$$Q' = -W = -12,75kW$$

Si la temperatura inicial del agua es 15ºC y la final, 35ºC, el caudal de refrigeración del molino deberá ser:

$$12,75kW = m'_w C_{pw}(Tf - T0) = m'_w \times 4,18 \times (35 - 15)$$

de donde el caudal de agua debe ser $m'_w = 0,152$ kg/s = 549 L/h, que es considerable para nuestro molino, que es de solo 6 L. Este calor tan elevado es coherente con el hecho de que, en un molino de bolas, casi toda la potencia se transforma en calor, pues no se consume casi nada en triturar.

2. Veamos ahora cómo funciona el molino a temperatura constante, con $k = 6,6 \times 10^{-3}$ s^{-1} y cuánto tarda en romper el 98 % de las células. La ecuación cinética (ec. 4.21) es:

$$\ln(1 - R) = -kt$$

Así pues:

$$t = \frac{\ln(0,02)}{6,6 \times 10^{-3}} = 592s$$

Es decir, unos 10 min.

3. Ahora queremos saber la velocidad a que aumenta la temperatura del molino sin agua de refrigeración, desde una temperatura inicial de 5ºC. Escribimos el balance de forma diferencial, con dT y dt. Se tendrá:

$$Wdt = dU = (\sum m_i C_{pi})dT$$

$$W = 12,75kW$$

$$\sum m_i C_{pi} = 20 \times 0,5 + 6 \times 4,18 = 35\,kJ/°C$$

$$\frac{dT}{dt} = \frac{12,75}{35} = 0,37°C/s$$

de modo que la velocidad de aumento de la temperatura puede ser muy grande, de 0,37ºC/s. Para llegar a los 35ºC desde los 5ºC, se necesitarán, pues, 30/0,37 = 81 s. Así pues, es totalmente necesario que la refrigeración funcione; si no, perderemos la proteína.

4.4 Consideraciones finales

Cuando el bioproducto de las fermentaciones se encuentra en el citoplasma de las células, la primera operación que hay que hacer es destruir el envoltorio celular. Aunque existen métodos químicos y enzimáticos para romper la membrana, para grandes producciones se recurre a la disrupción mecánica, operación que es también común en el laboratorio. Sin embargo, a gran escala, hay que ser muy cuidadosos a la hora de estimar la energía que se va a poner en juego, que suele ser grande.

La técnica más corriente es la homogeneización a alta presión. Consiste en comprimir la suspensión que se quiere tratar y expandirla por laminación a través de una válvula de contrapresión controlada. Las presiones pueden llegar a los 1.500 bar. Con una combinación de esfuerzos de corte y cavitación a alta velocidad, se logra un alto rendimiento de rotura, con aumentos de temperatura moderados que, en cualquier caso, hemos demostrado cómo se pueden calcular.

También se utiliza la molturación en un molino de bolas con refrigeración, que tiene también una alta eficacia. Tanto en el homogeneizador como en el molino, la suspensión de las células se preenfría a 0-4ºC, con el fin de evitar la desnaturalización de las proteínas. Hemos mostrado también cómo se pueden calcular los caudales de refrigeración y la velocidad de aumento de la temperatura, conociendo la constante cinética del proceso.

4.5 Notación

a	Exponente
C	Concentración molar, en mol/m^3
C_p, C_v	Calores específicos a P y V constante, en J/kg·K
G_2	Energía libre molar del componente 2 puro, en J/mol
g	Aceleración de la gravedad, 9,81m/s^2
H	Entalpía, en J/kg
K, K´	Constantes ec. 2.9
m	Masa, en kg
N	Número de pasos
p	Presión, en Pa
Q	Calor, en J
Q_f	Calor de fricción, en J
R	Eficacia del homogeneizador
R_g	Constante del gas ideal = 8,314 J/mol K
T	Temperatura, en K
u	Velocidad, en m/s
U	Energía interna, en J/kg
V	Volumen molar, en m^3/mol
W	Trabajo, en J
x_2	Fracción molar del componente 2
z	Elevación, en m

$-\Delta p$	Caída de presión en la válvula, en Pa
γ	Coeficiente de actividad
μ	Potencial químico del componente 2 en la disolución, en J/mol
Π	Presión osmótica, en Pa
ρ	Densidad, en kg/m^3

→5

Floculación

Hasta ahora hemos estudiado operaciones mecánicas de separación sólido-líquido en que las dimensiones de las partículas eran iguales a las células. Se sometían a centrifugación, o bien se rompían mecánicamente con el fin de liberar el bioproducto que estaba en el citoplasma. Tanto en un caso como en otro, el tamaño de las partículas no se modificaba en exceso. Antes o después de la rotura celular, deseamos poder incrementar el tamaño de las partículas por aglomeración, para aumentar la velocidad de la sparación sólido-líquido. Además, es interesante coagular y flocular el caldo para concentrarlo después por sedimentación. Tras la fermentación, el caldo no se sedimenta de forma espontánea, de modo que hay que provocar la inestabilidad del coloide. La floculación produce partículas mayores, de entre 0,5 y 1 cm de tamaño o más, visibles a simple vista, que son más fáciles de separar en un filtro, una centrífuga o un sedimentador.

En este capítulo, se estudia el tratamiento de la suspensión celular del caldo. Comienza con una introducción general de la estabilidad de los coloides liofóbicos, y después se estudian los procesos de coagulación y floculación. Se analizan las características eléctricas de los coloides liofóbicos y, finalmente, se estudia la coagulación desde el punto de vista químico, así como los floculantes sintéticos que se utilizan actualmente en la industria.

5.1 Fundamentos de la floculación

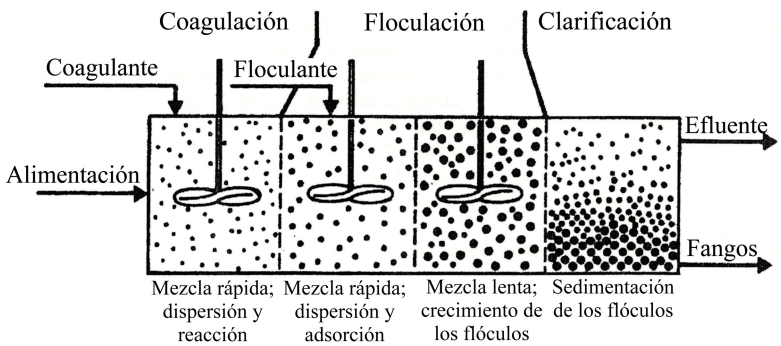
Los procesos de coagulación y floculación tienen lugar antes de la sedimentación por gravedad o en un campo centrífugo. A veces, si no se tiene en cuenta que la floculación tarda un tiempo, resulta ineficaz. En la tabla 5.1, se resumen los tamaños de las partículas de las suspensiones. En la figura 5.1, se representa esquemáticamente la secuencia de operaciones que llevan al crecimiento de los flóculos antes de sedimentar (o, si es el caso, de centrifugar). En las operaciones de aguas, el proceso se puede dividir en (1) espesamiento y (2) clarificación . El objetivo del espesamiento es incrementar la concentración de la materia en suspensión, mientras que la clarificación busca obtener un sobrenadante claro y transparente.

Tabla 5.1
Tamaños de las partículas en suspensión

Clase de suspensión	Tamaño de partícula
Coloides	< 0,001 mm
Dispersiones	de 0,001 a 0,1 mm
Coagulados	de 0,1 a 1 mm
Floculados	de 1 a 10 mm

En biotecnología, las partículas pequeñas iniciales tienen un tamaño máximo de 0,05 a 0,1 mm, que corresponde al tamaño de las células. Las suspensiones están estabilizadas por cargas eléctricas superficiales. Las partículas no se agregan entre ellas de forma espontánea, debido al movimiento browniano. Las células tienen, en general, una carga negativa a pH neutro. Esta carga eléctrica es debida a la membrana celular, que tiene grupos ionizados. Otro origen de la carga eléctrica es la adsorción de iones de la disolución. Así pues, los coloides del caldo o del detritus de la lisis celular están fuertemente estabilizados.

Fig. 5.1
Esquema de operaciones de floculación



Primero, distinguiremos la coagulación de la floculación. La coagulación es el proceso químico mediante el cual se neutraliza la carga eléctrica de las partículas coloidales, con lo cual se destruyen las fuerzas de repulsión entre ellas. La floculación es la operación en que se induce a las partículas a formar agregados de mayor tamaño. Los dos procesos transcurren en serie y están relacionados con los reactivos químicos que se utilizan en cada uno y los aparatos donde tienen lugar. La figura 5.1 resume esquemáticamente los procesos y los aparatos. Las distintas etapas de la figura 5.1 no son instantáneas, sino que requieren un cierto tiempo.

La coagulación cambia la carga superficial del coloide, mientras que en la floculación se forman puentes entre partículas eléctricamente neutras gracias a las largas cadenas de polímero disuelto que las enlazan. Las fuerzas de corto alcance (de London, de Van der Waals, y los puentes de hidrógeno) empiezan a actuar para terminar el proceso de formación irreversible de los flóculos. Normalmente, se emplean coagulantes inorgánicos (por ejemplo, sulfato de aluminio), mientras que para flocular se utilizan polímeros solubles en agua (por ejemplo, poliacrilamidas y polielectrolitos), que hacen el trabajo de manera espectacular, ya que el tamaño del flóculo crece ostensiblemente, hasta 1,5 cm o más, partiendo de un tamaño inicial invisible, de 0,1 mm. La velocidad de floculación es alta y el proceso, que dura unos cuantos segundos, es visible a simple vista.

En la tabla 5.2, se muestran los tipos usuales de coagulantes propiamente dichos. En la tabla 5.3, se indican las características químicas de los polímeros sintéticos floculantes más importantes. Con unas partículas del tamaño de los flóculos, se puede decantar sin problemas la solución clara en un espesador, en el tratamiento de aguas. En el espesador, se separa por el fondo del aparato un barro consistente y por el rebosadero superior el agua clarificada.

Tabla 5.2
Coagulantes industriales y dosificación (Rigola, 1989)

Coagulante	Reactivo comercial	Aplicación a agua	Dosis*, g/m^3
Sulfato de aluminio	$(SO_4)_3Al_2 \cdot 14\ H_2O$	potable residual	30-150 100-300
Sulfato férrico Sulfato ferroso	$(SO_4)_3Fe_2 \cdot 3\ H_2O$ $SO_4Fe \cdot 7\ H_2O$	potable potable residual	20-60 20-60 200-400
Cloruro férrico, 40%	$Cl_3Fe \cdot 6\ H_2O$	potable residual	5-150 100-500
Cal apagada Policloruro de aluminio Poliaminas, al 1% PM inferior a 10^5	$Ca(OH)_2$ $Cl_{3n-m}\ (OH)_mAl_n$	residual potable	100-800 15-100

* Por m^3 de suspensión por coagular.

Tabla 5.3
Floculantes orgánicos sintéticos (Ullmann, 2014)

Tipo	Fórmula	Comentarios*
Poliacrilamida	$-(CH_2-CH_2)_n-$ $\quad\quad\quad

5.2 La estabilidad de los coloides liofóbicos

A continuación, se expone la teoría más aceptada de la estabilidad de las suspensiones coloidales y se comentan sus consecuencias prácticas. Los coloides se denominan *liofóbicos* porque son insolubles en el solvente, es decir, en el agua. El hecho de que las partículas coloidales floculen o no depende de la interacción neta entre dos fuerzas en oposición:

- la repulsión eléctrica entre partículas
- la atracción entre partículas por fuerzas de corto alcance, es decir, que no actúan hasta que están muy cerca.

La teoría de la estabilidad fue desarrollada por Derjaguin, Landau, Verwey y Overbeek (DLVO) entre los años 1948 y 1983. Es una teoría extensa y de gran profundidad, que aquí presentamos muy resumidamente (Probstein, 2003).

5.2.1 La doble capa eléctrica

Se denomina *doble capa eléctrica* la superficie del coloide rodeada de contraiones y coiones dispersos en una nube sometida a movimiento convectivo. En biotecnología, esta descripción afecta los procesos siguientes:

- la estabilidad de las suspensiones coloidales,
- la precipitación de las proteínas (por efecto salino),
- la floculación,
- la electroforesis,
- la extracción a otra fase.

La figura 5.2 ilustra el modelo de la doble capa, la capa difusa y la denominada *capa de Stern*. Los fenómenos electrocinéticos de esta figura son importantes en algunas tecnologías, por ejemplo en la fabricación de papel y en el tratamiento de aguas. La figura 5.3 presenta la distribución de iones en función de la distancia a la superficie del coloide. La distancia λ_D se denomina *radio de Debye* y se calcula a partir del potencial eléctrico ϕ, según la teoría de Debye-Hückel. Para un electrólito con disociación simétrica en agua a 25ºC, se deduce que:

$$\lambda_D = \left(\frac{\varepsilon RT}{2F^2 z^2 c} \right)^{1/2} \tag{5.1}$$

donde F es el Faraday (96.500 C/mol); c es la concentración molar de electrolito (en mol/m^3); z es la carga (-1,+ 1, etc.), y ε es la constante dieléctrica del agua, en C/(Vm), de donde λ_D (en m). En función de la fuerza iónica, I, la ecuación 5.1 se escribe:

$$\lambda_D = \left(\frac{\varepsilon RT}{8\pi F^2 \sum c_i z_i^{\,2}} \right)^{1/2} \tag{5.2}$$

donde el sumatorio proviene de todos los iones (en mol/m^3), a través de la fuerza iónica, la cual se define como:

$$I = \frac{1}{2}\sum_i c_i z_i^2 \qquad (5.3)$$

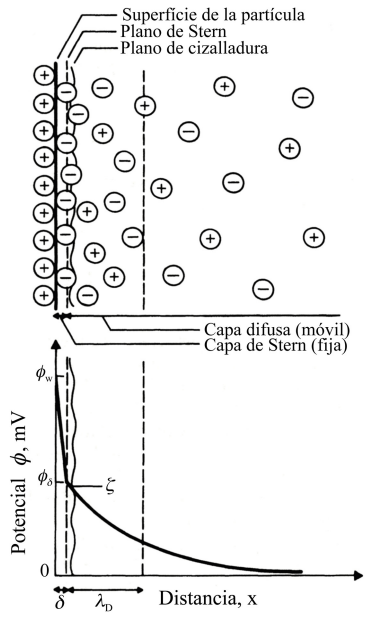


Fig. 5.2
Nube de iones positivos y negativos cerca de un coloide positivo. Concentraciones y potencial a la distancia x

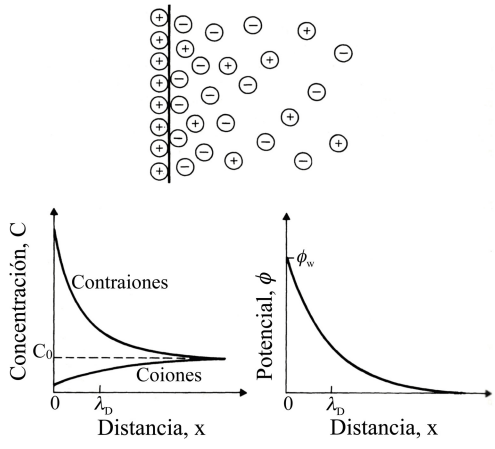


Fig. 5.3
Estructura eléctrica de la doble capa. Véanse la capa de Stern, el plano de cizalladura y la capa difusa. δ es el espesor de la capa de Stern y λ_D es el radio de Debye. El potencial en la interfaz sólido-líquido es el potencial Zeta. Los iones de la capa difusa son móviles.

El orden de magnitud del radio de Debye es de 1 nm. Haciendo las aproximaciones necesarias (v. teoría de Debye-Hückel), se calcula el potencial eléctrico en función de x, a partir de la ecuación de Poisson de la electrostática, con las condiciones de contorno adecuadas. El resultado es el siguiente:

$$\phi(x) = \phi_w \exp(-x/\lambda_D) \qquad (5.4)$$

que da la distribución de potencial (V) con la distancia (x) desde el coloide, siendo w la condición en la pared. La otra condición se refiere a la asíntota x = infinito (v. figura 5.3).

Hasta aquí se han considerado cargas puntuales. Con las cargas eléctricas de las dimensiones reales de los iones, se observan los hechos siguientes. En la figura 5.4, se da la configuración de la doble capa con los diferentes potenciales. La capa interior que está más cerca de la superficie se denomina *plano de Stern de la capa difusa* (v. figura 5.3). Sobre el plano de Stern está el potencial superficial, o potencial ζ o Zeta (terminología de aguas y tecnología papelera) de la capa de sólido en contacto con el fluido en movimiento. Este valor es importante en ciertas operaciones industriales con coloides, como la formación de la hoja de papel a la entrada de la máquina, y en la tecnología del agua. El control del potencial Zeta permite un desgote adecuado de la pasta sobre la tela en la máquina de papel.

El valor de Zeta depende de la fuerza iónica del medio. Si la fuerza iónica aumenta, la superficie queda eléctricamente apantallada y entonces el valor de Zeta disminuye. En realidad, el coloide tiende a flocular cuando el potencial Zeta pasa a ser negativo (posición b de la figura 5.6), por efecto de los contraiones introducidos por el coagulante. Cuando el potencial Zeta es 0 o ligeramente negativo, la superficie deja de repeler las partículas vecinas y, entonces, permite que las fuerzas de atracción de corto alcance (London, Van der Waals) puedan actuar y provoquen la floculación.

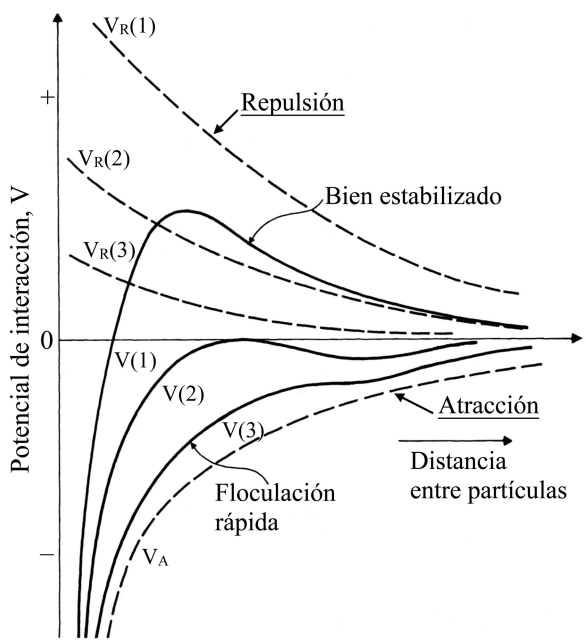


Fig. 5.4
Energía potencial del sistema de partículas e iones. Los V_R (de puntos) son los potenciales de repulsión que estabilizan el coloide. De V(1) a V_A, los potenciales de atracción. Las líneas continuas son la suma neta del sistema

En la figura 5.4, se representa el potencial de interacción de las partículas esféricas; las líneas de puntos señalan los potenciales de repulsión y de atracción en función de la distancia entre partículas. Probstein (2003) hace el cálculo detallado de estos potenciales siguiendo la teoría de DLVO; la diferencia de líneas de trazos de repulsión-atracción

(líneas continuas) señala las zonas de estabilidad y de cuasi-floculación (por ejemplo, obsérvese el pequeño mínimo de la curva V(2) por debajo del eje x). Para este potencial, el sistema empieza a ser inestable y la floculación se produce de forma rápida. La figura 5.4 da, pues, la suma algebraica de los potenciales de repulsión y atracción. En la figura 5.5, se ve cómo el potencial Zeta se hace más negativo al aumentar la concentración de contraiones en el sentido de la flecha. En la figura 5.6, para el caso del tratamiento de coloides de agua potable, se ve cómo el potencial Zeta que ha pasado a ser negativo incrementa hasta 0 al aumentar la dosis de coagulante, pero lo hace de forma diferente, en función de si el agua contiene unos coloides que la estabilizan u otros.

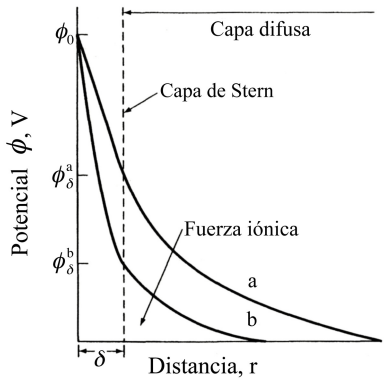


Fig. 5.5
Efecto del incremento de la fuerza iónica I sobre la capa difusa, y valor del potencial Zeta. Y aumenta en el sentido indicado

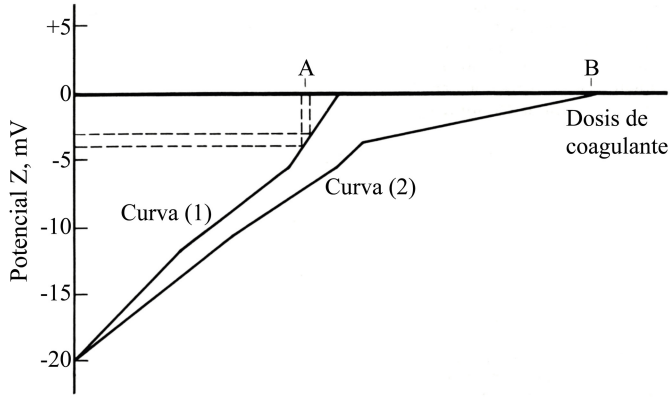


Fig. 5.6
Estudio de la dosis de coagulante midiendo el potencial Zeta con dos tipos de agua. El agua (1) no necesita mucho coagulante (con una dosis A, se alcanzan -3 mV). El agua (2) necesita más coagulante (dosis B) para obtener el mismo potencial Zeta.

Las curvas 1 y 2 de la figura 5.8 representan dos aguas de origen distinto, cuyo potencial se hace negativo por adición de coagulante. En ambos casos, se obtiene un potencial Z de unos -3 mV, empleando distintas dosis de coagulante, lo cual indica que el agua 2 es un coloide más estabilizado que el agua 1.

5.2.2 La concentración de coagulación: regla de Schulze-Hardy

Por experiencia, se sabe que la carga eléctrica de iones suficientes para coagular un coloide depende fuertemente de la carga eléctrica de los iones (contraria a la del coloide). Sin embargo, también se sabe que la estabilidad es independiente de la carga de los coiones y de la concentración de coloide. Estas observaciones se deducen de la teoría de

DLVO y conforman la regla de Schulze-Hardy. Así, como demuestran las curvas de la figura 5.4, la condición de máximo de la curva continua se produce a una distancia inter-partícula igual al radio de Debye, λ_D, y la concentración crítica, a una distancia igual al radio de Debye, cumple la proporcionalidad(v. ec. 5.1):

$$(\lambda_D)_{\text{crit}} \propto \frac{Az^2}{\gamma^2} \tag{5.5}$$

donde A es la constante de Hamaker = 10^{-20} J y γ es el potencial adimensional en la pared, es decir:

$$\gamma = \tanh\left(\frac{zF\phi_w}{4RT}\right) \approx \left(\frac{zF\phi_w}{4RT}\right) \tag{5.6}$$

Y, como λ_D es proporcional a $(c\ z^2)^{-1/2}$ (v. ec. 5.1), eliminando el radio de Debye entre las ecuaciones anteriores se obtiene la expresión siguiente, para la concentración crítica (en mol/m^3):

$$c_{crit} \propto \frac{\gamma^4}{A^2 z^6} \tag{5.7}$$

Obsérvese en esta ecuación la fuerte dependencia de la valencia de los iones a través de z^{-6}. La ecuación 5.7 es muy útil y da la *regla de Schulze-Hardy,* que se expresa como sigue. Ante grandes potenciales, el factor gamma se aproxima a la unidad, de manera que la teoría de DLVO predice que las concentraciones críticas de sales que contengan contraiones con cargas eléctricas que estén en proporción 1: 2: 3, etc., estarán en proporción 1: 2^{-6}: 3^{-6}, es decir, 100: 1,56: 0,137, etc., donde 100 es la molaridad crítica para el ion Na+.

En otras palabras, se necesitarán concentraciones cada vez más pequeñas de sales de Na^+, Ca^{+2} y Al^{+3}, con el fin de coagular espontáneamente un coloide aniónico con una sal que aporte uno de estos contraiones. Hay que entender, sin embargo, que todo depende de la carga del coloide. Así, si éste es aniónico (cargado negativamente), las sales de aluminio, como $AlCl_3$ y $Al_2(SO_4)_3$, tendrán un comportamiento similar con respecto a la coagulación, ya que Al^{+3} es, en ambos casos, el contraión reactivo. Sin embargo, si el coloide es positivo (catiónico), el sulfato de aluminio será treinta veces más efectivo que el cloruro de aluminio, ya que el anión sulfato tiene dos cargas negativas, mientras que el anión cloruro solo tiene una.

Se observa también que las concentraciones de una de estas sales dependen fuertemente del potencial Zeta a bajos potenciales, pero es prácticamente independiente del valor de Zeta cuando se trata de grandes potenciales.

Para un potencial dado, la concentración de coagulante es independiente del tamaño de la partícula del coloide y de su concentración.

La baja temperatura favorece la coagulación, ya que la expresión completa de la concentración crítica (v. ec. 5.7) depende directamente de T. La expresión completa de la proporcionalidad de la ecuación 5.7 viene dada por la ecuación siguiente (Shaw, 1980):

$$c_{crit} = \frac{9{,}85\times10^4\,\varepsilon^3 k^5 T^5 \gamma^4}{N_A e^6 A^2 z^6} \tag{5.8}$$

donde T es la temperatura en K. Los ejemplos siguientes muestran cómo se aplican las reglas anteriores a casos prácticos.

Ejemplo 5.1. Efecto de la temperatura y tipo de ion

En un proceso de floculación de fangos (supóngase bacterias *E. coli)*, en verano trabajamos a 37ºC y en invierno a 4ºC (a causa de la situación del floculador, que está a la intemperie). *a*) Queremos saber cómo cambiará la concentración crítica de coagulante por efecto de la temperatura en invierno y en verano. *b*) Queremos saber también el efecto de la concentración de sal de Al con respecto a Cu, en verano. *c*) El ingeniero de producción sugiere utilizar en verano una sal soluble de Ti^{4+} para ahorrar alúmina, con un coste del Ti por mol tres veces superior al de la alúmina. ¿Saldrá a cuenta hacer el cambio?

a) Utilizamos la ecuación 5.7 explícita en la temperatura T y en z, es decir:

$$c_{crit} \propto \frac{T^5}{z^6}$$

En verano, a diferencia de invierno, tenemos:

$$\frac{c_{crit}(37°C)}{c_{crit}(4°C)} = \left(\frac{37+273}{4+273}\right)^5 = 1,75$$

es decir, en verano utilizamos un 75 % más coagulante que en invierno.

b) El efecto del tipo de ion, Al^{+3} o Cu^{+2}, a T constante será:

$$\frac{\text{dosis sal Al}}{\text{dosis de Cu}} = \left(\frac{4}{3}\right)^{-6} = 0,087$$

En moles, la concentración necesaria de Al es un 8,7 % de la de Cu. El efecto reductor de la temperatura será 1/1,75 = 0,57 (dosificación a 4 ºC frente a 37 ºC). Por tanto, el tipo de ion influye más que la temperatura (z^6 frente a T^5 en la ec. 5.8), como era de esperar.

c) Veamos ahora la influencia de iones Ti^{4+}:

$$\frac{c(37°C, Ti)}{c(37°C, Al)} = \left(\frac{4}{3}\right)^{-6} = 0,17$$

Así pues, necesitamos menos sal de Ti: un 17 % de los moles de alúmina. Pero el coste por mol de sal de Ti es cuatro veces superior, de modo que la relación de costes será:

$$\frac{\text{Coste Ti}}{\text{Coste Al}} = 0,17 \times 4 = 0,68$$

Con esta relación de costes de 4 Ti por 1 Al, sale a cuenta, en principio, efectuar el cambio, pues hay un incentivo económico. La economía final dependerá de la sal, de sus costes por kg y de otros factores.

Ejemplo 5.2. Selección del coagulante

En una suspensión de un residuo de células rotas mecánicamente (que es un coloide aniónico), se utiliza satisfactoriamente el KCl en concentraciones de 0,22 M para clarificar la suspensión. Sin embargo, a causa de las operaciones de adsorción posteriores, se requiere que las concentraciones de sal sean inferiores a 0,01 M. Utiliza la regla de

Schulze-Hardy para calcular la concentración de Al $(NO_3)_3$ como coagulante. ¿Qué concentración de esta sal necesitaremos? ¿Se cumplirá el requisito fijado para la adsorción posterior?

El nitrato de aluminio, de molaridad c en la disolución, se disocia totalmente en agua de la forma siguiente:

$$c\ Al\ (NO_3)_3 \rightarrow c\ Al^{+++} + 3c\ NO_3^-$$

y el KCl en concentraciones de 0,22 M, de la forma siguiente:

$$0{,}22\ KCl \rightarrow 0{,}22\ K^+ + 0{,}22\ Cl^-$$

Así, pues, aplicando la ecuación 5.7 a los dos electrolitos, tenemos que la concentración molar del KCl se puede reducir:

$$\frac{c(KCl)}{c(Al(NO_3)_3)} = \left(\frac{3}{1}\right)^6 = 729 \text{ veces}$$

en 729 veces utilizando $Al(NO_3)_3$ en vez de KCl. En consecuencia, la concentración de aluminio, c, ha de ser:

$$c = \frac{0{,}22}{729} = 3 \times 10^{-4} M$$

Para calcular la concentración total de sales, haremos que las concentraciones de los iones Al y NO_3 sean $[Al^{3+}] = c$ y $[NO_3^-] = 3c$, respectivamente, de donde:

$$\left[Al^{+3}\right] = 3 \times 10^{-4} M$$

$$\left[NO_3^-\right] = 3 \times 3 \times 10^{-4}$$

La concentración total de sales será la suma de las dos especies y, por tanto, valdrá:

$$\text{Suma de iones disueltos} = c + 3c = 0{,}0012\ M < 0{,}01\ M$$

Así pues, podemos hacer la operación con nitrato de aluminio a 3×10^{-4} mol/L sin peligro para la adsorción.

5.3 La coagulación de coloides industriales

En la industria, todo ello se aplica muchísimo en la coagulación de materia en suspensión coloidal, con el fin de decantarla después de flocular, principalmente en la depuración del agua. Si queremos utilizar estos métodos para coagular suspensiones de residuos celulares, trataremos de aplicarlos porque estos métodos están muy bien establecidos. Los reactivos químicos más utilizados son el sulfato de aluminio, el sulfato ferroso y el sulfato férrico. Se utilizan otros, pero solo en pequeñas instalaciones (por ejemplo, aluminato sódico, alúmina amónica, alúmina potásica y CO_2) debido a su coste. Como álcali, se utiliza la propia alcalinidad del agua (si es suficiente), o bien carbonato sódico o cal apagada como reactivo (si no es suficiente). En las suspensiones de células, es habitual que la suspensión esté fuertemente tamponada y se tenga que utilizar cal.

Las reacciones para coagular suspensiones implican la reacción con los álcalis (bicarbonato cálcico o carbonato sódico). Estas son:

Sulfato de aluminio

$$Al_2(SO_4)_3 \cdot 14\ H_2O + 3\ Ca(HCO_3)_2 \rightarrow 2\ Al(OH)_3 \downarrow + 3\ CaSO_4 + 14\ H_2O + 6\ CO_2$$

$$Al_2(SO4)_3 \cdot 14\ H_2O + 3\ Na_2CO_3 + H_2O \rightarrow 2\ Al(OH)_3 \downarrow + 3\ Na_2\ SO_4 + 14\ H_2O + 3\ CO_2$$

Sulfato ferroso

$$FeSO_4 \cdot 7H_2O + Ca(HCO_3)_2 \rightarrow Fe\ (HCO_3)_2 + Ca\ SO_4 + 7\ H_2O$$

$$Fe\ (HCO_3)_2 + 2\ Ca(OH)_2 \rightarrow Fe(OH)_2 \downarrow + 2\ Ca\ CO_3 + H_2O$$

$$Fe(OH)_2 + O_2 + H_2O \rightarrow_2 4\ Fe(OH)_3$$

Sales férricas

$$2\ FeCl_3 + 3\ Ca(HCO_3)_2 \rightarrow 2\ Fe(OH)_3 \downarrow + CaCl_2 + CO_2$$

$$2\ FeCl_3 + 3\ Ca(OH)_2 \rightarrow 2\ Fe(OH)_3 \downarrow + 3\ CaCl_2$$

En la tabla 5.1, se dan las concentraciones habituales en el tratamiento de agua, según si se trata de agua potable o residual. Dichas dosis se pueden tomar como referencia en aplicaciones de biotecnología.

Los coloides acuosos son, en general, aniónicos, pero los hidróxidos precipitados por álcali son catiónicos (positivos). Estos son ahora los que hacen de polielectrolito inorgánico (policloruros básicos de aluminio, v. Degrémont, 1979), neutralizando la carga de los coloides principales. La adición de floculantes orgánicos catiónicos mejora la actuación de los hidróxidos, enlazando partículas coloidales gracias a cadenas poliméricas mucho más largas.

En general, la dosificación óptima depende del pH y de la dosis de alúmina. Experimentalmente, se ha estudiado la optimización de la coagulación en función de dos variables: el pH y la dosis de coagulante, con el fin de encontrar la zona de máxima efectividad, que corresponde a la de mínima turbidez del sobrenadante. La clarificación máxima se obtiene con una combinación apropiada de estas dos variables, pH y dosis. Rigola (1989) señala una dosis óptima de 20 g/m^3 de $Al_2\ (SO_4)_3$ y un pH de 7,8, que hace que la clarificación sea máxima.

La química de la coagulación se basa en cálculos estequiométricos de las anteriores reacciones (v. ejemplo 5.3). Por el contrario, no existe una teoría cuantitativa similar para la floculación que pueda aplicarse. La dosificación de floculante debe determinarse empíricamente, siguiendo los métodos corrientes, como las prueba *Jar Test*, que veremos más adelante.

Ejemplo 5.3.

Una corriente de 50.000 m^3/d que contiene materia en suspensión (60 g/m^3) se trata con 50 g/m^3 de alúmina, $Al_2(SO_4)_3 \cdot 14H_2O$. *a*) Calcúlense los kg de precipitado que se producen cada día, suponiendo que hay alcalinidad suficiente en el agua. *b*) Si el precipitado tiene una densidad de 1.040 kg/m^3, calcúlese el volumen diario de fangos sedimentados, si el decantador tiene un rendimiento del 65 %.

Pesos moleculares:

$Al_2(SO_4)_2 \cdot 14\ H_2O = 599$ g/mol

$Al(OH)_3 = 78$ g/mol

a) La reacción entre la alúmina y la alcalinidad del agua (bicarbonato de Ca) tiene la siguiente estequiometría:

$$Al_2(SO_4)_3 \cdot 14\ H_2O + 3\ Ca(HCO_3)_2 \rightarrow 2\ Al(OH)_3 \downarrow + \text{otras especies solubles o gases}$$

Supondremos que se consume toda la alúmina y que solo precipita $Al(OH)_3$. Así, pues, en 1 m^3 de agua, los moles de hidróxido de Al formados serán iguales a dos veces los moles de alúmina reaccionados. Es decir:

$$\text{moles de alúmina reaccionados} = \frac{50 g/m^3}{599 g/mol} = 8,3 \times 10^{-2}\ mol/m^3$$

$$\text{moles de hidróxido de Al formados} = 2 \times 8,3 \times 10^{-2} = 0,166 mol/m^3$$

b) El peso del $Al(OH)_3$ precipitado será, pues, $0,166 \times 78 = 12,9$ g/m^3, que se añadirán a los 60 g/m^3 de sólidos en suspensión que ya había. En total, pues, 12,9 + 60 = 72,9 g/m^3. Teniendo en cuenta que la eficacia del sedimentador es del 65 %, para una alimentación de 50.000 m^3/d, se producirán una masa y un volumen de sedimento de:

$$\text{Masa} = 50.000\ m^3/d \times 72,9\ g/m^3 \times 0,65 = 2.369\ g/d \approx 2,7\ kg/d$$

$$\text{Volumen fangos} = \frac{2,7}{1040}\ m^3/d$$

que será el volumen de fangos que saldrá del decantador.

5.4 Los floculantes sintéticos industriales

El mecanismo de acción de los floculantes y la base cuantitativa de las operaciones de floculación que se derivan no se han aclarado del todo, pues han evolucionado de forma empírica. Sin embargo, existen muchos datos prácticos de aplicación. Los floculantes orgánicos sintéticos fueron posibles al convertirse la acrilamida monómero en una realidad comercial cuando American Cyanamid desarrolló el proceso a través del acrilonitrilo en los Estados Unidos en los años 1960. El homopolímero de acrilamida es de los pocos polímeros vinílicos solubles en agua, incluso a grados de polimerización muy altos. En nuestro país, la empresa Derypol SA, fundada en 1967, es pionera en la síntesis, el desarrollo técnico, la producción y la aplicación de una línea de polímeros técnicos de poliacrilamida para aguas, la industria papelera y otras aplicaciones, empleando diversas técnicas de polimerización. Como puede verse en la bibliografía (Derypol, 2013), se han desarrollado más de 50 tipos de polielectrolitos industriales en los últimos cincuenta años. Los tipos químicos estructurales de floculantes orgánicos se indican en la tabla 5.2.

Diversos autores han identificado los mecanismos de floculación:

- Compresión de la doble capa eléctrica
- Adsorción de iones, etc.
- Formación de retazos (*patchwork*) de carga eléctrica sobre el coloide
- Enlace entre partículas mediante puentes de cadenas (v. fig. 5.7)

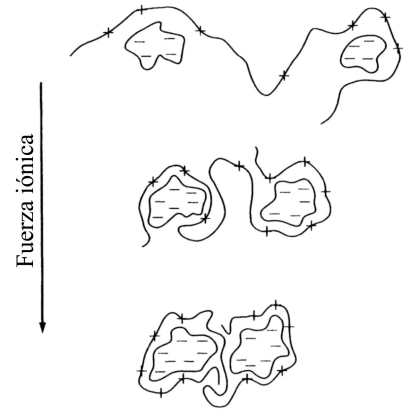


Fig. 5.7
Formación de flóculos con uno polielectrolito catiónico por neutralización de la carga, seguida de la formación de puentes

Algunos de estos mecanismos son comunes a los coagulantes inorgánicos. Pero los dos últimos mecanismos (la formación de retazos y de puentes) son específicos de los polielectrolitos. En la figura 5.7, se ve cómo un polímero catiónico neutraliza una parte de la carga negativa de la partícula y enlaza las partículas con puentes de cadenas. Aquí es interesante explicar un hecho muy importante, publicado en los años setenta relativo a la poliacrilamida (PA), que avala claramente el mecanismo de los puentes. La actividad floculante de la PA se observa que aumenta exponencialmente a partir del peso molecular para el cual el radio de giro de la macromolécula en agua (medido por esparcimiento de luz) se hace igual a la distancia media entre centros de las partículas coloidales de la suspensión. Así pues, es necesario trabajar con polímeros con el peso molecular más alto posible, al menos de $1{,}5\times10^6$. Esto es relativamente fácil con PA obtenidas con iniciadores convencionales, pero es más difícil con los copolímeros catiónicos (v. tabla 5.2), en que el monómero de amonio cuaternario impide el crecimiento de la cadena, la cual tiende a la terminación. Para la PA, la constante de propagación del polímero tiene un valor inusualmente grande, si se compara con otros polímeros vinílicos, como poliestireno, poliacetato de vinilo, polimetacrilato de metilo, policloruro de vinilo, etc.

Para la polimerización vinílica por radicales libres, la longitud cinética de la cadena durante la etapa de propagación vale (Brandrup, *et al*. 1999):

$$\overline{x_n} = \frac{k_p[M]}{2k_t[M^\bullet]} \tag{5.9}$$

en que la relación k_p/k_t es la más alta de los monómeros vinílicos conocidos, para la polimerización en disolución. Esta relación representa la velocidad de propagación de la cadena con respecto a la velocidad de terminación (por combinación) o la de iniciación, que en estado estacionario son iguales. Por tanto, es proporcional al peso molecular medio en número, que es lo que tratamos de maximizar. Estas condiciones se obtienen empleando iniciadores escogidos (iniciadores lentos especiales, baja temperatura de reacción, pares redox especiales, etc.). Por ello, la acrilamida tiende a polimerizar en agua, lo cual da lugar a elevados pesos moleculares.

Sin embargo, como contrapartida, resulta difícil polimerizar acrilamida en disolución acuosa a una concentración relativamente elevada (% de sólidos en el reactor), no más allá del 1 %; en estas condiciones las viscosidades se ven incrementadas también por el

efecto gel propio de la polimerización en disolución, con dificultades de transmisión de calor. Como es de esperar, si x_n es grande, la viscosidad también es muy grande para las conversiones usuales de un proceso comercial. El polímero es el adecuado, pero el proceso de fabricación requiere artilugios sofisticados que eviten que la viscosidad aumente en toda la masa del reactor durante el proceso. Algunas técnicas de polimerización aceptables se basan en la polimerización en emulsión, que de por sí produce partículas de polímero de peso molecular muy elevado, con porcentajes de sólidos del orden del 50%, procedimientos no exentos de otros problemas. Otros métodos incluyen la polimerización precipitante en un medio alcohólico no solvente o en presencia de sales añadidas durante el proceso o después de él.

5.4.1 Los floculantes en biotecnología

Hay diversos estudios de floculación de suspensiones de células, pero no se ha explotado del todo la separación sólido-fluido desde el punto de vista de las operaciones unitarias. Se han realizado estudios de floculación de levadura y de residuos de disrupción mecánica de células, con el fin de liberar proteína intracelular (Wang *et al*., 1979). La figura 5.8 muestra el efecto de un polielectrolito aniónico (el poliestireno sulfonato sódico o PSS) y de arcilla coloidal (en este caso, bentonita), en función de la dosis de floculante. Con bentonita, las dosis necesarias se mueven en torno al 1 % sobre el peso de la levadura seca. Para el floculante aniónico, solo se requiere el 0,1 %. Posiblemente, con un polielectrolito de acrilamida en vez de PSS, se obtendría una buena floculación con dosis aún menores, solo del 0,01 %.

El empleo de floculantes para células vivas plantea algunos problemas. En primer lugar, hay que asegurarse de que el floculante no haga precipitar las proteínas. Sin embargo, la floculación de enzimas en agregados insolubles puede llegar a ser una alternativa a la precipitación, la cual, como se verá en el capítulo siguiente, requiere una gran cantidad de sal. En segundo lugar, la posible incorporación del polielectrolito al bioproducto o a las células debe estudiarse en profundidad en cada caso, aunque las dosis empleadas son realmente muy pequeñas.

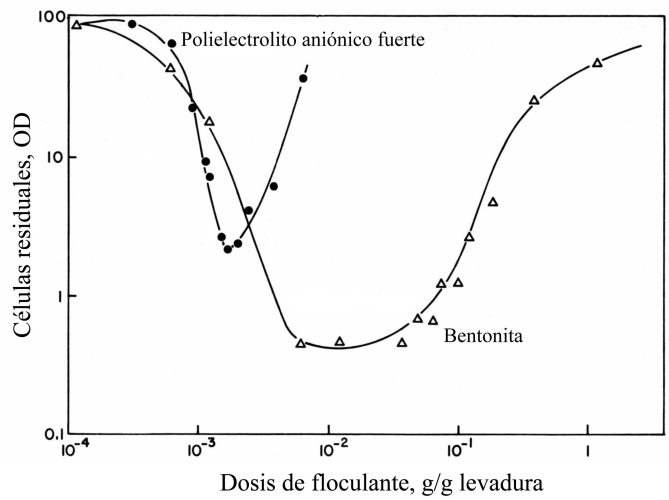


Fig. 5.8
Efecto de dos floculantes en el tratamiento por floculación. La transparencia de la suspensión se mide en función de la densidad óptica (DO) del líquido residual

Los precios del floculante dependen del tipo y de su aplicación, y pueden oscilar entre los 8.000 y los 25.000 €/t. Por tanto, la incidencia de su coste sobre la biomasa es mínimo. La figura 5.8 indica que las dosificaciones son muy pequeñas (véase, en la bibliografía, la literatura técnica de Derypol, SA, con respecto a las aplicaciones para el tratamiento de aguas y de papel). En biotecnología, el precio del bioproducto es tan elevado que el coste añadido del floculante se absorbe perfectamente. Conviene señalar que, en biotecnología, también se utilizan floculantes naturales, como la goma guar y derivados, la carboximetilcelulosa (CMC) y derivados, dextranos y otros polisacáridos, etc. Las arcillas coloidales y la bentonita se utilizan en la clarificación de los *Saccharomyces cerevisiae* durante la fabricación de vinos y cavas, cuando se quiere asegurar el uso de un floculante completamente inocuo.

5.4.2 Floculantes empleados en los bioprocesos industriales

La floculación se emplea a nivel del biorreactor en los procesos de obtención de las penicilinas, el ácido cítrico, el ácido láctico y otros. Para el caso de la penicilina, la primera operación de bioseparación es la eliminación masiva de agua del caldo de fermentación, empleando un filtro rotativo al vacío. El hongo que se emplea en la producción, el *Aspergillus niger,* forma colonias de micelios. Antes de la filtración, se lleva a cabo la coagulación en el biorreactor, mediante la adición de $CaCl_2$ y floculante (polielectrolito), con lo cual la filtración es más rápida. Este mismo hongo se emplea también en la producción del ácido cítrico. El hongo *Aspergillus* es un acidófilo que crece a muy bajo pH. El primer paso para coagular el coloide es añadir $CaCl_2$ y polielectrolito al fermentador, operando a baja temperatura (5ºC). La formación de flóculos consistentes permite una filtración rápida.

5.4.3 La determinación empírica de la dosis de floculante: el *Jar Test*

En la práctica, tanto si se emplea coagulante como floculante, la dosis óptima y el pH se determinan mediante el *Jar Test*.

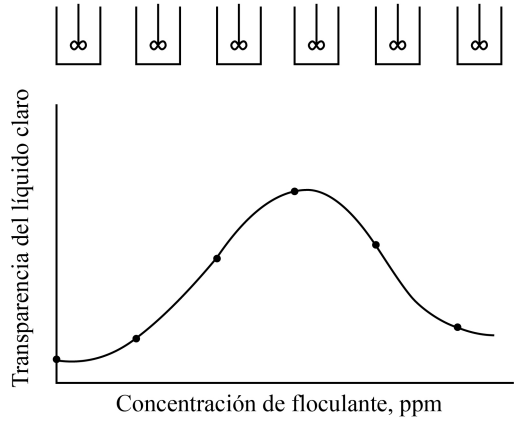


Fig. 5.9
Ensayo de floculantes en el *Jar Test*. Se mide la claridad del agua a lo largo de los tanques agitados que han recibido dosis crecientes de floculante. Las pequeñas dosis producen muy poco efecto y las grandes dosis tampoco sirven. El 4º vaso tiene la dosis óptima

Esta prueba consiste en 4 o 6 jarras (vasos de precipitados anchos de 1 L), que se llenan con la suspensión, en que se introducen diferentes dosis, como se muestra en la figura 5.9. Cada vaso tiene un agitador de dos palas verticales de velocidad variable, entre 0 y

100 rpm. Después de introducir la dosis en el vaso, el contenido se mezcla mediante una agitación rápida, a 60-80 rpm, y a continuación se deja que flocule la suspensión a 30 rpm durante 15 min. Entonces, se retira el agitador y se observan los flóculos formados y, atendiendo a su forma y a cómo sedimentan, se califica la sedimentación de *mala, aceptable, buena* o *excelente.* Si el agua sobrenadante es turbia, indica una mala coagulación. Una muestra buena presenta flóculos bien formados, que sedimentan con rapidez, con agua clara encima y entre los flóculos. La mejor dosis de floculante que da lugar a los fóculos y a la transparencia del agua deseada se toma como valor óptimo. Esta dosis es la que luego se aplica en la planta (v. diseño del floculador en el apartado siguiente). En la figura 5.9, la claridad del agua de cada vaso se ha medido con un colorímetro visible. El primer vaso da una gran turbidez, pero existe un vaso cuyas condiciones son óptimas. Obsérvese que, después del óptimo, la adición de más floculante empeora la separación porque la misma se estabiliza de nuevo.

5.5. Consideraciones finales. Diseño del floculador de planta

Después de la ruptura celular para liberar los bioproductos, es necesario flocular los fragmentos coloidales con el fin de mejorar la separación sólido-líquido (por centrifugación, filtración, decantación, espesamiento, etc.). El fundamento físico-químico es la desestabilización del coloide. La teoría correspondiente lleva a utilizar los coagulantes inorgánicos y a flocular con polielectrolitos sintéticos o naturales. Las dosis de unos y otros son muy diferentes, como también sus precios de mercado. En biotecnología, se utilizan en la coagulación de detritus celulares de ruptura, en suspensiones de levaduras (v. fig. 5.8), especialmente después de la fermentación con micelios para antibióticos, ácido cítrico y otros, para acelerar el procesado posterior.

En cuanto a las instalaciones de floculación, se puede utilizar la información sobre el diseño de los floculadores para aguas (Degrémont, 1979) para aplicarla al problema de biotecnología, si bien en los bioprocesos se tiende a coagular y a flocular en el mismo biorreactor antes de la filtración del caldo. Es importante respetar las limitaciones de tiempos de residencia a la entrada del floculador rápido (agitación intensa, esfuerzos de cizalla elevados, pequeño tiempo de residencia) y en los depósitos posteriores de palas de movimiento suave escalonados en serie (poca cizalladura, elevado tiempo de residencia). El cálculo de la velocidad de los agitadores y de la potencia instalada en cada etapa se realiza a partir de los gradientes de corte estudiados experimentalmente. Cerca del impulsor (donde los esfuerzos de corte son mayores), se estima que el gradiente de cizalla es proporcional a la frecuencia de rotación de la pala, N. El gradiente de velocidad G (en s^{-1}) es proporcional a la frecuencia de rotación. Así:

$$G \equiv \frac{du}{dx} = KN \tag{5.10}$$

donde K es una constante adimensional que vale ~10 (Dickey y Hicks, 1975). El gradiente de velocidad es, pues, unas diez veces la frecuencia de giro del agitador. Nótese que esta relación (ec. 5.10) también es válida para los distintos *spindles* de un viscosímetro tipo Brookfield, empleado para medir la viscosidad a diferentes rpm, o sea, en función del gradiente de velocidad; ello pone de manifiesto la reología del fluido de forma simple, sin emplear un reómetro o un viscosímetro capilar.

En adelante, la secuencia de etapas sigue lo establecido empíricamente en el *Jar Test*. Así pues, en el diseño del floculador (v. fig. 5.10), se deben tener en cuenta tanto los esfuerzos de corte como el tiempo durante el cual operan. En el agitador rápido, los gradientes de velocidad, que sirven solo para repartir el floculante, son grandes, de unos 800 s^{-1}, pero el tiempo de residencia en el tanque rápido es muy pequeño, de unos 40 s como máximo. En las unidades posteriores del floculador, se favorece el crecimiento de los flóculos, vigilando la cizalla que resisten los flóculos ya formados. Estos no deben someterse a esfuerzos superiores a los 30-40 s^{-1} , ni tiempos de residencia grandes (2.500 s). Con estos datos y con la información de los manuales, se puede diseñar un prototipo de floculador y hacerlo funcionar, respetando como criterios de cambio de escala los tiempos de residencia medios y los valores de G en cada sección del recipiente, con los mismos tipos de impulsores del modelo. Para los floculadores, se utilizan, en general, palas planas lentas.

La figura 5.10 (v. también fig. 5.1) muestra un floculador con un depósito rápido en la cabecera, seguido de tres recipientes en serie de baja velocidad, que han de permitir una floculación correcta. El diseño de la figura es para el tratamiento de aguas (v. el tanque de adición del reactivo, el tipo de impulsores y el aparato integrado del floculador, con el agitador rápido al frente, y la serie de tres recipientes en serie a baja velocidad).

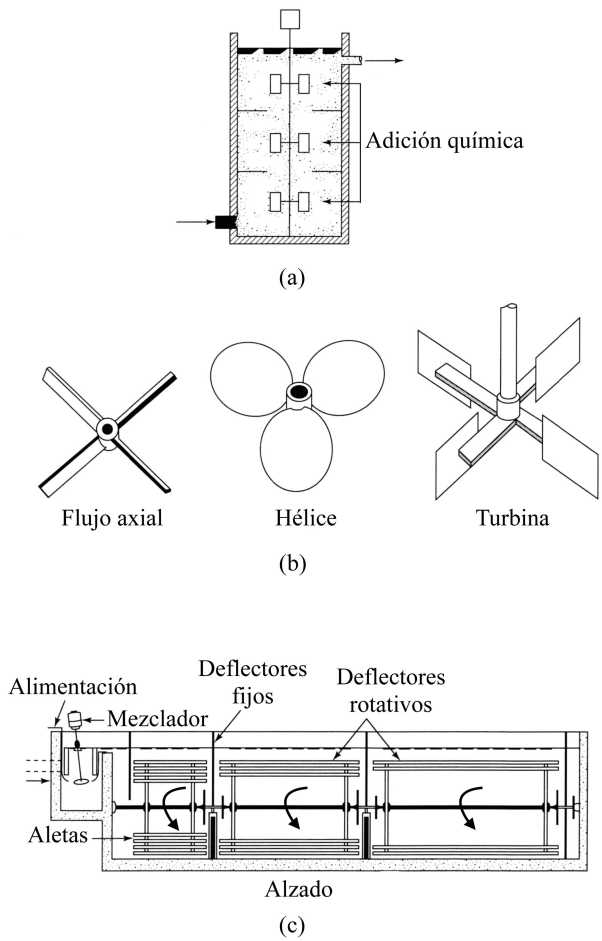


Fig. 5.10
Aspecto de los agitadores rápidos (a) y (b) y del floculador horizontal (c), con tres tanques que operan en serie, con agitadores coaxiales de tipo turbina

5.6 Notación

[M]	Conc. monomer, en mol/L, [M·] = conc. radicales en crecimiento
A	Constante de Hamaker, 10^{-20} J
c	Concentración, en mol/m^3
c_{crit}	Conc. crítica de floculación
e	Carga del electrón, C
F	Faraday, 96.500 C/mol
G	Gradiente de velocidad, ec. 5.9, s^{-1}
I	Fuerza iónica, definición ec. 5.3, en mol/m^3
k	Constante de Boltzmann, 1,3807×10 J/K^{23}
K	Factor de proporcionalidad, ~10, ec. 5.9
k_p	Constante de propagación, polimerización vinílica, en L/(mol·s)
k_t	Constante de terminación, polimerización vinílica, en L/(mol·s)
N	Frecuencia de rotación del agitador, en Hz
N_A	Número de Avogadro, 2,03×10^{23} mol^{-1}
R	Constante del gas ideal, 8,314 J/mol K
T	Temperatura, en K
x	Distancia, en m
x_n	Número medio de unidades repetidas, ec. 5.8
z	Carga del ion (+ o -)
ε	Constante dieléctrica del fluido, en C^2/m·J
ϕ	Potencial electrostático, en V
γ	Potencial en la pared, adimensional, ec. 5.6
λ_D	Radio de Debye, m
ζ	Potencial Zeta, mV

Precipitación

La precipitación es un método simple y económico para concentrar bioproductos tales como enzimas, antibióticos, vacunas, biopolímeros, anticuerpos, etc. Consideraremos que el bioproducto está disuelto libremente en el medio después de su secreción fuera de la célula. La precipitación se basa en provocar su insolubilización. El estado del precipitado es amorfo, debido a la rapidez con que se provoca el cambio de estado del soluto. Los agregados producidos contienen cantidades importantes de sales, residuos ocluidos y agua. Comparada con la cristalización, que produce sólidos con una pureza del 100 %, la precipitación da un producto bastante impuro, no solo por los residuos, sino también por otras proteínas contaminantes. En este caso, las proteínas coprecipitadas se tienen que fraccionar, lo cual introduce un proceso adicional.

La cristalización es también un proceso económico para purificar bioproductos formando cristales de gran pureza, pero difiere sensiblemente de la precipitación. Se estudiará en el capítulo 11.

El grado de concentración del bioproducto en el precipitado es muy superior al de la disolución inicial. Esta, al precipitar, puede contener hasta un 5 % en peso de soluto, comparable, pues, a la entrada en la cromatografía de elución, que es mayor que la alimentación a un extractor o a una columna de adsorción. El precipitado se separa por filtración, centrifugación o decantación. La precipitación se realiza por los métodos siguientes:

- Adición de sales
- Adición de no solvente miscible en agua
- Calor
- Adición de polímeros solubles en agua

Hay que vigilar la desnaturalización durante la precipitación porque, si se produce, puede obligar a la renaturalización, que es un proceso adicional complejo.

En este capítulo, se estudia primero la solubilidad de las proteínas y su precipitación, y después el diseño de los sistemas de precipitación y su realización en continuo en recipientes en serie, en condiciones de agitación y de caudal controlados.

6.1 La solubilidad de las proteínas

La constitución de las proteínas y de los ácidos nucleicos a nivel químico y cristalográfico se puede consultar en los textos de Pauling (1970), Bailey y Ollis (1986) y similares. Lo que explicamos a continuación se puede consultar en Blanch y Clark (1997), en relación con la biotecnología, y hace referencia a las proteínas en un medio acuoso.

Las unidades constituyentes de las proteínas son los aminoácidos, pequeñas moléculas orgánicas con un extremo que contiene un grupo amina y el otro, ácido carboxílico. La secuencia de aminoácidos concreta de una proteína constituye su estructura primaria. La estructura secundaria es la que resulta de la interacción interna de sus aminoácidos por puentes de hidrógeno y da lugar a hojas beta, hélices alfa, etc. (v. fig. 6.1, izqda.). La estructura terciaria es la que resulta de la interacción entre hélices y hojas plegadas, y la estructura cuaternaria es la que adoptan en una solución acuosa, agrupando a veces más de una cadena de aminoácidos (p. ej., la insulina).

Así pues, las proteínas son macromoléculas con enlaces peptídicos (poliamida) entre los aminoácidos constituyentes, que en una disolución acuosa se comportan como partículas o macroiones, con una conformación hidratada compacta, más rígida que los polielectrolitos sintéticos orgánicos, que son simples ovillos estadísticos más o menos estirados y sometidos a movimiento browniano. El carácter iónico viene dado por aquellos amino-ácidos que tienen cadena lateral con grupos ionizables, y los grupos carboxílico y amino terminales. En la figura 6.1, se representa el aspecto de las proteínas como partículas en disolución acuosa. Se ven proteínas fibrosas y globulares, y se ilustra el fenómeno de la desnaturalización. Es importante señalar que las cadenas de proteína están fuertemente solvatadas formando capas de hidratación sobre su superficie, de forma parecida a una cadena de polímero sintético, que tiene una solvatación considerable y que explica su solubilidad, pese a su elevado peso molecular. La solvatación es responsable, pues, de la solubilidad y de la precipitación de una proteína.

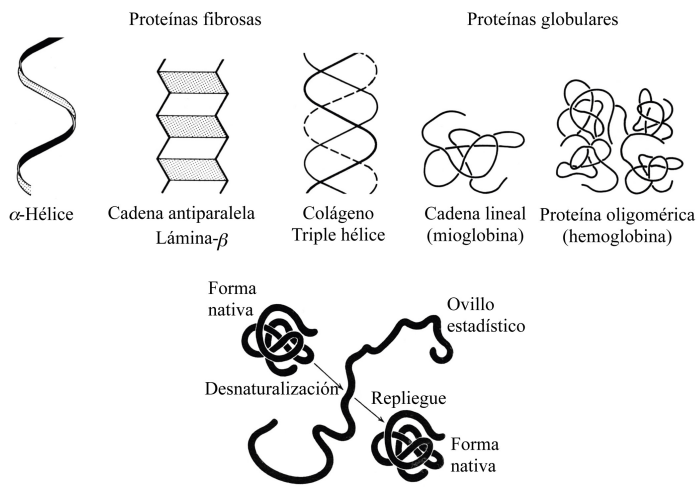


Fig. 6.1
Arriba, los dos tipos básicos de proteínas: fibrosas y globulares. Abajo, la forma nativa de una proteína sometida a desnaturalización y posterior renaturalización por repliegue.
Fuente: Bailey-Ollis (1986)

Los factores más importantes que afectan la solubilidad de una proteína son la estructura y el tamaño de la molécula, su carga eléctrica efectiva y el disolvente, como veremos enseguida.

6.1.1 Estructura y tamaño

En estado natural, las proteínas en un entorno acuoso adoptan una conformación que minimiza el contacto de los aminoácidos hidrofóbicos con las moléculas de agua. Las fuerzas que dan estas conformaciones son los enlaces de hidrógeno, las fuerzas de van der Waals, las interacciones moleculares hidrofóbicas y los dipolos. En principio, estas fuerzas empujan los grupos hidrofóbicos hacia el interior de la molécula y los grupos polares cargados eléctricamente hacia afuera. De las muchas proteínas estudiadas, se sabe que la mayoría tienen un 95 % de grupos iónicos accesibles. Estos estudios demuestran que los grupos accesibles al agua son grupos apolares en un 60 % de los casos, son polares en un 25 % y son cargados en un 15 %. Así pues, buena parte de los grupos apolares están en la superficie de la molécula.

Como ya hemos dicho, hay varias capas de hidratación o de solvatación en torno a las cadenas, de manera que la primera capa de agua establece puentes de hidrógeno con los átomos de H hacia la superficie y los átomos de oxígeno hacia afuera, es decir, hacia una segunda capa de moléculas de agua. Estas dos capas son las que confieren solubilidad a la proteína, manteniendo una distancia entre las superficies de dos moléculas vecinas.

El *tamaño de la proteína* es importante en su solubilidad en presencia de un polímero no iónico soluble en agua, del tipo polietilenglicol (PEG), por ejemplo. El tratamiento con un polímero como PEG es habitual para precipitar la proteína. En este caso, se puede predecir el volumen excluido de la proteína del volumen ocupado por el polímero debido a su tamaño y forma. Cuantitativamente, se ha propuesto para la proteína un modelo geométrico de esfera y varilla, con el fin de encontrar una ecuación simple de solubilidad. El modelo de esfera y varilla conduce a la ecuación siguiente, que da la solubilidad de la proteína en función de la concentración del polímero:

$$1nC_s = \beta - KC_p \tag{6.1}$$

donde el parámetro K, según este modelo, vale:

$$K = \frac{\overline{V}}{2,303}\left(\frac{r_s + r_r}{r_r}\right)^3 \tag{6.2}$$

en que r_s y r_r, son los radios del soluto y de la varilla de polímero, respectivamente; C_p es la concentración de polímero; C_s es la solubilidad de la proteína; $\overline{V}$ es el volumen molar parcial del polímero, y β es una constante. Según este modelo, la solubilidad más pequeña de la proteína en presencia del polímero PEG se produce cuando la proteína es grande (gran valor de K). Recientemente, han aparecido modelos termodinámicos que predicen un mínimo en la solubilidad en presencia de polímeros (Herhut *et al*., 2016), que permiten una modelización más exacta durante el proceso de precipitación.

El tamaño de la proteína es también un factor determinante en el proceso de *precipitación (o fusión) de afinidad* frente a un anticuerpo específico. Cuando se añaden anticuerpos frente a una biomolécula específica (antígeno), la interacción antígeno-anticuerpo puede formar grandes complejos moleculares insolubles. El tamaño molecular de los aglomerados del complejo es máximo cuando la estequiometría es la correcta, lo cual provoca la precipitación selectiva del antígeno. Se obtiene un máximo de complejo precipitado cuando se cumple la estequiometría exacta entre el anticuerpo y el antígeno. Si no es así, se forman pequeños complejos bimoleculares, al excluir la proteína sobrante y precipitar solamente los que se ajusten a la estequiometría.

6.1.2 Carga eléctrica de la proteína en disolución

La carga neta de la proteína tiene relación directa con su solubilidad en un medio acuoso. La solubilidad aumenta al incrementar la carga eléctrica neta, como resultado de una mayor interacción con las moléculas de agua. En la figura 6.2, se ilustra la variación de la solubilidad de la insulina en un medio salino (0,1 M NaCl) en función del pH. La solubilidad tiene un mínimo en el pH isoeléctrico o punto isoeléctrico de la proteína (en el cual la carga neta es igual a 0). El punto isoeléctrico de una proteína viene determinado por:

- el número total de grupos ionizables
- su accesibilidad a las moléculas de solvente
- el pH del medio

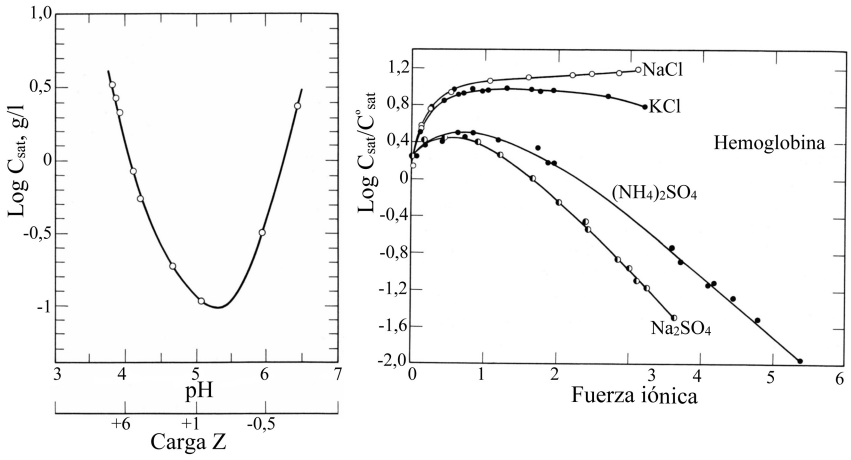


Fig. 6.2
A la izquierda, mínimo de solubilidad de la insulina en ClNa 0,1 M en función del pH. A la derecha, solubilidad de la hemoglobina en presencia de diversas sales (cambio de solubilidad por efecto salino). Fuente: Tanford (1961)

Los factores que determinan el pKa son la naturaleza química de los grupos vecinos por efecto inductivo, la temperatura, la constante dieléctrica del solvente y la fuerza iónica I, definida en el capítulo anterior (v. ec. 5.3) como suma de los iones presentes en la solución. La solubilidad frente a la fuerza iónica (fig. 6.2 dcha.) indica un aumento respecto a su valor en agua pura porque una pequeña concentración de sal ayuda a solubilizar la proteína (*salting-in*). Al ir añadiendo más sal, la solubilidad va aumentando hasta un máximo. La adición posterior de sal da lugar a la franca precipitación de la proteína por efecto salino (*salting-out*). Tanford (1961) da una explicación termodinámica rigurosa de este hecho.

6.1.3 Efecto de los solventes no solventes en el medio

El disolvente añadido afecta las características del medio porque modifica la hidrofobicidad de este y la fuerza iónica. Ambos factores inciden en la solubilidad. El solvente afecta de manera parecida a como un polímero sintético disminuye su solubilidad. Por ejemplo, las proteínas preciptan con alcoholes primarios. En este caso, además, causan su desnaturalización, en el orden siguiente:

metanol < etanol < propanol < butanol (el que més desnaturalitza)

De ahí se deduce que los alcoholes pesados (de cadena hidrocarbonada más larga) se combinan más efectivamente con los grupos apolares de la proteína, debilitando las interacciones hidrofóbicas internas, lo cual provoca su desnaturalización. Además, a baja temperatura, los alcoholes ligeros (metanol) compiten con el agua con respecto a la solvatación del polímero, de forma que la desplazan. Sin las moléculas de agua protectoras, y por efecto de la deshidratación, se acercan y propician contactos y la formación de agregados deshidratados, que precipitan.

6.1.4 Precipitación por efecto salino

Es el método más utilizado para obtener proteínas por fraccionamiento. Tiene la ventaja de que la adición de sal causa poca desnaturalización. El efecto salino consiste en añadir una sal. En las figuras 6.2 (izqda.) y 6.3, se ilustra lo que ocurre. Incluso en el punto isoeléctrico (pI), la proteína tiene una ligera carga eléctrica. Los grupos cargados negativamente son -COO- y los positivos son -NH_3+. Estas cargas totales se combinan con las de la sal; así, se supone que hay un producto de solubilidad del tipo:

$$K = [proteïna][NH_4^+]^n[SO_4^=]^m \qquad (6.3)$$

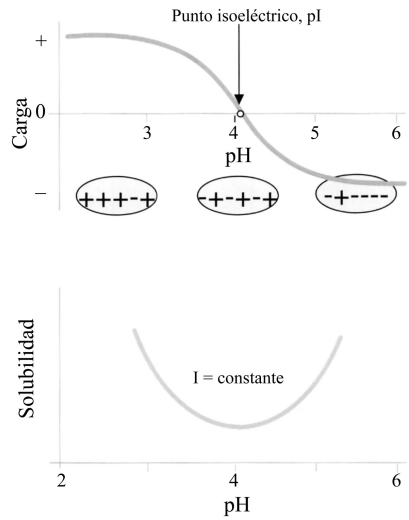


Fig. 6.3
Punto isoeléctrico de una proteína. Fuente: Wesselingh-Krijgsman (2013)

Como n y m son números enteros grandes (2, 3, 4...), la adición de sal provoca, en general, un efecto importante en la solubilidad de la proteína, como hemos visto en el apartado 6.1.2. Además, las regiones hidrofóbicas entre moléculas se pueden asociar estabilizando el precipitado. En el caso de las sales, el orden de efectividad en la precipitación es el siguiente:

Por los aniones, de mayor a menor efectividad:

$$\text{Citrato} > PO_4^{3-} > SO_4^{=} > CH_3\text{-}COO^- > Cl^- > NO_3^-$$

Por los cationes:

$$NH_4^+ > K^+ > Na^+$$

Algunas consecuencias prácticas para el proceso industrial son las siguientes: 1) Comprar la sal más económica, ya que se gastará mucha. 2) Escoger una sal que dé una densidad del precipitado lo más distinta posible de la de la disolución, a fin de que sedimente

rápidamente. 3) Añadir la sal sin diluir, a fin de minimizar el agua total presente. 4) En la ecuación de solubilidad (v. ec. 6.1), el valor de β varía con la temperatura y el pH, pero el valor de K es independiente de T y pH. Teniendo en cuenta todos los factores, la sal preferida en la práctica es el sulfato amónico.

6.1.5 Más sobre el efecto de las sales: la ecuación de Cohn

La precipitación se produce con gran concentración de sal. Por tanto, si bien ya hemos visto que se produce un pequeño efecto de disolución por la sal inicial, el efecto salino final predomina y está descrito empíricamente por la denominada *ecuación de Cohn*, que tiene la forma siguiente:

$$\ln S = \beta - K'I \tag{6.4}$$

donde S es la solubilidad de la proteína a la temperatura T y I representa la fuerza iónica, definida como:

$$I = (1/2)\sum c_i z_i^2 \tag{6.5}$$

en que c_i son las concentraciones de los iones y z_i es la carga de cada ion (+ o -); K' es una constante de la proteína y β representa la solubilidad de la proteína en agua pura, o sea, para I = 0, que depende de la temperatura, pH, y se hace mínima en el punto isoeléctrico. Es curioso observar que la ecuación de Cohn tiene una forma similar a la de la precipitación con el polímero PEG (v. ec. 6.1). Los efectos salinos se pueden observar en la figura 6.2, ya comentada para el caso de la hemoglobina, que se puede escribir así:

$$\ln S = \ln S_0 - K_S'' C \tag{6.6}$$

Ejemplo 6.1. Precipitación con sulfato amónico

Se han obtenido datos de precipitación de una proteína con sulfato amónico. La concentración inicial de proteína es de 15 g/L. A concentraciones de sulfato amónico de 0,5 y 1,0 M, la concentración de proteína residual en la solución en equilibrio es de 13,5 y 5,0 g/L, respectivamente. A partir de esta información, calcúlense los parámetros de la ecuación de Cohn. Calcúlese también la concentración de sulfato amónico para precipitar un 90 % de esta proteína.

Suponemos válida la ecuación 6.6, que es una recta. Como tenemos dos puntos de la misma, podemos determinar sus dos parámetros. Así pues:

C_{as}, en mol/L	C*, en g/L	ln C*= ln S
0,5	13,5	2,60
1,0	5,0	1,60

de donde la ecuación de solubilidad será ln C*= β - K'C_{as}. Planteemos ahora el sistema de ecuaciones siguiente, con el fin de calcular β y K':

$$2,60 = \beta - K' \times 0,5$$
$$1,60 = \beta - K' \times 1$$

de donde, resolviendo, obtenemos K' = 2,0 y β = 3,60

Para una recuperación del 90 %, la proteína residual en solución valdrá C* = 1,5 g/L. Así pues, la concentración de sal necesaria, C_{as}, debe cumplir:

$$\ln 1,5 = 3,60 - 2C_{as}$$

es decir, C_{sa} = 1,6 mol/L.

6.1.6 Precipitación por calor

Al calentar la solución de una proteína, provocamos su desnaturalización selectiva y, entonces, la proteína precipita. Es una operación arriesgada, porque la desnaturalización provoca la pérdida de algunas propiedades (p. ej., su actividad enzimática). Sin embargo, cuando la precipitación por sal falla, recurrimos a la desnaturalización. El proceso de desnaturalización está controlado por la cinética, y no por la solubilidad, que es un proceso termoquímico. La redisolución de una proteína parcialmente desnaturalizada es una operación compleja, que complica las demás operaciones. Así pues, la mayoría de las proteínas intracelulares obtenidas por precipitación, en organismos modificados genéticamente, están parcialmente desnaturalizadas.

La cinética de desnaturalización viene dada por una reacción de primer orden con respecto a su concentración:

$$-\frac{dCp}{dt} = k'Cp \tag{6.7}$$

donde la constante cinética en función de T viene dada por la ecuación de Arrhenius:

$$k' = k'_0 \exp(-\frac{E}{RT}) \tag{6.8}$$

en que k'_0 es el factor pre-exponencial y E es la energía de activación (que es siempre positiva), R = 8,314 J/mol K. En la práctica, la energía de activación varía bastante, de E = 200 kJ/mol a 450 kJ/mol.

Integrando la ecuación cinética, obtenemos, a T = cte.:

$$Cp = Cp_0 \exp(-k't) \tag{6.9}$$

Esta ecuación, aplicada a dos proteínas diferentes, permite calcular la proporción de cada proteína en el precipitado cuando se provoca la desnaturalización a T constante. La precipitación de la proteína de mayor energía de activación se favorece a alta temperatura. Para dos proteínas con energías de activación diferentes (p. ej., 350 y 415 kJ/mol), se puede obtener una buena separación a baja temperatura, como se muestra en el ejemplo siguiente.

Ejemplo 6.2. Fraccionamiento de una deshidrogenasa

Tenemos una disolución que contiene igual concentración de dos deshidrogenasas, A y B. En un intento de separarlas, calcúlense las concentraciones de cada una de ellas después de un tratamiento de 10 min a 20ºC y después de un tratamiento de 10 min a 50ºC. Los coeficientes de velocidad de precipitación de las proteínas valen:

$$k'_A = 5,0\times10^{57} \exp(-380.000/RT)$$
$$k'_B = 4,2\times10^{64} \exp(-415.000/RT)$$

en que los factores preexponenciales vienen dados en s^{-1}, y T en K.

Dando valores a T, las constantes cinéticas a 20ºC (293K) y a 50ºC (323K) son las siguientes:

Constantes cinéticas, en s^{-1}	A 20ºC	A 50ºC
k'_A	$8{,}3 \times 10^{-11}$	$1{,}6 \times 10^{-4}$
k'_B	$4{,}0 \times 10^{-10}$	$3{,}0 \times 10^{-3}$

Los valores de las actividades enzimáticas al cabo de 10 min (600 s) a cada temperatura se pueden calcular aplicando la ecuación 6.9 a las dos proteínas, A y B:

$$\frac{C}{C_0} = \exp(-600k')$$

dando valores, se obtiene:

	A 20ºC	A 50ºC
C_A/C_{A0}	> 0,999	0,91
C_B/C_{B0}	> 0,999	0,17

Es decir, a 20ºC, las dos proteínas quedan en solución y no hay fraccionamiento. Este cálculo indica que a 50ºC, podemos purificar la proteína A por precipitación de B. La ecuación 6.9 indica que, a alta temperatura, precipitará primero la proteína de mayor energía de activación, que en este caso es la proteína B.

6.2 Cinética de precipitación de proteínas en un tanque agitado

Primero, comentaremos la cinética de precipitación de proteínas en un sistema por cargas. Después, lo aplicaremos al diseño de un reactor continuo. En la figura 6.4, se representa la precipitación de α_3–caseína, con $CaCl_2$, para diferentes concentraciones de proteína. El peso molecular, PM, representa el número de unidades de proteína precipitada. Se observa que, a tiempos pequeños, se produce un crecimiento del PM del precipitado que no es lineal con t ni con la concentración de proteína. A tiempos mayores, el PM del precipitado aumenta linealmente con el tiempo y, por tanto, aumenta a velocidad constante con t. Este comportamiento inicial es propio de los sistemas con nucleación, en que nuclean primero las partículas hasta una concentración de núcleos fijada, y después las partículas así generadas van creciendo. Muchas proteínas precipitan siguiendo este patrón cinético, que consta de las siguientes etapas en serie:

- Mezcla rápida de la sal precipitante o coagulante
- Nucleación propiamente dicha
- Floculación browniana (denominada *ley de Smoluchowski I*)
- Floculación gobernada por esfuerzos de corte (denominada *ley de Smoluchowski II*)
- Redispersión del precipitado

Supongamos que tenemos una solución sobresaturada de proteína en un tanque agitado. Los remolinos del movimiento turbulento son los que determinan la dispersión del coagulante y la precipitación. Veámoslo.

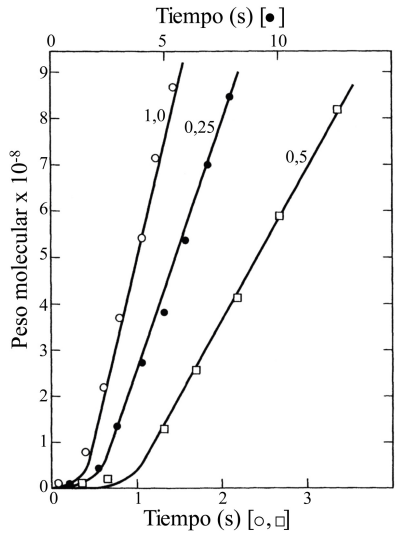


Fig. 6.4
Evolución del peso molecular del precipitado de caseína, según la concentración inicial de proteína. Se observa la nucleación a tiempo corto.
Fuente: Bello *et al.* (1983)

6.2.1 Mezcla rápida

Interesa en que la proteína coagule en partículas discretas; por tanto, tenemos que distribuir bien el precipitante (la sal o el no solvente) de la manera más rápida posible (obsérvese el agitador rápido a la entrada del floculador horizontal descrito en el capítulo anterior (v. fig. 5.9). Calculemos ahora el tiempo de micromezcla necesario en condiciones turbulentas, con un número de Reynolds del agitador mayor que 10.000, de modo que el tiempo de mezcla sea mínimo.

Podemos calcular el tiempo de la micromezcla utilizando diversas teorías:

- Turbulencia isotrópica de Kolmogorov, con los remolinos equivalentes a esferas de Einstein
- A partir de una correlación del tiempo de la micromezcla
- A partir del número de potencia del agitador

Turbulencia isotrópica. El tiempo de la micromezcla viene dado por t_k, que se calcula como:

$$t_k = \frac{L_e^2}{8D_{12}} \tag{6.10}$$

$$L_e = \left(\frac{\rho\nu^3}{\sigma}\right)^{1/4} \tag{6.11}$$

donde ν es la viscosidad dinámica, $\nu = \mu/\rho$, $\sigma = P/V$ = disipación específica de energía por unidad de volumen, y L_e es el tamaño del remolino según la teoría de Kolmogorov. Para calcular el tiempo, necesitamos la difusividad molecular, D_{12}, del reactivo en agua.

Correlaciones. Chemineer da el tiempo de micromezcla adimensional en función de Re, en recipientes normalizados con 4 bafles y turbina axial. Para Re grandes, se obtiene:

$$Nt_{micro} = (D/T)^{2,3} = 6 \qquad \mathrm{Re} > 10^4 \tag{6.12}$$

Correlación de Ekato. (Himmelsbach *et al.*) basada en el número de potencia, N_p.

$$Nt_{micro} = 6,7\left(\frac{D}{T}\right)^{-5/3} N_p^{-1/3} \tag{6.13}$$

La última correlación tiene la ventaja de que utiliza el número de potencia, publicado para muchos tipos de impulsores y tanques, en función del número de Reynolds. La correlación (6.13) es para turbinas de flujo axial.

Intensidad de agitación y cambio de escala. Para diseñar un sistema de agitación rápido, utilizamos, además, las reglas empíricas siguientes: (1) Calculamos la *frecuencia de rotación*, N, para una velocidad del extremo de la pala de 5 m/s, por ejemplo (v. tabla 6.1); así pues:

$$u_p = 5 = \pi ND \tag{6.14}$$

donde N es la frecuencia de rotación, s^{-1} y D en m. (2) Empleamos un tanque cilíndrico con fondo toriesférico, provisto de cuatro bafles. (3) Utilizamos una turbina de palas planas verticales. La tabla 6.1 nos da una velocidad lineal del extremo de la pala (palas verticales o inclinadas) para decidir cuál ha de ser la frecuencia de giro que se tiene que escoger inicialmente.

Tabla 6.1 Agitación mecánica: velocidad lineal del extremo de la pala

Propósito de la agitación	**Velocidad lineal, u_p (en m/s), palas planas verticales o inclinadas***
Mezcla y transmisión de calor normales	de 2,7 a 4
Transmisión de calor critico	de 4 a 5,5
Esfuerzo de corte grande, dispersiones G/L y L/L	de 5,5 a 6,7

*Utilizar un factor de 1,5 para palas curvadas. Hacer $u_p = \pi ND$ y calcular N.

Cuando sea necesario extrapolar un agitador para aparatos mayores, en que la frecuencia N sea aceptable, utilizaremos una regla de extrapolación del tipo P/V = constante. Sin embargo, cabe tener en cuenta que, al haber modificado la velocidad del extremo de la pala, puede que no se cumplan los valores de la tabla 6.1. Recuérdese que, según Kolmogorov, el tamaño del remolino depende del consumo unitario de potencia, P/V; por tanto, este criterio es prioritario frente a la velocidad del extremo de la pala.

Ejemplo 6.3. Estimación con correlaciones del tiempo de micromezcla

Queremos precipitar α_2–macroglobulina disuelta en un volumen de líquido de 100 L. Supongamos que el tanque tiene un fondo plano y que la altura del líquido en reposo sobre el fondo es igual al diámetro interior del tanque. Calcúlese el tiempo de micromezcla utilizando un agitador de turbina de palas planas verticales (tipo Rushton), o una turbina axial utilizando la correlación de Ekato. La frecuencia de rotación, N, del agitador será tal que la velocidad periférica de la pala será de 5,08 m/s. La viscosidad absoluta es de 5 mPa·s y la densidad de la solución vale 1.000 kg/m^3.

Primero, determinaremos las dimensiones del tanque. Así, para un cilindro de diámetro T y una altura de líquido también T sobre el fondo, el volumen de líquido valdrá 1 m^3:

$$V = \frac{\pi T^2}{4} T = 1m^3$$

de donde T = 1,08 m y, tomando un diámetro de impulsor de 1/3 del diámetro del tanque, D = 1,08/3 = 0,36 m. Ahora imponemos que la velocidad periférica del impulsor sea 5,08 m/s, de manera que la frecuencia de giro del agitador será 5,08 = πND. Así pues, N = 4,49 s^{-1}. En estas condiciones, el número de Reynolds del impulsor valdrá:

$$\mathrm{Re} = \frac{ND^2\rho}{\mu} = \frac{4,49 \times 0,36^2 \times 1000}{5 \times 10^{-3}} = 116 \times 10^3 > 10^4$$

que es turbulento, condición necesaria para considerar un N_p constante. Escogiendo un impulsor de palas planas y verticales, el gráfico de N_p da, para una turbina Rushton, N_p = 5 y, para una turbina de flujo axial, N_p = 1. Por tanto, aplicando la correlación de Ekato, podemos calcular los tiempos de la micromezcla como para los dos impulsores:

$$t_{micro} = \frac{6,7}{N}\left(\frac{D}{T}\right)^{-1,66} Np^{-0,33} = \frac{6,7}{4,49}(0,333)^{-0,33}\, 5^{-0,33} = 5,51s(Rushton)$$

$$t_{micro} = \frac{6,7}{4,49}(0,333)^{-1,66}\, 1^{-0,33} = 10,1s(turbina\ axial)$$

Se observa que la turbina de palas verticales da un tiempo de mezcla menor que la turbina axial a costa de un mayor consumo de potencia, como se puede verificar fácilmente.

6.2.2 Nucleación

Se forman núcleos de precipitación cuando la solución de proteína está sobresaturada, es decir, presenta una concentración ligeramente por encima del valor de solubilidad (esta diferencia se conoce como el *grado de sobresaturación*). La velocidad de formación de núcleos de precipitación aumenta exponencialmente hasta el denominado *límite de sobresaturación*. Nótese que la velocidad de nucleación aumenta mucho en el límite de sobresaturación. En la práctica, la sobresaturación no se puede forzar mucho, ya que se produce un precipitado de proteína geliforme, muy solvatada, que resulta ser un coloide intratable. Para producir partículas finas de precipitado, no se debe tener una gran sobresaturación.

Según Levenspiel (1996), la nucleación de partículas en flujo bien mezclado se produce según dos procesos en serie. El primero se denomina *coagulación* y el segundo, *coalescencia*. La velocidad de coagulación es de segundo orden con respecto a L, es decir:

$$\frac{dL}{dt} \propto \frac{1}{L^2} \qquad (6.15)$$

donde L es el radio de las partículas (supuestas esféricas). La velocidad de coalescencia es de primer orden con respecto a L, es decir:

$$\frac{dL}{dt} \propto L \qquad (6.16)$$

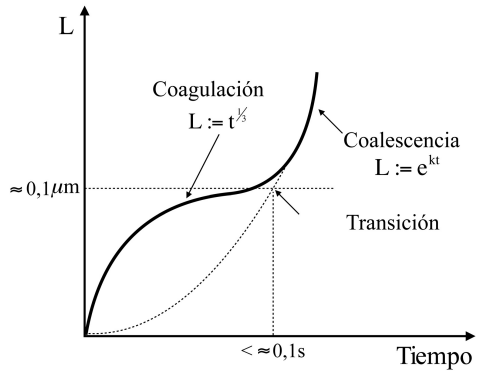


Fig. 6.5
Radio L del precipitado formado por nucleación desde la fase gaseosa: coagulación seguida de coalescencia. El cambio de régimen tiene lugar a un tiempo de 0,1 s y un radio de 0,1 μm. Fuente: Levenspiel (1996)

Así pues, la forma de la curva de nucleación con respecto al tiempo sería la de la figura 6.5, para el crecimiento de las partículas desde la fase fluida y con un régimen de mezclado perfecto. El sistema empieza a nuclear hasta que L vale 0,1 μm (en t = 0,1 s), en que se produce coagulación de las partículas. A partir de este valor, la nucleación crece exponencialmente. Estos valores son propios de la deposición y el crecimiento de las partículas, y no son aplicables exactamente a las proteínas, aunque cualitativamente explican el proceso. La figura 6.5 indica que el crecimiento del precipitado, en el caso de las proteínas, viene precedido por una nucleación rápida, de orden fraccionario, o sea, n < 1, seguida de un crecimiento lineal con t. En otros procesos (por ejemplo, la polimerización en emulsión de poliestireno, con el mecanismo de Smith-Ewart), la nucleación es muy similar a la de las proteínas de la figura 6.3.

6.2.3 Floculación browniana: crecimiento pericinético

A partir de la nucleación, el precipitado aumenta de tamaño mediante dos mecanismos en paralelo: la floculación browniana y la floculación por los esfuerzos de corte del agitador. Primero, explicaremos la floculación browniana, causada por la agitación térmica. Su cinética viene dada por la ley de Smoluchowski I, que establece que la disminución de la concentración de partículas es de segundo orden, porque su desaparición es causada por choques entre dos de ellas. Así:

$$-\frac{dy_i}{dt} = K_A y_i^2 \tag{6.17}$$

donde y_i es la concentración de partículas en el líquido, expresada en mol/m^3. La constante cinética viene dada por:

$$K_A = 8\pi D_{12} N_A L_{mol} \tag{6.18}$$

en que se supone que L_{mol} viene dada por la ecuación de Stokes-Einstein para la difusión de esferas en un fluido:

$$L_{mol} = \frac{kT}{3\pi D_{12}\mu} \tag{6.19}$$

donde k es la constante de Boltzmann y D_{12} es la difusividad de la proteína en agua. La integración de la ecuación cinética (6.17) con K_A constante, desde y = y_0 hasta t = 0, da:

$$y_i = \frac{1}{K_A t + 1/y_{i0}} \tag{6.20}$$

o bien:

$$\frac{y_i}{y_{i0}} = \frac{1}{1 + K_A y_{i0} t} \tag{6.21}$$

Definiendo el peso molecular de la partícula como M, en el instante t tendremos que se cumplirá M $y_i = M_0\ y_{i0}$ y, por tanto, M en t = t valdrá:

$$M = M_0 (1 + K_A y_{i0} t) \tag{6.22}$$

Esta relación lineal entre el tiempo y el peso molecular se puede ver claramente en la figura 6.4 relativa a la coagulación de caseína para tres concentraciones de proteína. Así, pues, durante la etapa de crecimiento de las partículas, se cumplen las dos ecuaciones anteriores, y_i (t) y M(t). El número de partículas en t = t es, pues, lineal con t, y el PM también.

6.2.4 Floculación por esfuerzos de corte del agitador: agregación ortocinética

Junto al crecimiento pericinético, se produce el crecimiento del precipitado debido al gradiente de corte que el agitador impone al líquido. Este es también de segundo orden con respecto a y_i y actúa en paralelo al movimiento browniano. La cinética viene dada por la ley de Smoluchowski II, también de segundo orden:

$$-\frac{dy_i}{dt} = K y_i^2 \tag{6.23}$$

donde la constante K, distinta de la anterior, vale:

$$K = \frac{2}{3} \alpha\, y_i d^3 \bar{\gamma} \tag{6.24}$$

en que α es el factor de eficacia de colisiones que son útiles y su valor no es mayor que 0,05. El valor medio de gamma representa el gradiente de cizalla medio de γ causado por la agitación (teoría de Kolmogorov). Algunos estudios de floculación de aguas recomiendan calcular la cizalla media a partir de la disipación de energía por unidad de masa de líquido debida al agitador, según la ecuación siguiente:

$$\bar{\gamma} = \left(\frac{P/V}{\rho \nu} \right)^{1/2} \tag{6.25}$$

Integrando la ecuación cinética (ec. 6.23) entre t_0 y t, con las expresiones de K y γ, se obtiene la expresión siguiente:

$$y_i = y_{i0} \exp\left(-\frac{4\alpha\varphi\bar{\gamma}}{\pi} t \right) \tag{6.26}$$

que indica la desaparición exponencial de partículas por agregación de las ya existentes, donde ϕ es la fracción en volumen de partículas (supuestas esféricas) de diámetro d:

$$\varphi = \left(\pi d^3 / 6 \right) y_i N_A \tag{6.27}$$

y_i es la concentración de partículas, en mol/m^3, y N_A es el número de Avogadro. A continuación, vemos cómo podemos aplicar esta cinética al caso de la floculación de proteínas en un tanque de 100 L en discontinuo.

Ejemplo 6.4. Precipitación de una enzima en un tanque agitado que opera por cargas

Se quiere precipitar una proteína (catalasa) de una mezcla de enzimas que contiene colesterol oxidasa, que es el producto que deseamos. La catalasa tiene un peso molecular de 250.000 y una densidad de precipitado de 1.300 kg/m^3; el diámetro en la disolución de la proteína es de 10,4 nm y el coeficiente de difusión es de 4,1 × 10^{-11} m^2/s. El método de precipitación consiste en introducir un cambio brusco de pH en un recipiente de 100 L, que dispone de un agitador de 75 W. O sea, P/V = 750 W/m^3. La concentración inicial es de 200 g/m^3 y el coeficiente de eficacia de colisión, α, se puede tomar como 0,05. Estímense:

a) el tiempo a partir del cual empieza la etapa de floculación de segundo orden;

b) la concentración de partículas en este instante, y

c) el tiempo necesario para obtener partículas de 0,1 mm, aptas para ser centrifugadas.

a) Consideramos que el tiempo de difusión es el tiempo de micromezcla dado por la teoría de Kolmogorov. Así, tendremos:

$$L_e = \left(\frac{\rho \nu^3}{P/V}\right)^{1/4} = \left(\frac{10^3 \left(10^{-6}\right)^3}{750}\right)^{1/4} = 3,39 \times 10^{-5}\, m$$

de modo que el tiempo según Kolmogorov valdrá:

$$t_\kappa = \frac{L_e^2}{4D_{12}} = \frac{\left(3,39 \times 10^{-5}\right)^2}{4 \times 4,11 \times 10^{-11}} = 7s$$

que indica que, a partir de 7 s, controla la etapa de floculación lineal de las partículas.

b) La ecuación que relaciona la concentración de partículas y_i con el tiempo es:

$$\frac{1}{y_i} = \frac{1}{y_{i0}} + \left(8\pi D_{12} N_A L_{mol}\right) t$$

en que y_{i0} es la concentración inicial de partículas que empiezan a crecer, de donde:

$$y_{i0} = \frac{200}{250.000} = 8 \times 10^{-4}\, mol / m^3$$

y L_{mol}:

$$L_{mol} = \frac{kT}{3\pi D_{12} \mu} = \frac{1,38 \times 10^{-23} 298}{3\pi \times 4,11 \times 10^{-11} \times 10^{-3}} = 10,64 nm$$

El coeficiente K_A valdrá:

$$K_A = 8 \times \pi \times 4,1 \times 10^{-11} \times 2,06 \times 10^{23} \times 10,64 \times 10^{-9} = 6,59 \times 10^6\, m^3 / \left(mol \cdot s\right)$$

de modo que, al cabo de 7 s, la concentración valdrá:

$$\frac{1}{y_i} = \frac{1}{8 \times 10^{-4}} + 6,59 \times 10^6 \times 7 = 46,1 \times 10^6\, m^3 / mol$$

Por tanto, al final del período de 0 a 7 s, las concentraciones de partículas serán las siguientes:

$$y_i = 2{,}1\times10^{-8}\ mol/m^3$$
$$y_{i0} = 8\times10^{-4}\ mol/m^3$$

c) Con la hipótesis del crecimiento debido a esfuerzos de corte, a continuación calculamos el tiempo necesario para que las partículas crezcan hasta 0,200 mm.

El PM de las partículas de 0,1 mm valdrá:

$$\overline{M} = N_A\left(\frac{\pi d^3}{6}\right)\rho = 6{,}02\times10^{23}\times\left(\frac{\pi 0{,}01^3}{6}\right)1{,}3 = 4{,}1\times10^{17}\ g/mol$$

de donde:

$$y_i = \frac{0{,}2g}{L} = \frac{0{,}2}{10^3}\left(\frac{1}{4{,}1\times10^{17}}\right) = 4{,}9\times10^{-22}\ mol/cm^3 = 4{,}9\times10^{-16}\ mol/m^3$$

Ahora planteamos el crecimiento exponencial, a fin de calcular el tiempo t, en que *d* llega a ser = 0,01 cm:

$$y_i = y_{i0}\exp\left(-\frac{4\phi\alpha\bar{\gamma}}{\pi}t\right)$$

$$\phi = \left(\frac{\pi d^3}{6}\right)y_i N_A = \frac{3{,}14}{6}0{,}01^3\times4{,}9\times10^{-22}\times6{,}02\times10^{23} = 1{,}54\times10^{-4}\ \text{(fracción molar)}$$

$$\bar{\gamma} = \left(\frac{P/V}{\rho\nu}\right)^{1/2} = \left(\frac{750}{10^3 10^{-6}}\right)^{1/2} = 866 s^{-1}$$

de donde tendremos:

$$\ln\frac{y_{i0}}{y_i} = 28{,}12 = \frac{4\times1{,}5\times10^{-4}\times0{,}05\times866}{\pi}t$$

$$t = 3383s = 0{,}94h$$

Obsérvese la dependencia del tiempo con respecto del parámetro α y, por tanto, la fuerte dependencia del modelo de un parámetro muy aproximado.

6.2.5 Ruptura y degradación mecánica del precipitado

La descripción cinética considerada en discontinuo es aproximadamente correcta si se desprecian los efectos de la ruptura del precipitado debida a los esfuerzos de corte del agitador sobre los precipitados formados. Para fracciones en volumen pequeñas y para precipitados de pequeñas dimensiones (< 0,02 mm), es aceptable. Los trabajos de Glatz *et al*. indican, sin embargo, que ello no es así y que, cuando se trata de copos o flóculos grandes, o cuando hay grandes fracciones en volumen de precipitado, hay que tener en cuenta la cinética de ruptura. En la figura 6.7, se observa el efecto del diámetro de los agregados en función del tiempo por ruptura (Brown y Glatz, 1987).

Al final del capítulo anterior (floculación), hemos indicado que, en el diseño de los floculadores horizontales, era importante mantener el gradiente de corte y, en consecuencia, acotar el tiempo de estancia en el floculador. Así, los flóculos formados no pueden estar

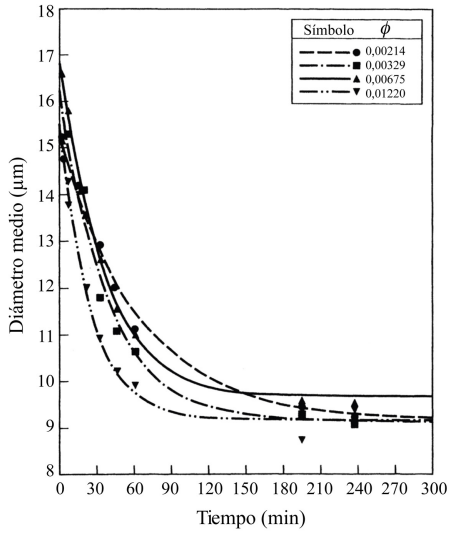


Fig. 6.7 Diámetro medio de las partículas de precipitado durante la degradación de la proteína a diversas fracciones en volumen de precipitado, sujeto a cizalla de 1.340 s^{-1}. ϕ es la fracción en volumen de precipitado. Fuente: Brown y Glatz (1987)

sujetos demasiado tiempo a un gran esfuerzo de corte. Bell *et al*. (1983) establecieron la cinética de envejecimiento de los flóculos en función de las condiciones de cizalla, representadas en la figura 6.8, según el denominado *número de Camp*, que es el producto del esfuerzo de corte medio del agitador, calculado anteriormente, y el tiempo durante el cual está sujeto a este esfuerzo. Este número se define como el producto adimensional:

$$\text{Camp} = \bar{\gamma} t \qquad (6.28)$$

que representa el factor de envejecimiento de los flóculos (siendo t el tiempo a que están sometidos en una cizalla γ). La figura 6.8 indica que, cuando se alcanza un valor de Camp igual a 10, los flóculos pueden estar sometidos a una disrupción posterior, sin que ello afecte sensiblemente el tamaño (v. fig. 6.8).

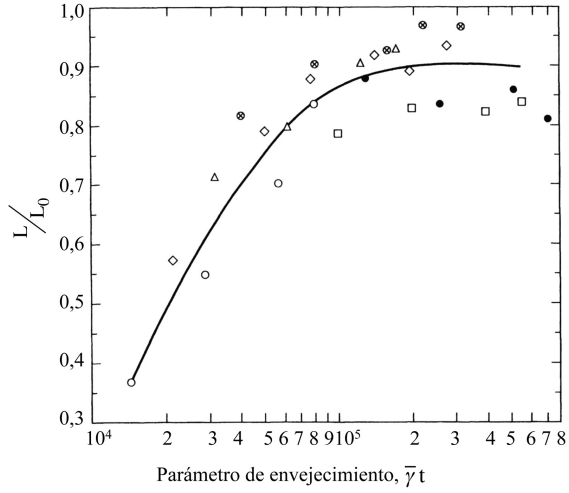


Fig. 6.8 Evolución del diámetro medio del precipitado de proteína de soja, desde L hasta L_0, en función del parámetro de envejecimiento o el número de Camp después de estar expuesto a diferentes gradientes de corte en un capilar. Fuente: Bello *et al*. (1983)

En definitiva, existen diversos efectos que se añaden a la cinética considerada en el ejemplo 6.3, que hay que tener en cuenta de una manera práctica, incluyendo el factor de envejecimiento, el valor absoluto del gradiente de corte y el diámetro de precipitado mínimo necesario, para poder centrifugar bien la proteína precipitada. El estudio para pasar a un sistema continuo de precipitación se tiene que hacer experimentalmente, teniendo en cuenta los factores mencionados, y extrapolar los resultados a un proceso a una escala superior. El proceso se probará experimentalmente ya sea en discontinuo, en un reactor tubular o bien en un reactor de mezcla perfecta continuo, y los resultados se extrapolarán a plena escala.

6.3 Precipitación de proteínas a mayor escala: las reglas del cambio de escala

Una condición previa para aplicar la semejanza dinámica es la similitud geométrica de los recipientes. Suponemos que, tanto si se conduce en discontinuo como en continuo, los recipientes deberán ser semejantes. Ello quiere decir que la relación de dimensiones lineales del tanque pequeño (o modelo), con respecto al grande es la misma, es decir, que los factores de forma del conjunto tanque-impulsor son iguales en ambos casos.

La idea es la siguiente. Suponemos que obtenemos los resultados de la figura 6.9, en que en un recipiente agitado de 0,3 L o de 200 L se obtienen los resultados de la figura. El tamaño del precipitado depende del consumo de energía por unidad de volumen del tanque. Por tanto, para reproducir el resultado, queremos utilizar el mismo factor de P/V que nos da el tamaño del precipitado obtenido en el laboratorio.

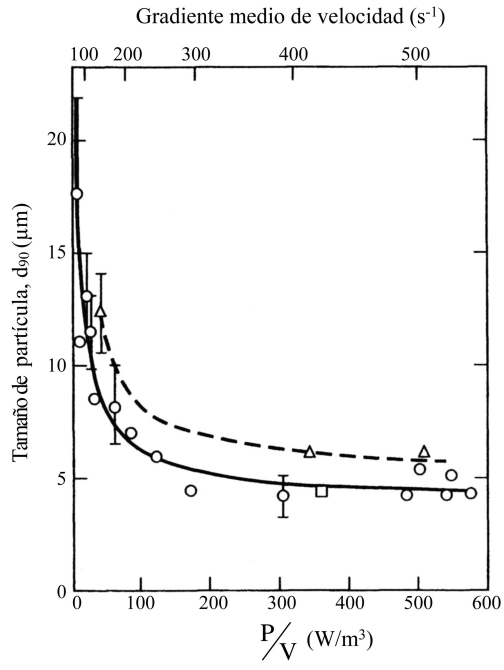


Fig. 6.9
Tamaño de partícula L_{90} en función del consumo unitario de potencia o del gradiente medio de velocidad. Fuente Bello *et al.* (1983)

6.3.1 Cambio de escala manteniendo P/V = constante: gradientes de corte máximos

Suponemos que los agitadores trabajan en la zona turbulenta, que conocemos su número de potencia N_p y que existe semejanza geométrica (v. fig. 6.7). Además, suponemos que se trata de turbinas Rushton y que los tanques tienen bafles. Sabemos que el volumen de un tanque es proporcional a su D^3. Así pues, tendremos que la relación P/V valdrá:

$$\frac{P}{V} = \frac{Np\rho N^3 D^5}{aD^3} \propto N^3 D^2, \quad \mathrm{Re} > 100.000 \tag{6.29}$$

donde a es una constante de proporcionalidad. Igualando los consumos de potencia unitarios, tendremos, para dos tanques semejantes:

$$\left(\frac{P}{V}\right)_1 = N_1^3 D_1^2 = \left(\frac{P}{V}\right)_2 = N_2^3 D_2^2 \tag{6.30}$$

de donde la regla de cambio de escala será, siguiendo el criterio P/V = constante:

$$\frac{N_1}{N_2} = \left(\frac{D_2}{D_1}\right)^{2/3} \tag{6.31}$$

Calculemos ahora los gradientes de corte máximos. Utilizamos el gradiente máximo en el extremo de la pala, en que la velocidad lineal es proporcional a u_p. El gradiente máximo valdrá:

$$\gamma_{\max} = C' u_p = C' \pi N D \tag{6.32}$$

donde C' es una constante. La relación de gradientes de corte máximos valdrá, pues:

$$\frac{(\gamma_{\max})_1}{(\gamma_{\max})_2} = \frac{N_1 D_1}{N_2 D_2} \tag{6.33}$$

Introduciendo la ecuación 6.31 en la 6.33, tendremos:

$$\frac{(\gamma_{\max})_1}{(\gamma_{\max})_2} = \left(\frac{D_1}{D_2}\right)^{1/3} \tag{6.34}$$

de manera que, al aumentar el tamaño, también aumentará la relación de gradientes, pero menos que las velocidades periféricas.

6.3.2 Cambio de escala manteniendo el gradiente de corte constante: valores resultantes de P/V

Utilizando un razonamiento similar, se obtienen los resultados siguientes. A igualdad de esfuerzos de corte máximos, la relación velocidad-diámetro será:

$$\frac{N_1}{N_2} = \frac{D_2}{D_1} \tag{6.35}$$

lo cual indica que los consumos unitarios de potencia se verán afectados en la relación de diámetros:

$$\frac{(P/V)_1}{(P/V)_2} = \frac{D_2}{D_1} \tag{6.36}$$

Ejemplo 6.5. Cambio de escala de un proceso de precipitación

Queremos extrapolar un proceso de precipitación a un volumen de V_2 = 1.000 L, extrapolando los datos de un tanque piloto de V_1 = 100 L para la precipitación de una proteína. En el tanque pequeño, se ha empleado un impulsor del tipo Rushton, que gira a una frecuencia de N = 270 rpm.

a) Aplica el criterio más corriente, P/V = constante. Calcula, en este caso, la velocidad de agitación del tanque grande y la relación de gradientes de corte máximos en ambos recipientes.

b) ¿Si se aplica como criterio de cambio de escala la constancia de esfuerzos de corte máximos, qué relación P/V habrá en los dos recipientes?

a) Consideraremos las propiedades físicas del agua. Las relaciones de volumen y de diámetro de los impulsores son las siguientes:

$$V_1 = 0{,}1 = \frac{\pi T^3}{4}$$

es decir, T_1= 0,5 m y D_1 = 0,5/3 = 0,167 m. Esto da un valor de Reynolds de:

$$\mathrm{Re}_1 = \frac{(270/60)\times 0{,}167\times 10^3}{10^{-3}} \approx 750.000 > 100.000$$

Los volúmenes y los diámetros de los impulsores valdrán:

$$\frac{V_1}{V_2} = \frac{1}{0{,}1} = \left(\frac{D_2}{D_1}\right)^3$$

de donde D_2 = 2,14 × D_1= 2,14 × 0,167 = 0,357 m

Así pues, podemos aplicar la ecuación 6.31:

$$\frac{N_1}{N_2} = \left(\frac{D_2}{D_1}\right)^{2/3}$$

$$\frac{270}{N_2} = \left(\frac{0{,}357}{0{,}167}\right)^{2/3}$$

de la cual N_2 = 162 rpm. Al haber impuesto P/V = constante en el cambio de escala, la relación de esfuerzos de corte máximos vendrá dada por la ecuación 6.34, es decir:

$$\frac{(\gamma_{max})_1}{(\gamma_{max})_2} = \left(\frac{D_1}{D_2}\right)^{1/3} = \left(\frac{D_1}{2{,}14 D_1}\right)^{1/3} = 0{,}77$$

b) Considerando los dos recipientes agitados, si ahora imponemos que el esfuerzo de corte máximo sea constante en el cambio de escala, podemos calcular la relación de velocidades de la ecuación 6.35, es decir:

$$\frac{N_1}{N_2} = \frac{D_2}{D_1} = 2{,}14$$

de donde, para N_1 = 270 rpm, N_2 valdrá = 125 rpm. Entonces, la relación de potencias específicas de los depósitos vendrá dada por la ecuación 6.36:

$$\frac{(P/V)_1}{(P/V)_2} = \frac{D_2}{D_1} = 2{,}14$$

Es decir, el consumo de potencia por unidad de volumen del tanque grande será la mitad del pequeño, aproximadamente. Sin embargo, como el recipiente grande es diez veces mayor que el pequeño, la potencia instalada en el recipiente grande será cinco veces la del pequeño.

6.4 Conclusiones

En este capítulo, se ha estudiado la operación de precipitación de proteínas desde soluciones acuosas. En primer lugar, se ha tratado de la solubilidad de las proteínas y de los métodos de precipitación basados en la adición de sales, cosolventes no solventes, aniones, calor, etc. Las ecuaciones empíricas utilizadas permiten plantear el balance de masa para una precipitación (ecuación de Cohn). Después, se han estudiado los aspectos cuantitativos de la cinética de precipitación con los modelos de Smoluchowski, que permiten realizar un cálculo teórico de la solubilidad en una operación de precipitación discontinua o en un reactor tubular ideal. El proceso en un reactor de flujo mezclado en estado estacionario produce un precipitado que tiene una distribución estadística del tamaño de una partícula. En la literatura, esto se trata haciendo un balance de poblaciones de partículas. Este aspecto no se ha desarrollado aquí, pero lo describen Glatz *et al*. (1986) y Levenspiel (1996). Finalmente, se han descrito y aplicado los criterios de cambio de escala de reactores basados en la literatura sobre precipitación y centrifugación de partículas, aplicables a reactores agitados por cargas o continuos.

6.5 Notación

C	Concentración, en kg/m^3
Ca	Número de Camp, ec. 6.28
Cp	Concentración de polímero, en kg/m^3
Cs	Solubilidad de la proteína, en kg/m^3
D	Diámetro de las palas del agitador, en m
D_{12}	Difusividad binaria, en m^2/s
E	Energía de activación, en J/mol
I	Fuerza iónica definida por la ec. 6.5, en mol/m^3
K	Constante definida por la ec. 6.2, en m^3/mol
k	Constante de Boltzmann
K	Constante de la ec. 6.24
k´	Constante cinética de desnaturalización, en s^{-1}
k'_0	Factor preexponencial, ec. 6.8, en s^{-1}
K_A	Constante definida por la ec. 6.18, en m^3/mol s
L	Radio de la partícula esférica, en m
L_e	Tamaño de remolino, en m
M	Peso molecular del precipitado, t = t, en g/mol
N	Frecuencia de rotación, en Hz
P	Potencia, en W
r	Radios de la esfera, r_s, y de la varilla, r_r, en m
R	Constante del gas ideal, 8,314 J/mol·K
S	Solubilidad de la proteína en la ec. 6.4, en kg/m^3
t	Tiempo, en s
T	Diámetro del tanque, en m
t_K	Tiempo de micromezcla de Kolmogorov, en s
t_{micro}	Tiempo de la micromezcla, s
u_p	Velocidad lineal del extremo de la pala, en m/s
$\underline{V}$	Volumen molar parcial del polímero, en m^3/mol
V	Volumen, en m^3
y_i	Concentración de partículas, en mol/m^3
y_{i_0}	Id. inicial, t = 0
z	Carga eléctrica
β	Ordenada en el origen de la solubilidad, ec. 6.4
ϕ	Fracción en volumen de partículas, ec. 6.27
γ	Gradiente de corte, c. 6.25
ρ	Densidad, en kg/m^3
σ	Consumo unitario de potencia, en W/kg
υ	Viscosidad dinámica, en m^2/s

→7

Extracción líquido-líquido

Después de la fermentación, las operaciones de aislamiento del bioproducto más importantes son la extracción líquido-líquido y la adsorción. En este capítulo, se estudia la extracción, que es el caballo de batalla del tratamiento del caldo de fermentación en el caso de los antibióticos. En la extracción, la concentración final de soluto en el extracto puede ser del 0,5 al 5 % en peso, partiendo de un caldo de fermentación que contiene solamente el 0,01-0,5 % del producto. En el capítulo siguiente, se explica la adsorción sólido-fluido, en que se obtienen unas concentraciones de adsorbato en el solvente de elución del 5 al 20 % en peso. Así pues, en ambas operaciones, se alcanza un grado de concentración bastante elevado.

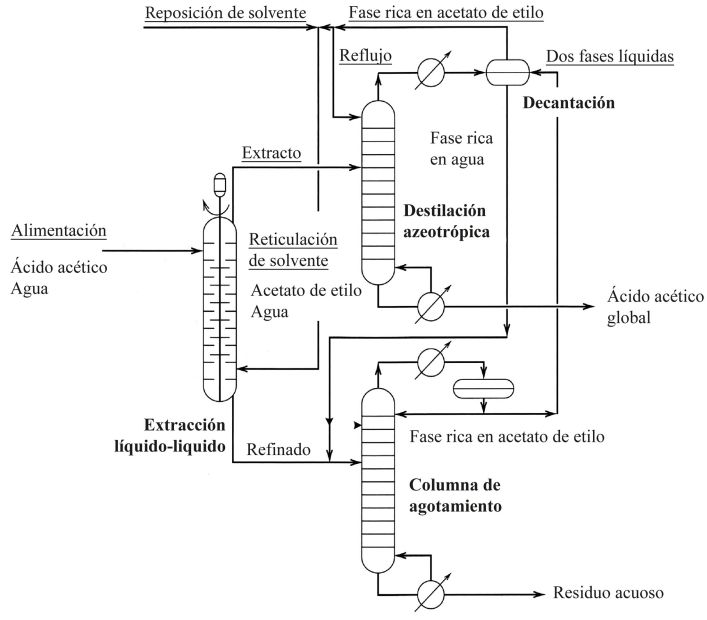


Fig. 7.1 Recuperación de ácido acético al 100 % combinando un extractor con dos columnas de destilación. El solvente, en este caso acetato de etilo, actúa además de arrastrador en la destilación azeotrópica

Al final de la fermentación, la concentración de soluto es muy diluida, de forma que operamos el proceso de extracción en el límite de la disolución diluida. Sin embargo, es

posible que, en conjunto, la planta recupere solvente por extracción y destilación en forma de disoluciones concentradas.

Un caso interesante para la industria farmacéutica es la recuperación de ácido acético acuoso mediante la extracción con acetato de etilo (u otro solvente), combinada con dos columnas de destilación: una azeotrópica y la otra de agotamiento, y sus correspondientes decantadores (v. fig. 7.1), como se verá más adelante.

Primero, se presenta la extracción de una solución concentrada (concentración de soluto inicial del 1-50 % en peso). Después, se estudia la extracción a baja concentración inicial (< 1 %), que es la habitual en biotecnología. La mayoría de los bioproductos no permiten concentrar el caldo por evaporación debido a las altas temperaturas que se utilizan. Así, pues, se aplica la extracción. Finalmente, se presentan los aparatos de extracción y se explica cómo se especifica un extractor industrial.

7.1 Fundamentos de la extracción

La extracción es una operación de transferencia de masa en la cual un soluto constituyente de una disolución líquida se transfiere por contacto de la disolución original a otro líquido –el solvente–, inmiscible o parcialmente miscible con el primero. El soluto tiende a distribuirse entre el diluyente (solvente inicial) y el solvente de extracción, de acuerdo con las leyes de la termodinámica. Si el soluto pasa preferentemente al solvente, se alcanza un grado apreciable de separación. El soluto se puede extraer casi totalmente, con un número adicional de contactos con más solvente. La extracción funcionará siempre que coexistan dos fases líquidas. Hay un margen útil de concentraciones de solvente que dan lugar a dos fases líquidas y permiten, pues, la extracción.

Un ejemplo de este proceso es la extracción del ácido acético húmedo por contacto en una columna con acetato de etilo como solvente. Este extrae selectivamente el ácido acético a la fase orgánica, pero extrae menos el agua. El proceso, combinado con operaciones de destilación (v. fig. 7.1), permite recuperar ácido acético glacial (100 %) y el solvente de extracción bastante puro, a fin de reciclarlo al extractor, así como el agua del ácido acuoso inicial.

La extracción se lleva a cabo en una serie de mezcladores-decantadores en continuo (v. fig. 7.2) o en una columna de contacto continuo en que las fases líquidas circulan a contracorriente gracias a la diferencia de densidades, a través de un sistema integrado de mezcladores-sedimentadores (v. fig. 7.3). Más adelante veremos los aparatos de extracción utilizados.

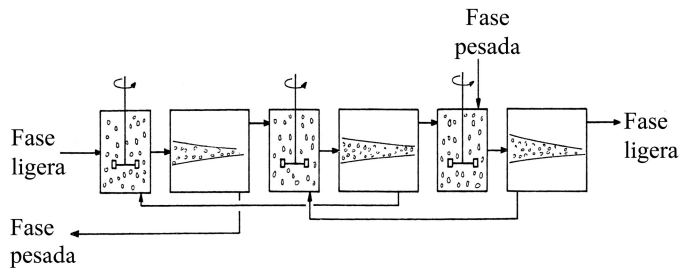


Fig. 7.2
Batería de tres extractores-sedimentadores en serie, trabajando a contracorriente. Esta instalación puede dar un rendimiento de etapa próximo al 100 %

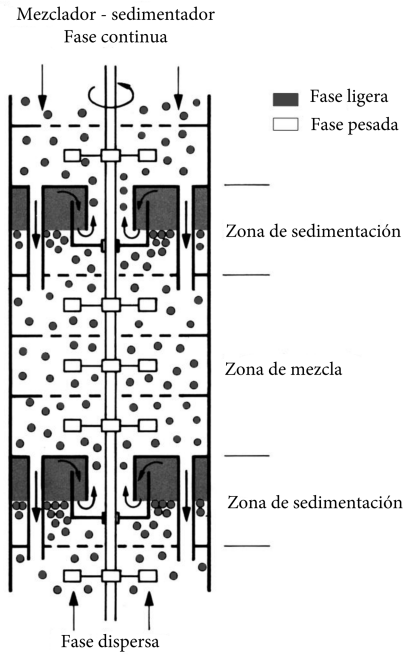


Fig. 7.3
Tramo de un extractor Kühni, que combina tres zonas de mezcla mecánica y una zona de sedimentación. La fase ligera asciende en forma de gotas, sedimentando bajo los platos, de los cuales rebosa un líquido, hacia la sección superior por gravedad. El rendimiento de etapa es próximo al 50-60 % (v. fig. 7.10)

Se denomina *alimentación*, F, la disolución inicial a tratar, la cual contiene soluto y diluyente. El líquido que tiene afinidad selectiva es el *solvente*, S. La corriente de producto rica en soluto es el *extracto*, E, y el líquido residual, el *refinado*, R. El soluto se designa por C. Se supone idealmente que las corrientes del extracto y del refinado salen del contactor en equilibrio con respecto al soluto C, es decir, que se alcanza el equilibrio. A menudo, el rendimiento de la extracción no es del 100 % y, por tanto, se habla de un rendimiento de extracción en una etapa o del conjunto de las etapas. Sin embargo, con un sistema como el de la figura 7.2, se puede alcanzar un rendimiento cercano al 100 %. En cambio, en la columna de la figura 7.3, el rendimiento de etapa es más bajo, quizás del 60 %.

7.1.1 Constantes de equilibrio: solventes de extracción

Después del contacto, tanto E como R contienen soluto, pero en proporciones distintas. Se denomina *constante de equilibrio de extracción* o *de distribución*, m, el cociente de y y x en equilibrio:

$$m_i = \left(y_i / x_i\right)_{eq} \qquad \text{i = A, B, C} \tag{7.1}$$

donde y_i y x_i son fracciones en masa del soluto, en la fase de extracto y refinado, respectivamente, expresadas en kg de soluto/kg de fase, aunque alguna vez se pueden utilizar kg como soluto/m^3 de fase. El valor de m puede variar con la composición de las fases. Se define como *selectividad* del componente j respecto al componente i la relación:

$$\beta_{ji} = m_j / m_i \tag{7.2}$$

En general, conviene que $m > 1$. En presencia de contaminantes, es necesario que β sea mayor que 1, lo cual da una extracción selectiva. Si m es grande, se podrá hacer la extrac-

ción en pocas etapas. Si β es igual en 1, no se podrán separar por extracción los componentes de la mezcla o los contaminantes que acompañan al soluto. El valor de *m* depende de la temperatura, del pH y de la constitución de las fases (afinidad del soluto por el diluyente y por el solvente). La mejor manera de calcular *m* es determinar la solubilidad del soluto en el sistema. La estimación de *m* se puede hacer a partir de los coeficientes de actividad de las fases líquidas a dilución infinita (a partir de los datos de ELV) o a partir de las solubilidades mutuas de las fases (datos de ELL). Como no se dispone de muchos datos, se recomienda la determinación experimental de *m*, de forma directa, o bien a partir de los datos de una extracción. En la tabla 7.1, se indican las constantes de equilibrio para diferentes aminoácidos, antibióticos y proteínas de interés en biotecnología (v. Perry-Green, 1997, para sistemas ternarios industriales).

Tabla 7.1
Constantes de equilibrio en diversos solventes de extracción

Bioproducto	Solvente de extracción	Condiciones	$m = C_E/C_R$ *
Ácidos carboxílicos			
Ácido cítrico	n-butanol	25ºC	0,29
Ácido succínico	n-butanol	25ºC	0,26
Alcoholes			
Etanol	n-octanol	25ºC	0,49
n-butanol	n-octanol	25ºC	7,6
Cetonas			
MEK	n-octanol	25ºC	1,95
Antibióticos			
Penicilina F	acetato amilo	pH = 4	32
Penicilina F	acetato amilo	pH = 6	0,06
Eritromicina	acetato amilo	pH = 6	120
Eritromicina	acetato amilo	pH = 10	0,04
Enzimas, proteínas			
Glucosa-isomerasa	PEG1500/fosfato K		3
Catalasa	PEG/dextrano		3

*C expresadas en mol/L; PEG/dextrano solvente acuoso bifásico

7.1.2 Selección del disolvente

El solvente se procura que sea efectivo y selectivo, que sea fácil de recuperar y que no reaccione con el producto. Las condiciones mejores para un solvente de extracción son:

1. Una buena selectividad, $\beta > 1$.

2. Un coeficiente de reparto favorable, $m > 1$. Si $m > 1$, se requiere menos solvente, pero, si $m < 1$, también se puede extraer.

3. La insolubilidad completa del solvente y el diluyente.

4. La recuperabilidad. Como a veces se utiliza la destilación, es conveniente que no forme azeótropos. También es preferible una alta volatilidad.

5. Un fluido supercrítico (propano o CO_2 como solvente), porque va bien para liberar totalmente el soluto de solvente.

6. Una gran diferencia de densidad entre el diluyente y el solvente.

7. Una tensión superficial intermedia, no excesivamente alta, ya que primero tenemos que inducir la formación de gotas, pero después queremos llevar a cabo su coalescencia y la decantación.

8. Niveles bajos de toxicidad, inflamabilidad, agresividad, corrosividad y coste. Estabilidad química.

7.1.3 Sistemas de tipo I y de tipo II: coordenadas rectangulares

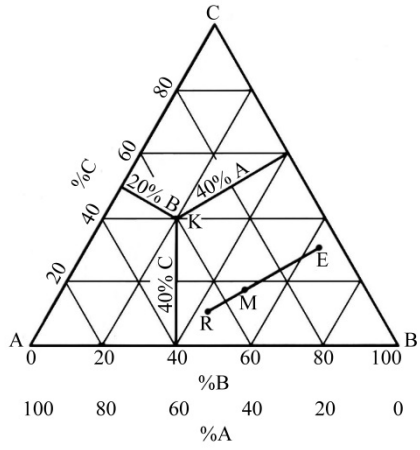


Fig. 7.4 Diagrama triangular equilátero. Los vértices A, B y C. representan los componentes puros. La suma de las tres alturas es cte.= 100, p. ej. Así pues, permite representar dos mezclas ternarias. La mezcla de R kg de R y E kg de E da un punto M de R+E kg, alineado con aquellos (v. ec. 7.3).

En un sistema de extracción, como mínimo hay tres componentes: los líquidos A y B, y el soluto C, que se distribuye. Se designan por E los kg de extracto; por R, los kg de refinado, y por B, los kg de solvente. Las mezclas ternarias se representan en un triángulo equilátero (v. fig. 7.4). Los vértices representan los componentes puros; los lados del triángulo, las disoluciones binarias, y los puntos interiores, las mezclas ternarias. Se utiliza el triángulo equilátero, que tiene la propiedad de que las tres alturas de un punto interior suman un valor constante, de modo que las alturas se pueden utilizar como medida de la composición del punto. Otra propiedad es que, si se mezclan dos corrientes (dos puntos), el punto de mezcla está en la recta que los une, y su composición sigue la regla de la palanca (v. fig. 7.4), es decir:

$$\frac{R}{E} = \frac{\text{segmento ME}}{\text{segmento MR}} = \frac{x_E - x_M}{x_M - x_R} \qquad (7.3)$$

donde las x son las alturas de los puntos E, M y R sobre el lado AB y representan, en este caso, las fracciones de C en las mezclas E, R, y M. De la ecuación anterior, midiendo ME y MR, se encuentra x_M.

Estas dos propiedades hacen que la representación triangular sea útil para los cálculos de extracción. En el triángulo, los vértices representan los componentes puros. Los tres lados representan tres mezclas binarias. En los sistemas de tipo I, hay dos soluciones binarias totalmente miscibles y un par de ellas parcialmente miscibles. Dentro de la curva de campana, los puntos representan mezclas inestables que se separan en dos fases en equilibrio, conectadas por una línea de equilibrio, denominada también *línea de enlace*. Fuera de la campana, la extracción no es posible, ya que hay una sola fase líquida. Los extremos de las líneas de enlace son puntos en equilibrio, como E y R, y sus composiciones cumplen la constante de equilibrio, y/x = m. Los sistemas de tipo I tienen un punto crítico donde convergen las líneas de enlace y donde se cumple que m = 1. Se observa que, para describir un sistema, a veces se tiene que coger un valor medio de *m* ya que, para el conjunto de líneas de enlace, *m* no es constante. Para un rango de *m* y disoluciones próximas, a veces se toma un valor medio adecuado:

$$m = \sqrt{m_1 m_2} \tag{7.4}$$

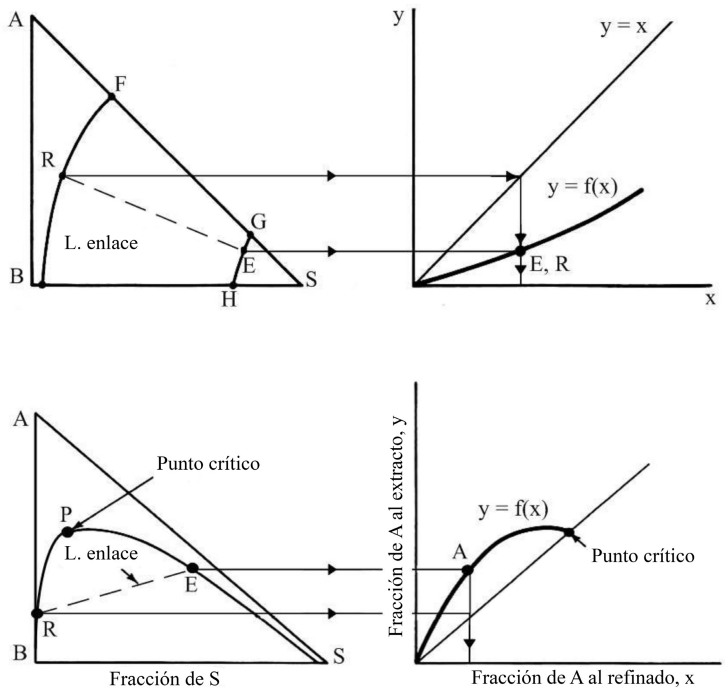


Fig. 7.5
Para efectuar cálculos, va bien el triángulo rectángulo, donde x e y se representan en ordenadas, en un diagrama McCabe-Thiele. El sistema de la parte superior de la figura es de tipo II y el de abajo, de tipo I. Las rectas de trazos representan las líneas de enlace del triángulo. A partir de estas, se puede dibujar el sistema x-y, que permite interpolar líneas de enlace

En los sistemas de tipo II (v. fig. 7.5), tan solo hay una mezcla binaria totalmente miscible, y no hay un punto crítico visible a la temperatura de interés. Cambiando la temperatura (y/o la presión), se puede pasar de un sistema a otro (Treybal, 1980; Fair *et al*., 1982).

A veces, es preferible utilizar las coordenadas rectangulares, denominadas de McCabe-Thiele. En la figura 7.5, se indica cómo pasar a coordenadas rectangulares y cómo trazar la línea de equilibrio a partir de los extremos de una línea de enlace y hacer la interpolación de líneas de enlace a partir de la línea de equilibrio.

7.2 Cálculo del número de etapas de equilibrio

Consideremos sistemas con miscibilidad parcial y alimentación concentrada.

7.2.1 Un mezclador-sedimentador continuo o discontinuo

Utilizamos el triángulo rectángulo, en vez del equilátero, porque es más manejable (v. fig. 7.6 *supra*). Representa la extracción de ácido acético acuoso con una cetona (MIBK) parcialmente miscible en agua. Las ecuaciones de balance global y de soluto son, respectivamente:

$$F + S = M_1 = E + R \tag{7.5a}$$

$$Fx_F + Sy_s = Ey + Rx = M_1 x_M \tag{7.5b}$$

Resolución gráfica:

1. Situamos el punto de mezcla M sobre la recta que une x_F y S. (2) Situamos la recta de enlace que pasa por M y determinamos la fracción de M, x_M; calculamos *x* e *y*, de R y E, leyéndolos en el gráfico. Entonces, calculamos E según:

$$E = \frac{M_1(x_M - x)}{y - x} \tag{7.6}$$

2. Finalmente, calculamos R del balance global R = F + S - E.

   (S/F) máximo y mínimo: la cantidad de solvente por kg de alimentación, S/F, será:

$$\frac{S}{F} = \frac{x_F - x}{x_M - y_S} \tag{7.7}$$

   Los valores máximo y mínimo de solvente vienen dados por las intersecciones más próxima y más lejana al vértice S de la recta FS, de manera que coexistan dos fases.

7.2.2 Contactos con corrientes cruzadas (o por cargas sucesivas)

Consideramos la figura 7.6 *infra* y ahora extraemos diversas veces con solvente puro. El primer contacto con el solvente S_1 produce un refinado R_1 y un extracto E_1. El refinado R_1 se obtiene tras separarlo en la etapa 1. Ahora, en la etapa 2, ponemos en contacto el refinado R_1 con más solvente S_2. Los puntos de mezcla se muestran en el diagrama triangular inferior izquierdo (v. fig. 7.6).

Ejemplo 7.1.

En una etapa de un proceso, se ponen en contacto 50 kg/min de agua pura con 50 kg/min de una alimentación que tiene un 35 % de peso de ácido acético y un 65 % de metil-isobutil-cetona (MIBK). Determínense la cantidad de ácido acético en la mezcla total y las composiciones del extracto y del refinado que salen en equilibrio (v. fig. 7.6 *supra*).

$$F = 50$$
$$S = 50$$
$$S/F = 1$$
$$xF = 0,35$$

Sobre el gráfico de la figura 7.6, localizamos el punto M (al 50 % del segmento SF) y $x = 0,16$ e $y = 0,185$, de donde, aplicando las ecuaciones 7.5 y 7.6, tendremos:

$$x_M = \frac{50 \times 0,35 + 50 \times 0}{100} = 0,175$$
$$E_1 = \frac{100 \times (0,175 - 0,16)}{0,185 - 0,16} = 60 \text{kg/min}$$
$$\mathrm{R}_1 = 100 - 60 = 40 \text{kg/min}$$

$$\text{Recuperación} = \frac{E_1 y_1}{F x_F} = \frac{60 \times 0,185}{50 \times 0,35} = 0,68 \ (68\%)$$

Ejemplo 7.2. Recuperación de ácido acético en dos etapas

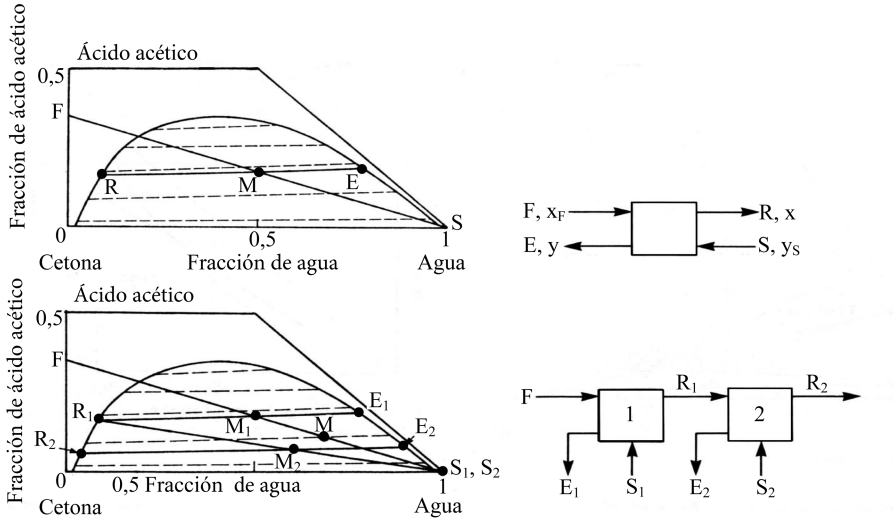


Fig. 7.6 Ejemplos de cálculo 7.1 y 7.2. Los valores de *x* e *y* se dan en el texto

Una disolución de ácido acético al 35 % en MIBK (65 %) se extrae con agua pura en dos mezcladores-sedimentadores en serie, con corriente cruzada. La alimentación F es de 100 kg/min. Las alimentaciones de agua son de 100 kg/min en cada mezclador. Calcúlense las composiciones y las cantidades de extracto y de refinado de cada mezclador.

Veamos ahora el aumento de recuperación utilizando dos etapas en serie (v. fig. 7.6 *infra*). En el primer extractor, tendremos:

$$F = 100$$

$$x_F = 0,35$$
$$S = 100$$
$$F + S = M1 = E + R = 200$$
$$x_{M1} = \frac{Fx_F + Sy_s}{M1} = \frac{100 \times 0,35 + 0}{200} = 0,175$$
$$E_1 = 120\, kg/\text{min}$$

de donde se obtiene que $R_1 = 80$ kg/min.

La resolución de la segunda etapa de extracción da: $x_{M2} = 0,071$, $y_2 = 0,071$ y $x_2 = 0,058$. Y las cantidades másicas: $M_2 = 180$ kg/min, $x_{M2} = 0,071$. Por tanto, los resultados serán ahora:

$$R_1 + S_2 = E_2 + R_2 = M_2 = 180\, kg/\text{min}$$
$$x_{M2} = \frac{R_1 x_1 + S_2 y_s}{M_2} = 0,071$$
$$E_2 = 11,3\, kg/\text{min}$$
$$R_2 = 67\, kg/\text{min}$$

y la recuperación valdrá 30,2/35 = 0,87 (87%)

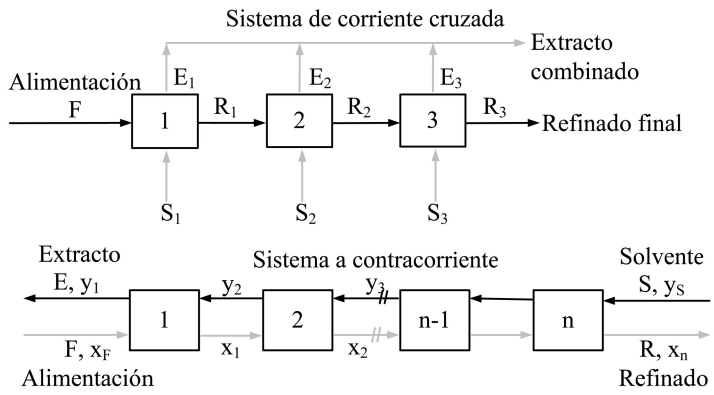


Fig. 7.7
Arriba, extracción a corriente cruzada (continuo o discontinuo). Abajo, extracción con múltiples mezcladores-sedimentadores en serie a contracorriente

7.2.3 Multietapa a contracorriente, líquidos parcialmente miscibles

Consideramos ahora un sistema de N mezcladores-sedimentadores (v. fig. 7.7) que trabajan en continuo en estado estacionario con solvente a contracorriente. Podemos establecer un balance global como:

$$F + S = R_N + E_1 = M \tag{7.8}$$

y un balance de soluto en los extremos de la serie:

$$Fx_F + Sy_s = R_N x_N + E_1 y_1 = Mx_M \tag{7.9}$$

Por tanto, se cumple que los puntos R_N, E y_1 y M están alineados, y que los puntos F, S y M también lo están. El valor x_M se obtiene de las dos ecuaciones anteriores, como:

$$x_M = \frac{Fx_F + Sy_S}{F + S} \tag{7.10}$$

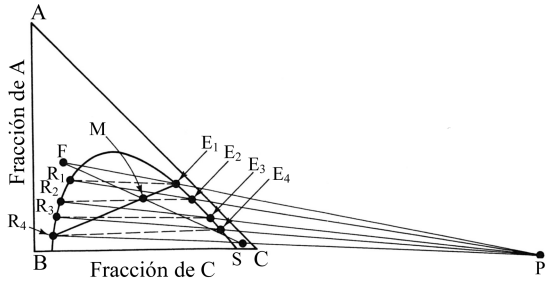


Fig. 7.8 Construcción gráfica en un triángulo rectángulo de 4 extractores-sedimentadores en serie. Las líneas de puntos son rectas de enlace. El punto externo P se denomina *foco*

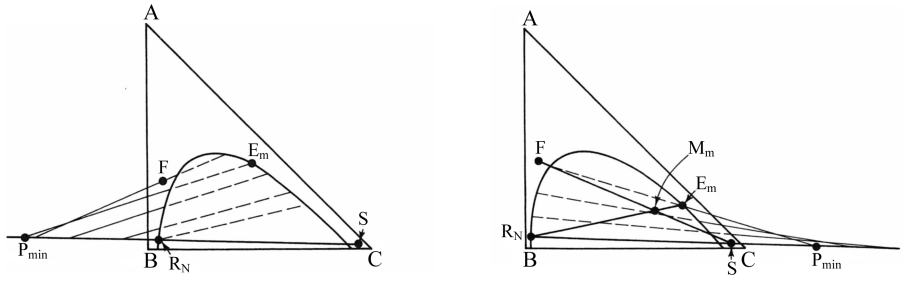


Fig. 7.9 Cálculo del solvente mínimo, S_{min}, según los dos casos posibles (v. texto). El punto P_{min} es el foco

Los puntos F, E_1 y P están sobre la misma recta que pasa por los puntos R_N, S y P. Y, como estos puntos representan rectas diferentes, el punto P tiene que estar a su intersección. Por tanto, permite situar P. Consideremos ahora el balance global de soluto en la etapa n. Tendremos:

$$R_{n-1} + E_{n+1} = R_n + E_n \tag{7.11}$$

$$R_{n-1} - E_n = R_n - E_{n+1} = P \tag{7.12}$$

es decir, la recta que pasa por los puntos R_{n-1} y E_n y la que pasa por R_n y E_{n+1} pasan también por el polo P. Así, pues, el polo P representa los focos de todas las rectas que representan los caudales sucesivos. La figura 7.8 ilustra este hecho, del cual se deriva la construcción gráfica del número de etapas, basado en la ecuación 7.13. En la figura 7.8, con cuatro etapas, extraemos bastante soluto para dejar el refinado al valor prefijado x_N, que es la especificación del problema de extracción.

Solvente mínimo. La construcción de la figura 7.8 depende de la posición del punto M y, por tanto, del valor de S/F escogido. Los límites de solvente están representados en la figura 7.8, según si las líneas de enlace salen por la izquierda del gráfico o por la derecha, y corresponden a un número infinito de etapas. El mínimo solvente corresponde al caso en que la línea de enlace que pasa por E_1 pase por la alimentación F y por P. Por tanto,

el número de etapas se hace infinito. En la figura 7.8, se observa que la extracción presenta lo que se denomina *pinzamiento* (o *pinch*), ya que la primera línea de enlace pasa por F y E_1, y la construcción gráfica es imposible. En la práctica, como valor corriente de S/F se toma ~1,6$(S/F)_{mín}$. El valor máximo de S, $S_{máx}$ corresponde al valor de la recta SMF en el límite de existencia de dos fases líquidas, cerca del vértice del solvente. El valor de solvente que se tiene que utilizar realmente se encuentra por optimización económica.

7.2.4 Rendimiento de etapa y rendimiento global

Los cálculos efectuados hasta ahora suponen que se llega al equilibrio en cada etapa. Sin embargo, si no se dispone de información de la velocidad de transferencia de masa, no se puede calcular el rendimiento. Este depende del tipo particular de extractor. Por ejemplo, en el extractor de tipo Kühni (v. fig. 7.2), el *rendimiento de etapa* (o de Murphree) depende de varios factores (caudal, dispersión axial, tiempo de contacto, potencia por unidad de volumen, retención y dispersión entre rejas, etc.). En la figura 7.10, se representa el rendimiento de etapa de este extractor.

El *rendimiento global* es el que se aplica en el diseño del aparato y representa las etapas ideales que tiene cada plato real. Este rendimiento es, como máximo, del 55 % para una columna de extracción. Así, a falta de otros datos, haremos:

$$N_{reales} = \frac{N}{0,55} \tag{7.13}$$

Más adelante, se verá que, para los extractores industriales, a partir de la denominada *altura del plato teórico* (HETS) no habrá que suponer un valor del rendimiento.

Como ya hemos visto, en los conjuntos de mezclador-sedimentador, se pueden diseñar con rendimientos muy altos.

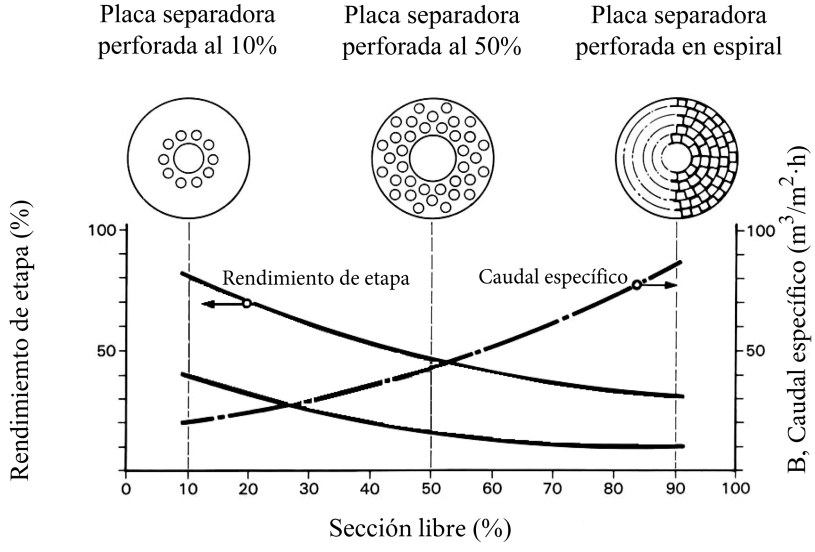


Fig. 7.10
A la izquierda, rendimiento de etapa (o de Murphree) de un extractor Kühni, en función del porcentaje de abertura de la sección. A la derecha, caudal especifico total del extractor, que es B= F+S, m^3/m^2h (v. texto)

7.3 Disoluciones diluidas, solventes totalmente inmiscibles

7.3.1 Aplicaciones en biotecnología

Consideraremos la extracción en el límite de la ley de Henry y, además, que el solvente y el diluyente son totalmente inmiscibles. Por tanto: (1) los caudales de extracto y de refinado serán constantes, e iguales a las corrientes de solvente y de alimentación, respectivamente, y (2) se alcanzará el equilibrio en cada etapa. Consideramos la batería de contactos de la figura 7.7 *infra*.

Un balance global del soluto entre el extremo de la serie (n = 1) y la etapa n-1, en estado estacionario, da:

$$Fx_F + y_s S = x_{n-1} F + y_1 S \tag{7.14}$$

Y, haciendo $y_s = 0$ (el solvente entra puro), se tiene:

$$y_n = \frac{F}{S} x_{n-1} + \frac{y_1 S - x_F F}{S} \tag{7.15}$$

Véase ahora la figura 7.11. La ecuación 7.15 es la recta de operación de pendiente F/S, en el gráfico x-y, que corta el eje de las abscisas en el punto (x_n, y_S). La recta de operación da el valor de y_n conocido x_{n-1}. Por su parte, la línea de equilibrio ahora tiene la forma y = mx, con *m* aproximadamente constante en el rango de trabajo (v. ec. 7.4). Estas rectas se representan en la figura 7.11 y permiten la construcción de McCabe-Thiele y el cálculo del solvente mínimo $(F/S)_{min}$.

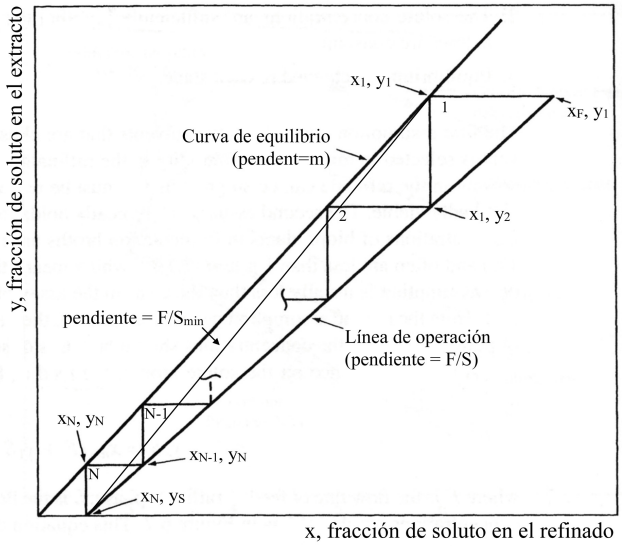


Fig. 7.11
Construcción gráfica para E y R constantes a lo largo de una serie de etapas. La alimentación es x_F y la salida, x_N. En condiciones de F/S_{min}, el extracto y la alimentación salen en equilibrio y, entonces, N= ∞.

Si no se cumple la hipótesis de disolución diluida, las coordenadas del problema se refieren a la unidad de masa del componente inerte en cada fase. Así pues, X = x/(1-x), Y = y/(1-y), cuyas unidades son, entonces, kg de soluto/kg de diluyente o de solvente, respectivamente.

7.3.2 Factor de extracción y ecuación de Kremser

Se define el factor de extracción, E_x, para soluciones diluidas, a T = constante, como la relación entre la pendiente de la línea de equilibrio, m, y la de la línea de operación, F/S (v. fig. 7.11). Para una etapa ideal, tendremos:

$$E_x = mS/F = \left(\frac{y}{x}\right)\frac{S}{F} = \frac{\text{kg soluto en E}}{\text{kg soluto en R}} \tag{7.16}$$

Haciendo un balance del soluto en la última etapa, n = N (con $y_s = 0$), tendremos:

$$x_{n-1}F = x_nF + Y_nS \tag{7.17}$$

que se puede escribir en función de E_x como:

$$x_{n-1} = (E_x + 1)x_n \tag{7.18}$$

Para la penúltima etapa, n-1:

$$x_{n-2} = (E_x^2 + E_x + 1)x_n \tag{7.19}$$

etc., hacia atrás hasta llegar a la alimentación (etapa 1), en que tendremos un total de n = N etapas. Sumando la serie (serie geométrica de razón E_x), se obtiene:

$$x_F = (E_x^N + ... + E_x^2 + E_x + 1)x_N = \left(\frac{E_x^{N+1} - 1}{E_x - 1}\right)x_N \tag{7.20}$$

Esta ecuación nos da la relación entre el número de etapas ideales, N; la fracción residual de soluto, x_N/x_F, y el factor de extracción, E_x. Esta expresión recibe el nombre de *ecuación de Kremser*, que podemos escribir como:

$$\frac{x_N}{x_F} = \frac{E_x - 1}{E_x^{N+1} - 1} \tag{7.21}$$

de donde, despejando N+1, tendremos:

$$N + 1 = \frac{\log\left[\frac{x_F}{x_N}(E_x - 1) + 1\right]}{\log E_x} \tag{7.22}$$

con las condiciones $y_s = 0$ y $E_x = mS/F$, y m = constante. Casos particulares:

$$\frac{x_N}{x_F} = 1 - E_x \qquad E_x < 1,\ N > 1 \tag{7.23}$$

$$\frac{x_N}{x_F} = \frac{1}{N+1} \qquad E_x = 1 \tag{7.24}$$

La figura 7.12 izquierda da la ecuación de Kremser de forma gráfica: el valor de x_N/x_F en función de N, con E_x = constante, cuando y_s no valga 0; cuando se cumpla la ley de Henry,

$y = mx$, con m = constante, y se trate de soluciones diluidas. La figura 7.12 es útil para hacer cálculos rápidos. El factor E_x es equivalente al *factor de desorción* (1/A) de un soluto gaseoso contenido en un líquido en absorción de gases.

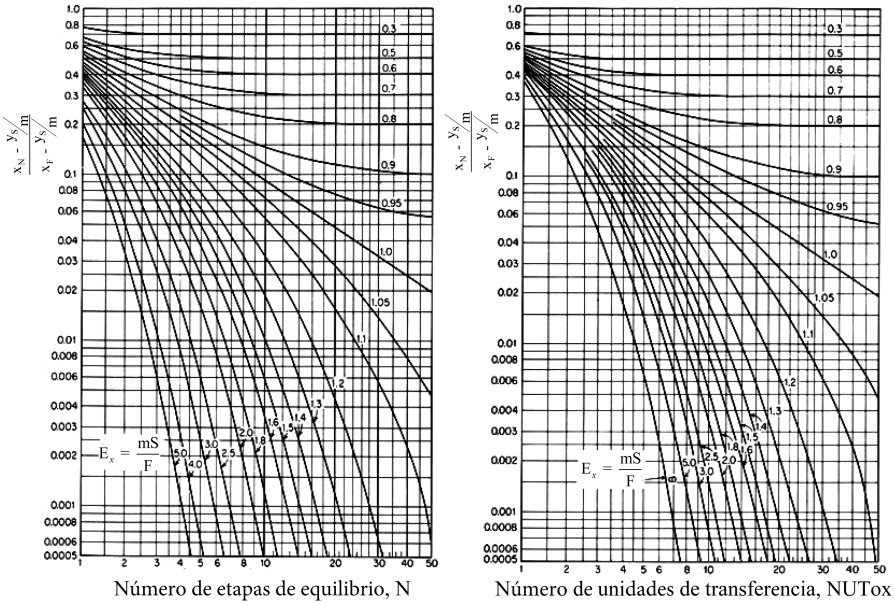


Fig. 7.12
A la izquierda, N, etapas ideales en serie a contracorriente (ecuación de Kremser, ec. 7.21). A la derecha, N es aquí el número de unidades de transferencia. Extracción por contacto diferencial (flujo de pistón). En ambos casos: factor de extracción E_x= mS/F, y = mx, m = constante. La fracción no extraída es x_N/x_F

7.4 Extracción de antibióticos, *pH swing* y extracción inversa o re-extracción

Hay bioproductos que tienen grupos de carboxilato en las condiciones de pH del caldo y, por tanto, su solubilidad en el solvente dependerá de la fracción del bioproducto que haya en forma no iónica. Ello ocurre con los aminoácidos, los péptidos y los antibióticos. Los aminoácidos y los péptidos tienen dos o tres pKs (pKa, pKb, etc.), correspondientes a los grupos terminales -COOH y $-NH_2$, y a los grupos iónicos de la cadena.

En el caso de la penicilina, su extracción está controlada por la ionización de la molécula en agua. Cuando se utiliza un solvente orgánico (p. ej., acetato de butilo como solvente), solo se podrá extraer la fracción no ionizada, mientras que la fracción ionizada de la penicilina tenderá a quedarse en el agua. De hecho, controlaremos la extracción ajustando el pH. Primero, extraemos en un medio ácido (con ácido sulfúrico, por debajo del pKa ~ 2 del antibiótico) con acetato de butilo como solvente, de forma rápida, para no destruir la molécula, en un extractor de contacto rápido (de unos pocos segundos). A continuación, para purificar la penicilina, hacemos un cambio de pH progresivo (*pH swing*) hasta 10-11 con sosa y conseguimos extraer el soluto en el agua de extracción. Este proceso de *pH swing* (o de giro de pH) y nueva extracción se denomina de e*xtracción inversa*. Este es el proceso que Shell desarrolló entre 1943 y 1949 (Souders *et al*., 1970), plasmado en diversas patentes. La gracia del proceso es que deja atrás los contaminantes durante la extracción. En la figura 7.13, se representa la constante de reparto *m* de las penicilinas F, G y K, junto con las impurezas del caldo (TX-1, TX-2, CX-1 y CX-2) determinadas por Souders *et al*. Como se puede observar, por debajo de pH = 2, la

constante de la penicilina G es muy favorable, m > 50, y se puede extraer desde pH = 2 hasta pH alcalino, con un gradiente de pH. En cambio, en los puntos de corte de las K de las impurezas con la de la penicilina G, no es posible liberarla de estas impurezas.

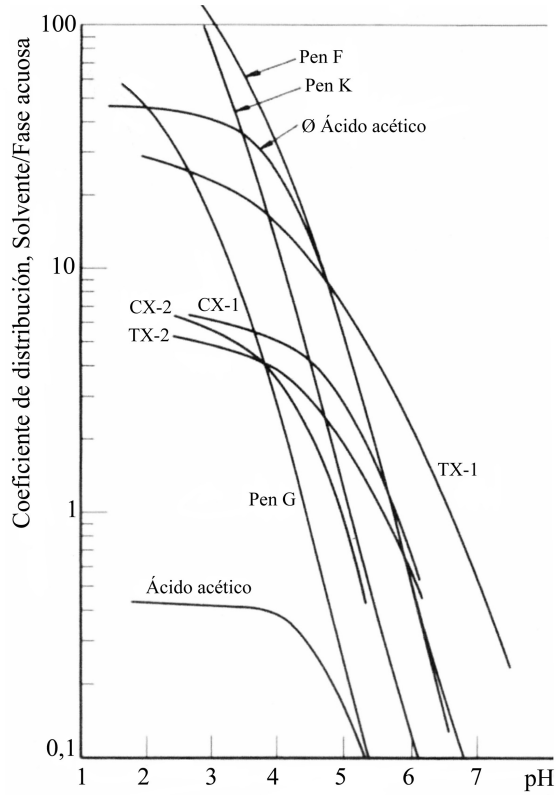


Fig. 7.13
Constante de distribución, m, para diferentes componentes de la extracción de penicilina. Fuente: Souders *et al.* (1960)

Aplicamos este proceso a la extracción de actinomicina D con acetato de butilo como solvente, en los ejemplos siguientes. Los coeficientes de reparto de la actinomicina son $m = 57$ (a pH = 3,5) y $m = 0,11$ (a pH = 6), que indica que se extrae bien en el solvente en un medio ácido, pero muy poco en un medio de pH = 6. Habrá que invertir m durante la reextracción.

Ejemplo 7.3. Primera extracción de un antibiótico con solvente

Una corriente de caldo de fermentación F = 450 L/h (pH = 3,5) contiene 260 mg/L de actinomicina D. Se quiere extraer con S = 37 L/h de acetato de butilo puro (S) y se quiere recuperar el 99 % del antibiótico. Calcula las etapas de equilibrio que serán necesarias y la concentración de antibiótico que habrá en el extracto de la salida. El coeficiente de reparto vale $m = 57$. Las condiciones serán:

$$x_F = 260 \quad x_N = 2,6$$

$$E_x = 57\frac{37}{450} = 4,68$$

$$N = \frac{\log\left[\frac{260}{2,6}(4,68-1)+1\right]}{\log 4,68} - 1 = 2,8$$

Calcula ahora la concentración de soluto en el extracto, y_1:

$$F(260-2,6) = S(y_1 - 0)$$

$$y_1 = \frac{450}{37}(260-2,6) = 3,13\, mg/L$$

Ejemplo 7.5. Purificación del antibiótico por reextracción con agua

El problema a resolver es el siguiente. Empleamos el mismo número de etapas ideales (eso no es crítico), pero utilizando el extracto siguiente como nueva alimentación, ahora a pH = 6,0 (37 L/h de concentración, 3,13 mg/L). Extraemos ahora con agua tamponada a pH = 6 como nuevo solvente de extracción. Denominamos S' la corriente de agua. Se desea calcular el caudal de agua con el fin de extraer un 95 % de la actinomicina D. El agua es ahora el solvente de extracción. La actinomicina acuosa resultante estará lista para cristalizar.

Denotamos la reextracción con agua utilizando primas. Las nuevas condiciones para el gráfico de Kremser serán:

$$F' = 37\, L/h$$
$$x'_F = 3,13\, mg/L$$
$$x'_N = 0,156$$
$$\frac{x'_N}{x'_F} = 0,05 \quad N = 2,8$$
$$m' = 1/0,11 = 9,01$$
$$E'_x \;\; (Fig\;\; 7.8) = 2,4 = 9,01\frac{S'}{F'}$$
$$S' = 9,85\, L/h$$

Extracción de proteínas con un solvente acuoso bifásico

Un desarrollo relativamente reciente es la extracción con una solución bifásica de dextrano 500 y PEG 6000, que forma dos fases acuosas inmiscibles. Así, determinadas proteínas se reparten en este medio bifásico. Los valores del coeficiente de reparto, *m*, dependen del pH y valen entre 2 y 3 para las sales (Blanch-Clark, 1989). Los polímeros también se reparten en las dos fases líquidas, de manera que las fases no tienen composición constante. Los casos propuestos por Belter *et al*. (1988) y Ghosh (2006) indican que no hay que hacer nada especial para el caso de los polímeros inmiscibles para calcular las extracciones. Dados el valor de *m* (v. tabla 7.1) para el sistema PEG-dextrano, todo se calcula igual utilizando el valor adecuado de *m*. En el apartado 7.7, se expone extensamente y con ejemplos la extracción con un solvente acuoso bifásico.

7.5 Extracción diferencial con contacto continuo

Obsérvese que se puede aplicar la teoría de la extracción con los mismos conceptos que la destilación binaria y la absorción de gases (salvo que ahora utilizamos fracciones en masa, en lugar de moles). En la figura 7.14, se representan las fracciones en contacto de la columna. La columna pone en contacto dos fases a contracorriente. Una fase circula *como fase continua* y la otra fase circula en *forma de gotas*. Evidentemente, la fase pesada circula de arriba abajo de la columna, y la fase ligera flota y las gotas corren hacia arriba de la torre, independientemente de que sea extracto o refinado. Generalmente, las gotas forman la fase dispersa y la transferencia de masa se realiza del líquido continuo a las gotas (c → d; x→y). En la figura 7.14 derecha), se ve cómo se ponen en contacto una fase de composición (x_i, y_i) y una fase de composición (x, y), que no están en equilibrio.

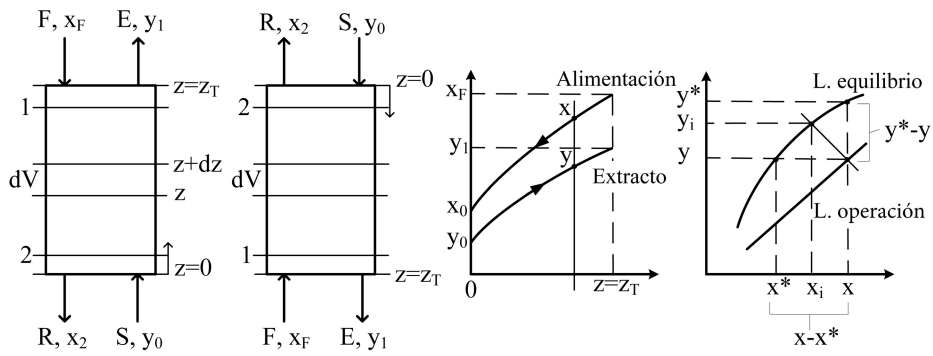


Fig. 7.14
De izquierda a derecha: (1) La alimentación es más pesada que el solvente. (2) El solvente es más pesado que la alimentación. 3) Las líneas de extracción y de solvente son análogas a las temperaturas en un intercambiador de calor. (4) Las fuerzas impulsoras globales (x-x*, y*-y) y parciales, x_i y_i representan un punto de la interfase L/L, y x y un punto de la columna.

7.5.1 Transferencia de masa

Utilizamos la teoría de la doble capa en la interfase y suponemos que en ella las fracciones están en equilibrio, es decir, que $y_i = m\, x_i$, y que el sistema está a régimen estacionario. Los perfiles de concentración de *y* y de *x*, a lo largo de la altura de la torre o de la coordenada $z = z_T$, son los de la figura 7.14, que muestra que la torre es análoga a un cambiador de calor, con un enriquecimiento de *y* (extracto) y una disminución de *x* de refinado. Se avanza otra hipótesis: las dos fases circulan en flujo de pistón. Como se cumple que $dx/dz > 0$ y $dy/dz > 0$, se obtendrán los perfiles de *x* y de *y* exponenciales de la figura 7.14, caso 3.

El flujo de transferencia de masa, se puede escribir en función de los coeficientes de película o bien de los coeficientes globales. Así pues (v. figura 14), aplicando la ecuación $x_i = y_i/m$ y eliminando las fracciones en la interfase x_i, se obtienen las ecuaciones siguientes de flujo de difusión:

$$(r''') = k_x(x - x_i) = k(y_i - y) \tag{7.25}$$

$$(r''') = (r''')a = K_x a(x - x^*) = K_y a(y^* - y) \tag{7.26}$$

donde:

$$\frac{1}{K_x a} = \frac{1}{k_x a} + \frac{1}{m k_y a}$$
$$\frac{1}{K_y a} = \frac{1}{k_y a} + \frac{m}{k_x a} \qquad (7.27)$$

$K_{x\ y}$ K_y son los coeficientes globales de transporte y sus inversos representan la suma de las resistencias individuales (v. fuerzas impulsoras globales y parciales en la figura 7.14). Las unidades de (r") serán kg/s/ por m^2 de interfase y por unidad de Δx. Como *a* representa el área específica de contacto entre las gotas y la fase continua por m^3 de contactor, *(r'')a* será el flujo de difusión volumétrico, en kg/(s m^3)/ Δx. Podemos calcular por integración la altura necesaria de torre a partir de cualquiera de las dos igualdades de la ecuación (r")a. Preferimos operar con $K_x a$, por analogía con un intercambiador de calor y con la desorción.

7.5.2 Balance de masa en un *dz* de torre

Tomamos el fondo de la torre como origen z = 0 (v. fig. 7.14 para la torre de la figura). Se cumple que dV = Adz, siendo A la sección transversal. El balance de soluto, en estado estacionario, para una rebanada dz, será:

$$0 = R dx - K_x a (x - x^*) A dz \qquad (7.28)$$

Denominamos punto 1 al punto de entrada de la alimentación F (v. fig. 7.14). Si F es el fluido más denso, tendremos el fondo de la torre (punto 2), en que se cumplirá:

$$z = 0,\ x = x_{0,}\ y = y_0 \qquad (7.29)$$

y en la cúspide de la torre (punto 1):

$$z = z_T,\ x = x_{F,}\ y = y_1 \qquad (7.30)$$

Despejando dz de la ecuación 7.28 e integrándola entre el fondo (z = 0) y la cúspide de la torre ($z = z_T$), tendremos:

$$z_T = \int_0^{z_T} dz = \frac{R/A}{K_x a} \int_{x_0}^{x_F} \frac{dx}{x - x^*} = HTU_x \times NTU_{Ox} \qquad (7.31)$$

donde se definen los valores siguientes:

$$HTU_x = \frac{R/A}{K_x a} \qquad (7.32$$

$$NTU_{Ox} = \int_{x_0}^{x} \frac{dx}{x - x^*} \qquad (7.33)$$

HTU tiene dimensiones de longitud y representa la *altura de la unidad de transferencia* (*height of a transfer unit*), y NTU, que no tiene unidades, representa el *número de unidades de transferencia*. Podemos calcular, pues, la altura de la torre, estimando HTU y NTU. Los sufijos Ox significan: O = global, x = lado refinado.

7.5.3 Cálculo de NTU_{Ox}

Este cálculo es importante porque nos da el número de etapas ideales del diseño y se halla resolviendo la integral de la ecuación anterior (ec. 7.33). Para resolver la integral, utilizamos la línea de operación de la columna, ya que x* requiere este dato. Nos referimos a la figura 7.14. La línea de operación en función de los datos del fondo de la torre será:

$$y = \frac{F}{S}(x - x_0) + y_0 \tag{7.34}$$

Y la expresión de *x*-*x** para insertar en el denominador de la integral de la NTU, valdrá:

$$x - x^* = x_0 + \frac{S}{F}y - \frac{y}{m} = qy + x_0 \tag{7.35}$$

donde el parámetro q vale $q = S/F - 1/m$. La integral (ec. 7.33), se transforma en la expresión siguiente:

$$N_{Ox} = \int_{x_0}^{x} \frac{dx}{qy + x_0} \tag{7.36}$$

que se puede integrar haciendo el cambio de variables de *x* a *y*, en la ecuación 7.36, junto con:

$$dy/dz = (F/S)\,dx/dz \tag{7.37}$$

Esta expresión permite encontrar los límites de y de la integral y de dx en función de dy. Para flujo de pistón de las fases E y R, en contacto diferencial, el valor del número de unidades de transferencia que se obtiene integrando, resulta ser:

$$N_{Ox} = \frac{E_x}{E_x - 1}\ln\left[\frac{x_F - y_1/m}{x_2 - y_2/m} \times \left(1 - \frac{1}{E_x}\right) + \frac{1}{E_x}\right] \quad si\ E_x \neq 1 \tag{7.38}$$

o bien:

$$N_{Ox} = \frac{x_F - y_1/m}{x_2 - y_2/m} - 1 \quad \text{si } E_x = 1 \tag{7.39}$$

Si utilizamos solvente puro, $y_2 = y_s = 0$; si, además, se especifica la recuperación de soluto en forma porcentual, $f = (x_F - x_2)/x_F$, el valor de x_2 en función de f vale $x_2 = x_F(1 - f)$. Entonces, $y_1 = f\,(F/S)\,x_F$.

7.5.4 El extractor como un intercambiador de calor (v. figura 7.14)

Para disoluciones diluidas, si se aplica la ley de Henry. Utilizando los valores medios logarítmicos, ml, tendremos (Treybal, 1981):

$$N_{Ox} = \frac{x_1 - x_2}{(x - x^*)_{ml}} \tag{7.40}$$

$$N_{Oy} = \frac{y_1 - y_2}{(y^* - y)_{ml}} \tag{7.41}$$

siendo el punto 1 la cúspide de la torre (condiciones de entrada de F) y el punto 2 el fondo de la misma, donde z = 0. Entonces, el cálculo del extractor se hará a partir de la ecuación siguiente, es decir, como un intercambiador de calor. Así:

$$R(x_1 - x_2) = E(y_1 - y_2) = K_x a A z_T (x - x^*)_{ml} = K_y a A z_t (y^* - y)_{ml} \tag{7.42}$$

Conocido un coeficiente global, por ejemplo, $K_x a$, y sabiendo las fracciones de refinado, x_1 y x_2, se determina la media logarítmica de la fuerza impulsora. Escogida una sección A adecuada, de la ecuación anterior se puede despejar la altura de la torre, z_T.

Atención: Si el solvente es más denso que la alimentación, entrará por la cúspide de la torre, y la alimentación, F, entrará por el fondo. Así pues, los puntos de entrada de solvente y de salida de extracto sean 2 y 1, respectivamente (con el origen de z si estuviera colocado arriba, z = 0). Compárense las dos figuras de la izquierda de la figura 7.14.

Ejemplo 7.4. Extracción de esteroides con solvente clorado

Tenemos una columna de relleno de 61 cm de altura y 100 mm de diámetro interior. Bombeamos la alimentación (6,5 L/h) de solución acuosa de sitosterol por el fondo de la columna (densidad = 1.000 kg/m^3). El solvente es cloruro de metileno (densidad = 1.330 kg/m^3), que dosificamos desde arriba de la torre y que pasa a través del relleno a un caudal de 3 L/h a contracorriente descendente. Sabemos que el coeficiente de distribución vale *m* = 7,14; así pues, bastante favorable. En cambio, solo recuperamos el 53 % del esteroide, de modo que deberemos alargar la columna con más tramos. Queremos recuperar el 90 % del sitosterol utilizando los mismos caudales de solvente y alimentación.

1. Calcule el valor de $K_x a$ para los caudales de trabajo utilizados.
2. ¿En cuánto tendremos que alargar la columna para llegar al 90 % de recuperación?

Caudales y datos de arriba (2) y abajo (1) de la columna. El valor absoluto de x_F es desconocido; por tanto, para calcular las composiciones en los extremos, utilizamos las ecuaciones en función de f = 0,53.

Parte 1. Como la alimentación F entra por debajo, este será el punto 1, luego, $x_1 = x_F$. El punto 2 estará arriba de la torre, donde z = 0. Como utilizamos la fracción recuperada, utilizamos el valor de f = 0,53; así pues, x_2 = (1- 0,53) x_F = 0,47 x_F, de donde y = 0,53(6,5/4) x_F = 0,86 x_F. Además, y_2 = 0, solvente puro. Se tendrá:

$$f = 0,53$$
$$x_1 = x_F$$
$$x_2 = (1 - 0,53)x_F = 0,47x_F$$
$$y_1 = 0,86x_F$$

$y_2 = 0$

$d = 0,1m$

$A = \pi d^2/4 = 0,0078m^2$

$F = 6,5 \times 1 = 6,5\,kg/h$

$S = 3 \times 1,33 = 4\,kg/h$

$$E_x = mS/F = 7,14 \times \frac{4}{6,5} = 4,39$$

$$E_x/(E_x - 1) = 1,29$$

$$N_{Ox} = \frac{E_x}{E_x - 1} \ln \left[\frac{x_F - y_1/m}{x_2 - y_2/m} \times \left(1 - \frac{1}{E_x} \right) + \frac{1}{E_x} \right] =$$

$$1,29 \ln \left[\frac{x_F - 0,86x_F/7,14}{0,47x_F} \times \left(1 - \frac{1}{1,39} \right) + \frac{1}{4,39} \right] = 0,62 \text{ unidades}$$

El coeficiente global, para 0,61 m de altura de relleno, valdrá:

$$HTU \times NTU = \frac{6,5/0,0078}{K_x a} \times 0,62 = 0,61m$$

$$K_x a = 833\,kg/m^3\,h = 0,231\,kg/m^3\,s$$

La penúltima ecuación nos dice que la altura de la HTU no llega a 1,0 m, aproximadamente, lo cual explica que tengamos un rendimiento de extracción pequeño, aunque *m* sea favorable.

Parte 2. Alargaremos la columna por encima de 0,61 m. Si se mantienen los caudales constantes, se mantendrán el coeficiente de transporte de masa, E_x, y la HTU. Imponiendo ahora $x_F/x_2 = 10$, los NTU_{Ox} son proporcionales a las alturas de relleno:

$$\frac{z_1}{z_2} = \frac{HTU \times N_{Ox_1}}{HTU \times N_{Ox_2}} = \frac{N_{Ox_1}}{N_{Ox_2}}$$

$$\frac{z_2}{0,61} = \frac{\ln\left[10 \times (1 - 1/4,39) + (1/4,39)\right]}{0,62} = \frac{\ln 8}{0,62} = 2,08$$

$$z_2 \approx 2m$$

La columna se tiene que alargar hasta 2,1 m.

7.6 Cálculo y selección de columnas industriales

7.6.1 Altura equivalente a un plato teórico (o HETS)

Se designa por HETS (*height equivalent to a theoretical stage*) la altura de un tramo de columna que se comporta como un plato o etapa de equilibrio, y se expresa en metros. Y su inverso, 1/HETS, indica cuántos platos ideales tiene la columna por metro de altura. Esta es la medida industrial más utilizada (igual que en destilación y absorción, la HETP) de la eficacia de la columna. Si una columna tiene una HETS = 0,2 m (es decir, 5 etapas/m), es bastante buena. Cuanto más pequeña es la HETS, más eficiente es la torre.

Para calcular la altura de la torre, hay que hacer, pues:

$$z_T = N \times HETS \tag{7.43}$$

siendo N el número de etapas ideales para hacer la separación y HETS la altura de la etapa teórica del extractor considerado. Ello indica que el valor de HETS, para los diferentes extractores, es un dato de diseño importante. Es evidente que la HETS será similar a la HTU_{Ox} siempre que el flujo sea de pistón y siempre que E_x sea moderado. Así, en caso de dispersión axial nula de las fases, la equivalencia aproximada es la siguiente:

$$HETS = \frac{\ln E_x}{E_x - 1} \times HTU_{Ox} \approx 0,7 \times HTU_{Ox} \tag{7.44}$$

para E_x = 1,5-3. Por tanto, si tenemos correlaciones de transferencia de masa que permitan calcular la HTU, podremos estimar el valor de la HETS con la ec (7.44).

7.6.2 Aparatos industriales de extracción

En esta sección, se muestran los tipos de aparatos y los caudales específicos que pueden tratar, y se explica cómo seleccionar un aparato industrial a partir de los datos de planta piloto.

Se han utilizado muchos tipos de contactores que aportan gran superficie de contacto entre las fases a extraer. Estos se dividen en dos categorías principales: contactores por etapas y aparatos de contacto diferencial. La división siguiente es debida a Fair *et al*. (1982). Muchos contactores por etapas tienen forma de columna y son, de hecho, tramos integrados por elementos mezclador-sedimentador en serie (v. fig. 7.2).

Fair *et al*. (1982) proporcionan otra característica. Estos autores indican si el modelo es patentado o es libre para ser diseñado y utilizado comercialmente. Esta distinción es importante, considerando el desarrollo de la ingeniería en el sector y la gran cantidad de datos de diseño que se encuentran en la literatura. La figura 7.15 muestra un esquema de los extractores no patentados: de pulverización, de relleno y de platos perforados, los cuales pueden funcionar sin pulsación o con pulsación (ya sea de toda la columna de líquido o mediante pulsos de aire comprimido). El diseño de estos extractores de platos

perforados o mezcladores-sedimentadores puede encontrarse en Treybal (1980) y es totalmente fiable. En la tabla 7.3, se dan por separado los diferentes contactores que se deben considerar. En la figura 7.15, se dan esquemas de los extractores patentados: Scheibel, RDC (contactor de discos rotativos), Karr, Oldshue-Rushton y Kühni, que tienen movimiento de rotación de los agitadores del eje, y alguno de ellos (p. ej., el extractor Karr) tiene un movimiento alternativo de los platos.

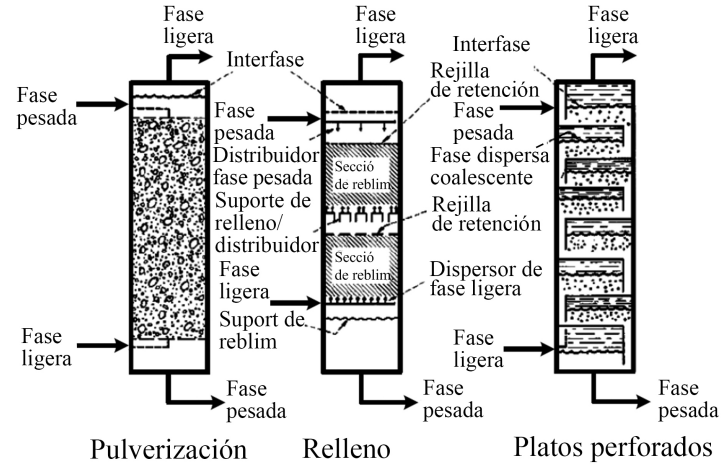
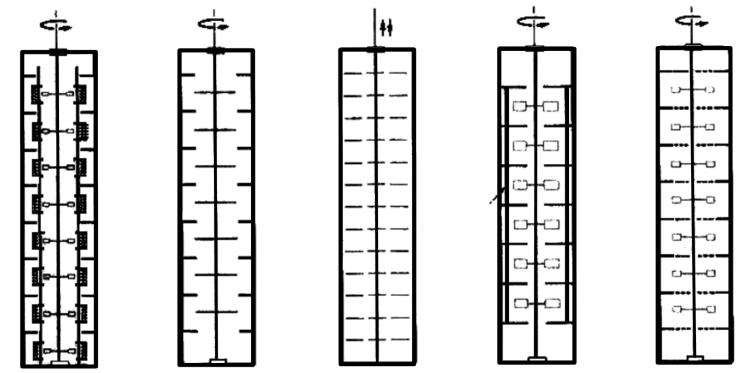


Fig. 7.15
Extractores industriales. Los de la figura superior son libres para diseñar e instalar. Los de la figura inferior son patentados



En la figura 7.16 (Stichlmaier, 1982; Sulzer, 1982) y en la tabla 7.2, se recogen los datos de platos teóricos por metro frente del caudal específico total B = (F+S), en m/h. En el gráfico, se observa la bondad relativa de los aparatos. Los aparatos agitados están en la zona de 5-6 platos/m, pero con cargas de líquido de no más de B = 40 m/h. Estos son los extractores más utilizados en biotecnología industrial.

Tabla 7.2
Extractores industriales

Contactores por etapas	Extractores de contacto diferencial
1. Columna de platos	1. Columna de gotas (pulverización)
2. C. de platos perforados (pulsos o no)	2. Columna de bafles
3. Mesclador-sedimentador	3. Columna de relleno
4. Mezclador-sedimentador (pulsos)	4. Discos giratorios (RDC)
5. Columna de Scheibel	5. Columna de relleno (pulsación fluido o aire)
6. RDC asimétrico	6. Oldshue-Rushton
7. Treybal	7. Graesser
8. Relleno estructurado SMVP Sulzer	8. E. centrífugos Alfa Laval, Podbielniak, Robatel

Para instalaciones de gran capacidad, con caudales de B > 100 m/h, hay que renunciar a muchos platos teóricos (p. ej., v. Sulzer SMVP, B= 150 m/h), es decir, con capacidad para acomodar grandes caudales (v. fig. 7.16).

Tabla 7.3
HETS y capacidad de los extractores piloto.
Fuente: Stichlmaier y Sulzer (1982)

Extractor	Número de platos ideales por metro, 1/m	Caudal total, B (F+S), en m^3/m^2h
Columna de relleno	de 1, 5 en 2,5	de 12 a 30
Columna de relleno pulsada	de 3,5 a 6	de 17 a 23
Columna de platos perforados	de 0,8 a 1,2	de 27 a 60
Columna de platos perforados pulsada	de 0,8 a 1,2	de 25 a 35
Scheibel	de 5 a 9	de 10 a 14
Contactor de discos giratorios (RDC)	de 2,5 a 3, 5	de 15 a 30
Kühni	de 5 a 8	de 8 a 12
Karr	de 3,5 a 7	de 30 a 40
Contactor de celdas agitadas (RZS)	de 6 a 12	de 1 a 2
Graesser	de 9 a 10	de 1 a 2
Mezclador-sedimentador	hasta 15	hasta 10
Relleno estructurado SMVP	de 1 a 4	de 50 a 90

Sistema acetona/tolueno/agua, E_x = 1, sentido de difusión c (x) → d(y), DN columna 50-150 mm

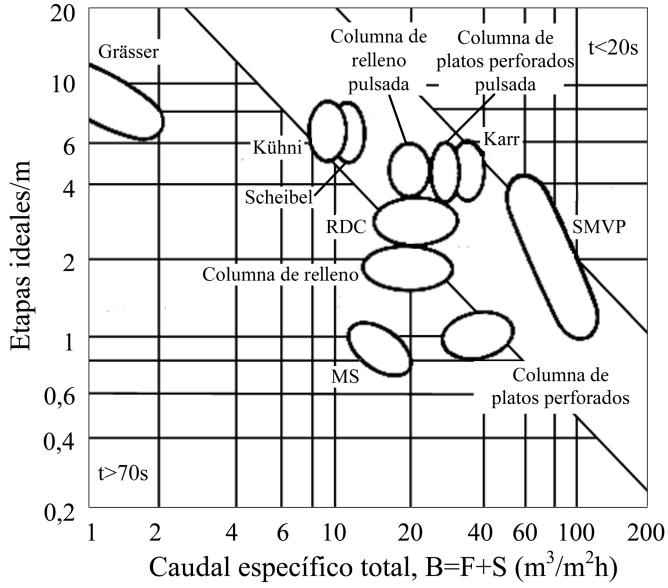


Fig. 7.16
Extractores de planta piloto hasta 100 mm de diámetro. Valores de N/Z y valores del caudal específico global, B m/h. Fuente: Stichlmaier y Sulzer SMVP)

Es interesante utilizar la experiencia de la planta piloto para extrapolar un extractor convencional. La marca QVF da la posibilidad de ensayar con cuatro extractores a escala de 100 mm de diámetro (DN100) y poder especificar el aparato industrial. Asimismo, Sulzer hace algo similar, pero basándose en una planta piloto de DN100 con rellenos ordenados de tipo SMV o SMVP. En la planta piloto de ingeniería química de la UPC, se dispone de una columna de relleno de DN75 y unos 2 m de anillos Raschig (1×1 cm), capaz de unos 5 platos/m, con un sistema de pulsación de aire (sistema de agua/acetona/acetato de etilo) que va muy bien para estudios de este tipo. Estos ensayos son básicos para probar un solvente, determinar los métodos analíticos, y determinar el valor de *m* y el factor E_x, estudiar la eficacia y los caudales, y planificar la logística de recipientes auxiliares. Una columna de DN100, con una B combinada = 50 m^3/m^2h, necesita manejar unos caudales de 500 L/h de líquidos, que se tienen que recoger en 4-5 recipientes de 50 L empleando varias bombas (Rauber, 2004).

Proporcionamos un ejemplo de cómo especificar un aparato Karr en biotecnología, basándonos en el número N y el rendimiento del laboratorio, y una ecuación de diseño del extractor Karr (v. Fair *et al*., 1982). Este tipo de extractor (junto con el de celdas agitadas, RZE) es uno de los más utilizados en biotecnología en la Unión Europea y en los Estados Unidos. Utilizamos la ecuación 7.45, que relaciona la HETS con la altura y el diámetro de la columna. De todos modos, en la figura 7.17, se muestra un árbol de decisión para seleccionar fisicamente el extractor que más conviene a nuestra planta, dadas las condiciones de superficie y altura de techo disponibles, considerando el número de platos de equilibrio requeridos. Son interesantes los catálogos comerciales, ya que se pueden emplear unidades de vidrio con diámetros de torre de hasta DN600 mm.

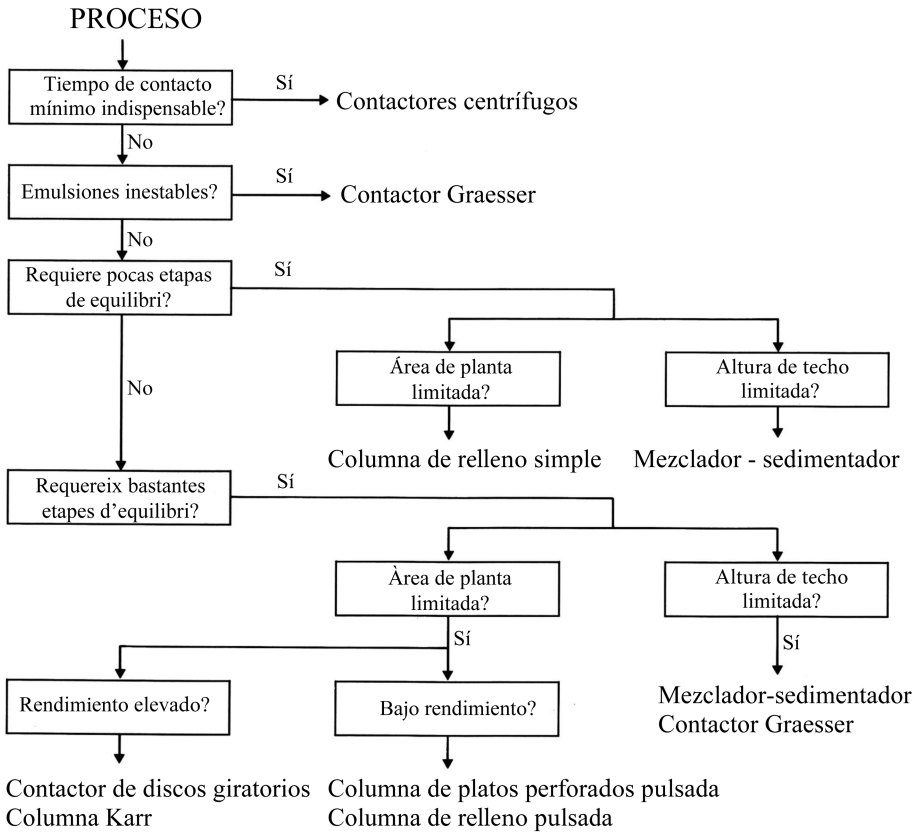


Fig. 7.17
Árbol de decisión para escoger un extractor de producción para una planta tipo (QFV)

7.6.3 Especificación de un extractor industrial y cambio de escala

El problema se resume del modo siguiente: queremos especificar un extractor Karr (diámetro, altura de relleno, frecuencia de pulsos) para una extracción de 150 m^3 de caldo a tratar en 12 horas. El bioproducto es un antibiótico y el solvente es acetato de amilo. Los balances de la operación se basarán en los datos a escala reducida, obtenidos en un aparato Karr a escala piloto. Pretendemos recuperar el 97 % del antibiótico alimentado.

Los criterios de cambio de escala que hay que respetar serán (el subíndice 2 indica la columna grande y el 1, la pequeña de laboratorio):

- Manteniendo constante el caudal específico total, B, calcula el diámetro de la columna D_2.
- Calcula HETS para el grande y el pequeño.
- Calcula la frecuencia de pulsación del grande.
- Especifica sus dimensiones principales.

Las reglas de cambio de escala dadas por Fair *et al*. (1982) para un extractor Karr son:

$$\frac{HETS_2}{HETS_1} = \left(\frac{D_2}{D_1}\right)^{0,38} \tag{7.45}$$

$$\frac{Freq_2}{Freq_1} = \left(\frac{D_1}{D_2}\right)^{0,14} \tag{7.46}$$

Ejemplo 7.6. Cambio de escala de un extractor piloto

Datos de extracción en el laboratorio: aparato Karr de la firma Corning de DN 25,4 mm (1), altura efectiva de 1,83 m. Caudales alimentados: acetato de amilo de 91,9 g/min (105 cm^3/min) como solvente y caldo de fermentación de 70 g/min (70 cm^3/min). La frecuencia de la columna de laboratorio era de 280 pulsos/min. La recuperación es del 97 %. El coeficiente de reparto vale m = 7,5. La alimentación es muy diluida en el antibiótico.

Pruebas de laboratorio. Calculamos N_1 (número de platos teóricos en aparato pequeño):

$$S = 91,9\,g/\text{min}; \qquad F = 70\,g/\text{min}$$

$$E_x = mS/F = \frac{7,5 \times 91,9}{70} = 9,84$$

Para calcular el número de platos N, aplicamos Kremser:

$$N = \frac{\log\left[\frac{x_F}{x_N}(E_x - 1) + 1\right]}{\log E_x} = \frac{\log\left[\frac{1}{0,07}(9,84 - 1) + 1\right]}{\log 9,84} - 1 = 1,11$$

Para el extractor de laboratorio:

$$HETS_1 = Z_1 / N_1 = \frac{1,83}{1,11} = 1,64\text{m/plato}$$

Con respecto al caudal específico, B, valdrá:

$$B = \frac{F + S}{\text{Sección}} = \frac{70 + 105}{\pi\left(2,5^2\right)/4} = 35,7\text{cm/min} = 21,4\text{m/h}$$

$$\text{Sección} = \frac{30,2}{21,4} = 1,41\text{m}^2$$

$$D_2 = 1,34\text{m}$$

$$Z_2 = N \times HETS_2 = 1,11 \times 7,40 = 8,21\text{m}$$

Cálculo de la columna industrial

Caudal volumétrico total a tratar: caldo F = 12,5 m^3/h, solvente S = (105/70) 12,5 = 18,7 m^3/h, Q total = 30,2 m^3/h. Para acomodar este caudal, necesitamos una sección de columna bastante grande:

$$\text{Sección} = \frac{30,2}{21,4} = 1,41\text{m}^2$$

$$D_2 = 1,34\text{m}$$

Veamos el HETS y los pulsos/min. Aplicamos las ecuaciones 7.45 y 7.46:

$$\frac{HETS_2}{HETS_1} = \left(\frac{D_1}{D_2}\right)^{0,38}$$

$$HETS_2 = 1,64 \times (134 / 2,54)^{0,38} = 7,40\text{m/plato}$$

$$\frac{Freq_2}{Freq_1} = \left(\frac{D_1}{D_2}\right)^{0,14}$$

$$Freq_2 = 280(2,54/134)^{0,14} = 160 \ \ impulsos/\text{min}$$

La columna grande opera con el mismo porcentaje de recuperación (97 %) y el mismo valor de E_x; por tanto, deberá tener el mismo número de platos teóricos. Así pues, N_2 = 1,11.

$$Z_2 = N_2 \times HETS_2 = 1,11 \times 7,40 = 8,12m$$

La columna Karr industrial será de 8,12 m de altura efectiva y 1,34 m de diámetro interior, y operará a 160 impulsos/min. Se trata de un aparato bastante grande.

7.7 Extracción con un solvente acuoso bifásico

Un desarrollo reciente (entre 1970 y 1986) es la extracción con una solución acuosa de polietilenglicol (PEG) y dextrano que se separa en dos fases acuosas inmiscibles. La superior es rica en PEG y la inferior es rica en dextrano. Las proteínas –o también el ADN– que contienen impurezas, se reparten en este medio bifásico pasando a la fase superior rica en PEG. La constante de reparto de la biomolécula, K, varía entre 0,1 y 10, (v. tabla 7.1). En general, para extraer una proteína en una sola etapa, se necesita una constante de reparto de K = 3 o superior. Los polímeros PEG y dextrano también se distribuyen en las dos fases; así pues, no son éstas de composición constante (v. párrafo 7.7.1 y ejemplos 7.5 y 7.6). La separación de fases inmiscibles se produce espontáneamente *aunque no haya biopolímero*. Cuando se añade biopolímero impuro, este pasa

generalmente a la fase superior (extracto), y los residuos celulares y otras impurezas pasan a la fase inferior (refinado). El PEG y el dextrano son polímeros no iónicos, si bien en algunos casos están basados en polielectrolitos aniónicos o sales. En general, pues, las biomoléculas tienen afinidad por el PEG, y las impurezas quedan en la fase de dextrano o salina.

Las características de los sistemas acuosos bifásicos son: (1) el sistema se genera *in situ*; (2) se evita así el contacto de la biomolécula con solventes orgánicos, a menudo indeseable; (3) se necesita un tiempo de contacto y de separación de las fases algo más largo que con un solvente orgánico; (4) la fase PEG con proteína presenta alguna dificultad para ser liberada después de la extracción y necesita operaciones adicionales (primero: sedimentación o centrifugación; después: ultrafiltración, reextracción, o GPC); (5) la operación con solvente acuoso se puede efectuar en el laboratorio, y extrapolar a la planta con facilidad.

Normalmente, hay sistemas acuosos formados por un sistema bifásico polímero-polímero, o formados por un polímero-sal o un polímero-polielectrolito. Como el dextrano es mucho más costoso que el PEG, se tiende a trabajar con sales o polielectrolitos, que son más económicos. Así, los sistemas inmiscibles usuales son:

- PEG + dextrano + agua (el más estudiado)
- Alcohol polivinílico (PVA) + dextrano + agua
- PEG + PVA + agua
- PEG + sulfato amónico + agua (muy utilizado)
- PEG + poliacrilato sódico + agua
- PEG + sulfato sódico + agua

en que el agua está a una concentración total de 60 a 80%. En la figura 7.18, se representa un sistema con PEG + poliacrilato sódico + sal, con cantidades variables de NaCl.

Primero, estudiaremos los balances de masa en la extracción acuosa, con ejemplos, y después estudiaremos el cálculo de las líneas de enlace y los balances del componente, con otro ejemplo.

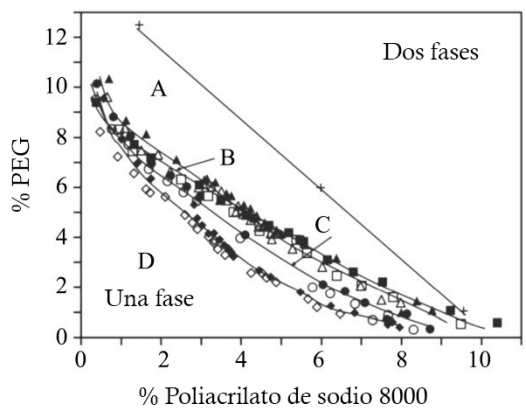


Fig. 7.18 Diagrama de fases en un sistema acuoso PEG-polielectrolito-sal (a 22ºC). Las curvas A, B y C corresponden a concentraciones de sal del 1, el 4 y el 6% NaCl, respectivamente. La recta corresponde al caso C

7.7.1 Balance de soluto en la extracción acuosa

Consideremos la constante de reparto del soluto A, definida como en la tabla 7.1, en concentraciones molares o en fracciones de masa, es decir:

$$K = \frac{C_{\text{sup}}}{C_{\text{inf}}} \quad \text{o bé} \quad K = \frac{y^{\text{sup}}}{x^{\text{inf}}} \tag{7.47}$$

donde C_{inf} y C_{sup} son las concentraciones del biopolímero o soluto A, en las fases superior e inferior en equilibrio. Generalmente, K = 3 o superior; por tanto, el soluto prefiere la fase superior. El valor de K se puede tomar como independiente de las concentraciones. En el estudio que sigue, utilizaremos fracciones de masa, como en la teoría de la extracción.

Considérese una etapa ideal con las corrientes siguientes. Para el componente A (afín a la fase PEG y, por tanto, K > 1), tendremos:

Alimentación: F kg/s, a concentración de biopolímero, x_F kg/kg

Solvente: Polímeros + sal+ agua = S kg/s (con y_s= 0)

Corrientes de salida:

Extracto: E kg/s, fracción de soluto y_1 y

Refinado: R, fracción x_1

Recuérdese que E y R salen en equilibrio con respecto al soluto.

Ecuaciones de balance y de equilibrio

Caso 1. K > 1, A es extraído a la fase superior en una etapa ideal. Queremos calcular el valor máximo de la recuperación en una extracción acuosa bifásica. En estado estacionario, se cumplen las relaciones siguientes (el solvente S no contiene A):

$$F + S = E + R \tag{7.48a}$$

$$Fx_F + 0 = Ey_1^{\text{sup}} + Rx_1^{\text{inf}} \tag{4.78b}$$

$$K = \frac{y_1^{\text{sup}}}{x_1^{inf}} \tag{7.48c}$$

$$\text{Recup, max} = \frac{Ey_1^{\text{sup}}}{Fx_F} \tag{7.48d}$$

Expresando la recuperación en función de los caudales de salida E y R, y K, la recuperación máxima de A en una etapa valdrá:

$$\text{Recup, max} = \frac{Ey_1^{\text{sup}}}{Fx_F} = \frac{E}{E + R/K} \tag{7.49}$$

Dividiendo el numerador y el denominador de esta expresión por E, se ve que depende solo de la relación de fases E/R utilizada y de K.

Caso 2. El soluto A (K < 1) tiende a ir a la fase inferior (refinado). Con un razonamiento similar, resulta que la máxima recuperación de A, para una etapa ideal, valdrá:

$$\text{Recup, max} = \frac{Ex_1^{\text{inf}}}{Fx_F} = \frac{E}{E + R/K} \tag{7.50}$$

Véase el ejemplo siguiente, que describe cómo se realiza la extracción en una etapa.

Ejemplo 7.7. Purificación de una enzima por extracción con solvente acuoso

Queremos extraer la enzima leucina-deshidrogenasa de 150 L de un homogeneizado de *Bacillus cereus*, utilizando un solvente acuoso de PEG-sal. La actividad de la enzima en la alimentación vale x_F = 3,2 unidades U/mL. Se añade la mezcla de PEG-sal en agua y se forman dos fases acuosas. La constante de reparto de la enzima vale K = 3,5.

a) Calcúlese la relación de fases superior e inferior E/R necesaria para conseguir una recuperación del 80 % de la enzima en una etapa.

b) Si el volumen de la fase inferior (R) es de 100 L, calcúlese el factor de concentración o de enriquecimiento, definido como y_1^{sup}/x_F, que se alcanzará cuando la recuperación sea del 80 %.

Resolución: En este problema, K > 1.

a) La ecuación 7.49 nos da la recuperación máxima en una etapa:

de donde obtenemos un valor E/R = 1,14.

b) El volumen de la fase inferior vale R = 100 L. Tenemos que calcular el factor de concentración y_1^{sup}/x_F, cuando la recuperación es del 80 %. Disponemos de estas ecuaciones:

$$\frac{Ey_1^{\text{sup}}}{Fx_F} = 0,8$$

$$F + S = E + R = 1,114R + R = 2,14 \times 100 = 214$$

$$F = 150L$$

$$E = 1,14 \times 100 = 114L$$

$$\frac{y_1^{\text{sup}}}{x_F} = 0,8 \times 150 / 114 = 1,31$$

de donde:

$$y_1^{\text{sup}} = 1,31 \times x_F' = 1,31, \times 3,2 = 4,2 \text{ U/mL}$$

$$x_1^{\text{inf}} = 4,2 / 3,5 = 1,2 \text{ U/mL}$$

El factor de concentración vale, pues, 1,31, y las *x* e *y* que salen en equilibrio son 1,2 y 4,2 U/mL en las fases inferior y superior, respectivamente.

7.7.2 Líneas de enlace en un solvente bifásico

Ya hemos dicho que un sistema bifásico se separa en dos fases, Sup. e Inf., como se muestra en la línea de enlace de la figura 7.19. Queremos calcular ahora la relación de pesos de ambas fases, que se producen al separarse una alimentación F. Sea M el peso total. Se cumplirán las relaciones siguientes:

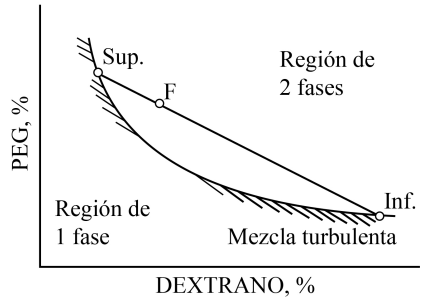


Fig. 7.19 Diagrama esquemático de la separación en el sistema PEG-dextrano. El límite de las fases está rayado en la línea de coexistencia. La línea de enlace pasa por F (alimentación), Inf. (inferior, fase densa) y Sup. (superior, fase ligera)

$$\begin{aligned} M &= M_s + M_i \\ Mx_F &= M_s x_s + M_i x_i \\ M_i(x_i - x_F) &= M_s(x_F - x_s) \end{aligned} \qquad (7.52)$$

donde las distintas x están definidas en la figura 7.20 de forma esquemática. La relación de masas de las fases Sup. e Inf. valdrá:

$$\frac{Ms}{Mi} = \frac{x_i - x_F}{x_F - x_s} = \frac{a}{b} \qquad (7.53)$$

donde a y b son los segmentos que se señalan en el eje de las abscisas. Obsérvese que las cantidades de Sup. e Inf. *no cumplen la regla de la palanca normal* sino una que ahora es *inversa*.

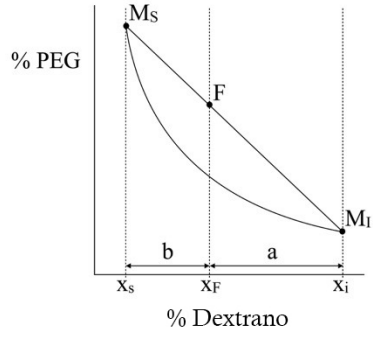


Fig. 7.20 Relaciones entre las masas de la fase inferior, superior, y la alimentación (v. ec. 7.52 y 7.53)

Algunos autores hacen el razonamiento siguiente que resulta útil para localizar F analíticamente. Si extraemos con un solvente que contiene una relación en pesos de PEG y dextrano definida, por ejemplo, y /x = m, se cumplirá que F tiene que estar sobre dos rectas: la línea de enlace y la recta y = mx, de donde se deduce que tiene que estar en la intersección de ambas rectas (v. ejemplos 7.7 y 7.8).

Ejemplo 7.8. Purificación de lisozima: cálculo de las líneas de enlace con el sistema PEG-sal-agua

Los datos experimentales del sistema *sin la enzima* producen las composiciones siguientes de las fases acuosas en equilibrio (a 20ºC):

Componentes	Fase superior, rica en PEG (% peso)	Fase inferior, rica en Na_2SO_4 (% peso)
PEG 3000	40	0,6
Na_2SO_4	1	18
Agua	59	81,4

Datos experimentales de fases en equilibrio *sin enzima*

1. Calcúlese analíticamente la ecuación de la línea de enlace en un sistema de coordenadas cartesianas indicando las coordenadas (x, y) de las fases Sup. e Inf. (S, I).

Sobre el plano x, y, los puntos que representan las fases S e I, en forma (x, y), son los siguientes: S (1, 40) e I (18, 1), de manera que la pendiente de la recta que pasa por estos puntos es negativa y vale:

$$p = \frac{y - y_0}{x - x_0} = \frac{0,6 - 40}{18 - 1} = -2,317$$

La ecuación de la recta de enlace será, pues:

$$y = 42,317 - 2,317x$$

Ejemplo 7.9. Extracción de lisozima con el solvente acuoso PEG 3.000-Na_2SO_4-agua. Cálculo del reparto de la lisozima y de los polímeros

Considérese ahora la extracción de lisozima L contenida en un caldo homogeneizado con el solvente acuoso del ejemplo anterior (7.7). Obsérvese que la sal se adiciona inicialmente disuelta en el caldo, separadamente del PEG, a fin de no provocar una precipitación indebida:

Alimentación F (lisozima L = 5 kg/h + 40 kg/h de impureza + 190 kg/h de Na_2SO_4, en 800 kg/h de agua)

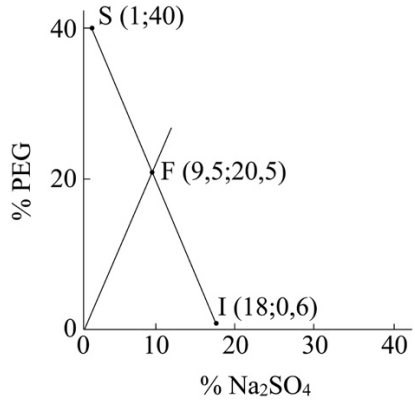
Solvente S (406 kg/h de PEG en 604 kg/h de agua)

a) Sobre el plano x, y, encuéntrese la línea de enlace, el punto que representa la alimentación y la composición de las fases S e I, suponiendo que es la línea de enlace calculada en el problema 7.7.

Con el fin de determinar la posición de la alimentación, obsérvese que esta tiene una relación poliglicol/sal que se puede calcular de la tabla. Valdrá PEG/sal = 406/190 = 2,1368. Así pues, para localizar F, tenemos que hallar la intersección de las rectas siguientes:

$$y = 42{,}317 - 2{,}317x$$
$$y = 2{,}1368x$$

Resolviendo, obtenemos x_F = 9,5 y y_F = 20,5, de modo que la representación sobre el plano *x*, *y* será:



b) Supongamos ahora que la lisozima y las impurezas tienen unas constantes de reparto que valen K_L = 20 y K_{imp} = 2, respectivamente; por tanto, la lisozima L se extraerá a la fase superior S, junto con un poco de impureza, que tenderá a repartirse, pero una parte importante irá al extracto (ya que K_{imp} >1). Calcúlese la composición de las fases S e I. Y calcule también la fracción de L en la fase de extracto S.

Resolución

a) Teniendo en cuenta los datos de la alimentación y del solvente, tenemos la descomposición siguiente de corrientes (kg/h). Designemos por W, V, U y X, Y, Z las incógnitas, que escribimos en la tabla:

Componentes	**Alimentación**	**Solvente**	**Fase superior, S**	**Fase inferior, I**
Agua	814	604	W	X
Na_2SO_4	190	-	V	Y
PEG	-	406	U	Z
Lisozima	5	-		
Impurezas	40	-		
Total	1.049 kg/h	1.200 kg/h		

La línea de enlace nos da la composición de las fases en equilibrio para el *sistema sin enzima*. De momento, tenemos seis incógnitas, que son W, U, V, X, Y, Z. Además de las ecuaciones de conservación de PEG y de sal, que serán: PEG total = 406 kg/h y sal total = 190 kg/h. En resumidas cuentas, tenemos un sistema de seis ecuaciones con seis incógnitas:

$$U + Z = 406$$
$$V + Y = 190$$
$$\frac{U}{W + V + U} = 0,4$$
$$\frac{V}{W + V + U} = 0,01$$
$$\frac{Y}{X + Y + Z} = 0,18$$
$$\frac{Z}{X + Y + Z} = 0,006$$

Primero, linealizamos estas ecuaciones y después resolvemos el sistema de ecuaciones resultante. Así se obtienen los valores de los componentes: agua, PEG y sal en las dos fases, que señalamos en cursiva en la tabla que siguiente:

Componentes	Alimentación	Solvente	Fase superior, S	Fase inferior, I
Agua	814	604	*590*	*814*
Na_2SO_4	190	-	*10*	*180*
PEG	-	406	*400*	*6,0*
Lisozima	5	-	**4,73**	**0,27**
Impurezas	40	-	**26,8**	**13,2**
Total	1.049 kg/h	1.010 kg/h		

Veamos ahora cómo se reparten la lisozima y las impurezas a partir de sus constantes de distribución. Las constantes valen, para el lisozima, K_L = 20 L y, para las impurezas, K_{imp} = 2. Aplicamos la ecuación de Kremser (v. ec. 7.21) para el lisozima y para las impurezas.

Lisozima. Como el valor de S/F = 1.010/1.049 ~ 1, el factor de extracción de la lisozima valdrá $E_x = K_L$ S/F ~20 y, por tanto, la recuperación en una etapa ideal N = 1 valdrá:

$$\frac{x_1}{x_F} = \frac{E_x - 1}{E_x^{N+1} - 1} = \frac{20 - 1}{20^2 - 1} = 0,047$$
$$\frac{y_1}{x_F} = 1 - 0,047 = 0,953$$

Así pues, se extrae a la fase S el 95,3 % de la lisozima que entra en la alimentación:

Impureza: Análogamente, aplicando Kremser para las impurezas, K_{imp} = 2 y $E_{x\ imp}$ = 2 y, tomando N = 1, se obtiene:

$$\frac{x'_{imp}}{x'_{Fimp}} = \frac{E_x - 1}{E_x^2 - 1} = \frac{2-1}{4-1} = 0,33$$

$$\frac{y'_{imp}}{x'_{Fimp}} = 1 - 0,33 = 0,67$$

Es decir, el 67 % de la impureza presente en F se va a la fase superior. Así pues, se obtendrán las cantidades que figuran **en negrita** en la tabla anterior. Veamos ahora el aumento de pureza que hemos realizado en una etapa de extracción. De la tabla anterior:

$$\text{Pureza de F} = \frac{5}{5+40} = 0,11\ (11\%)$$

$$\text{Pureza de E} = \frac{4,73}{4,73+26,8} = 0,15\ (15\%)$$

Por tanto, la extracción purifica la lisozima (15 % > 11 %). Serán necesarias más etapas de extracción para mejorar la pureza hasta el valor deseado.

7.8 Conclusiones

Se ha dado un tratamiento de la extracción en general. Primero, se han presentado los métodos gráficos para alimentaciones concentradas ($x_F \sim 0,1$-$0,5$) y, después, se han aplicado a las disoluciones diluidas ($x_F < 0,01$-$0,02$). Ambos tratamientos son útiles tanto para los estudiantes de ingeniería como para los de biotecnología.

El interés en biotecnología es grande para la extracción de antibióticos, ya que no conviene concentrar por evaporación antes de la extracción. Si se trata de fermentaciones que dan otros metabolitos de bajo PM (cetonas, alcoholes, glicoles, ácidos orgánicos, etc.) en concentraciones del 1-8 %, se recomienda evaporar antes de la extracción, hasta el 10-15%. Para enzimas, proteínas y antibióticos se tiene que proceder directamente a la extracción, ya que se puede desnaturalizar la proteína en la evaporación.

Se ha estudiado con cierta extensión la extracción con un solvente acuoso bifásico, utilizando los conceptos de la operación de extracción LL. Esta técnica se emplea cuando no se puede poner en contacto un metabolito o una biomolécula (proteína o ADN u otro) con un solvente orgánico. Las soluciones de polietilenglicol (PEG) y dextrano (o algunas sales o polielectrolitos) forman dos fases acuosas inmiscibles, que extraen selectivamente a la fase menos densa la biomolécula de interés.

7.9 Notación

a	Área específica de gotas, en m^2/m^3
A	Sección transversal de la columna, en m^2
D	Diámetro de la columna, en m^2
E	Caudal másico del extracto, en kg/s
E_x	Factor de extracción = mS/F
F	Caudal másico de alimentación, en kg/s
HTU_{Ox}	Altura de la unidad de transferencia global de refinado, en m
HETS	Altura equivalente de la etapa teórica, en m
k_x	Coeficiente de transferencia de masa individual del refinado, en $kg/m^2/s$
K_x	Coeficiente global de transferencia de masa, en $kg/m^2/s$
m	Coeficiente de reparto = y/x
N	Número de etapas de equilibrio de la separación
NTU_{ox}	Número de unidades de transferencia, lado refinado,
(r'')	Flujo de difusión, en $kg/m^2/s$
(r''')	Flujo de difusión volumétrico = (r'')a, en $kg/m^3/s$
R	Caudal másico de refinado, en kg/s
S	Caudal másico de solvente, en kg/s
x	Fracción másica de soluto en refinado
x_1, x_2	Fracción másica en la entrada y la salida de la columna
x_F	Fracción másica de soluto en la alimentación
x_N	Fracción másica en la salida de las etapas
y	Fracción másica de soluto en el extracto
z	Coordenada vertical de la columna, en m
z_T	Altura efectiva de la columna, en m

Adsorción

La adsorción es una operación de transferencia de masa en que un soluto disuelto en un fluido se transfiere a la superficie de un sólido poroso por el cual el soluto tiene afinidad. La solución de partida puede ser líquida o gaseosa. El proceso está controlado por el equilibrio de fases sólido-fluido, de forma que, a tiempo infinito, se alcanza el equilibrio termodinámico. Sin embargo, para un tiempo de contacto finito, la cantidad de soluto adsorbida por el sólido depende de la velocidad de transporte en la capa límite externa, de la velocidad de difusión intrapartícula (en los poros del sólido) y de la velocidad intrínseca de adsorción. La superficie del sólido adsorbente tiene centros activos con afinidad por el soluto. En un centro activo, la velocidad intrínseca de adsorción es, en general, reversible. Como la superficie interna del adsorbente es muy grande (de hasta 1.500 m^2/g), potencialmente hay una gran capacidad de capturar soluto (un 20 o 30 % del peso del adsorbente). El proceso inverso de la adsorción se denomina *desorción* y tiene lugar cuando una cantidad de adsorbente cargado de soluto se pone en contacto con un solvente libre de soluto.

La adsorción es la precondición para la catálisis heterogénea cuando el soluto o adsorbato, además, reacciona en el centro activo una vez adsorbido. La adsorción simple puede ser de dos tipos: fisisorción y quimisorción. La primera comporta una energía de activación y un calor de adsorción de magnitud similar al calor de condensación del soluto. En cambio, en la quimisorción, la energía es mucho mayor. Normalmente, los adsorbentes que se utilizan en la tecnología ambiental y en la biotecnología son inespecíficos. Más adelante, explicaremos los adsorbentes más específicos que se emplean en cromatografía.

El contacto del sólido con el fluido puede ser por suspensión de las partículas de adsorbente en la disolución a tratar en presencia de agitación, como en la figura 8.1, en que se produce la suspensión de las partículas de adsorbente en el medio líquido. Otra manera de poner en contacto fluido-sólido es hacer pasar la disolución del fluido que contiene el soluto a través de un lecho fijo de partículas de adsorbente, como se ve en la figura 8.2. Esta disposición en un lecho fijo se emplea en la tecnología ambiental, con el fin de recuperar sustancias orgánicas volátiles (VOC).

Industrialmente, las VOC pueden implicar varios lechos de adsorción (2 o 3), de forma que, mientras un lecho está adsorbiendo, el segundo está en regeneración y el tercero está en espera. A menudo, con dos lechos es suficiente (v. fig. 8.2), si se diseñan con una distribución correcta del tiempo en cada uno.

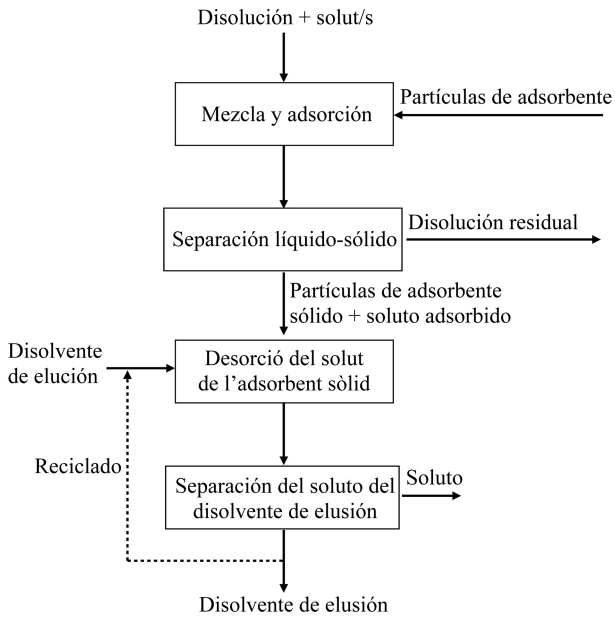


Fig. 8.1 Operaciones de contacto de un caldo con adsorbente en forma de partículas en suspensión. Y recuperación del soluto y del adsorbente. Fuente: Margaritis

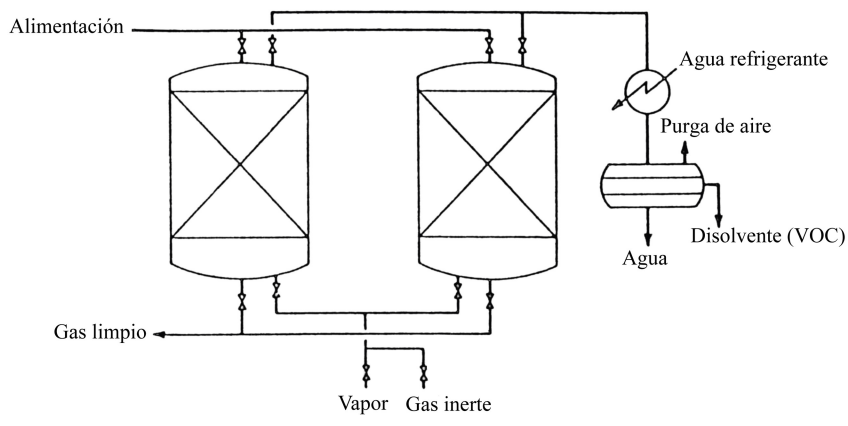


Fig. 8.2 Captura de VOC (p. ej., tolueno del aire) en dos lechos fijos de adsorbente y recuperación del soluto por desorción con vapor y posterior condensación

En biotecnología, se recurre a menudo a la disposición de una columna de relleno de adsorbente, a veces de dimensiones muy superiores a las de una columna cromatográfica de laboratorio (ésta de 1-2 cm diámetro y 1 m de longitud). En la producción, una columna puede llegar a tener un diámetro de 80 cm.

Lejos del punto crítico del solvente, la adsorción es un proceso exotérmico y, por tanto, el proceso inverso (desorción) es endotérmico, es decir, requiere calor. Así pues, para

liberar el soluto adsorbido a baja temperatura (30ºC), se puede optar por una desorción térmica a temperaturas de vapor saturado (120-130ºC) o de horno (unos 900ºC), cuando el soluto y el adsorbente lo permiten. En biotecnología, no es posible hacerlo térmicamente si se quiere recuperar un bioproducto valioso, sino que se opta por un desorción con eluyente, que favorece la liberación del soluto hacia el solvente de elución al modificarse el equilibrio a favor de la desorción.

Un proceso reciente es la desorción con fluido supercrítico, que permite operar en condiciones térmicas suaves, cuando se utiliza un solvente que tiene una isoterma crítica a una temperatura próxima a la de ambiente y a presión moderada –por ejemplo, CO_2 o un alcano ligero, como el etano o el propano. Este actúa, en realidad, como solvente o eluyente en condiciones próximas al punto crítico (para al caso del CO_2, el punto crítico es 31ºC y 72 bar, aproximadamente). Cerca del punto crítico del CO_2, la adsorción es endotérmica (Recasens *et al*., 1993).

8.1 Fundamentos de la adsorción y aplicaciones a la biotecnología

En biotecnología, las instalaciones de adsorción generalmente son pequeñas pero, en el caso de los antibióticos y otros, pueden ser bastante grandes. Un ejemplo de adsorción es el proceso de ácido cítrico. En él se purifica la disolución de reextracción con carbón activado antes de la retención en una columna de intercambio iónico, en que conviene que solo se adsorba el producto principal. Otros bioproductos que se utilizan en la adsorción son el proceso de ácido láctico, las penicilinas y algunos aminoácidos, como la lisina, etc.

La adsorción consiste en los dos procesos siguientes:

- la desorción reversible del proceso para recuperar el producto y
- la regeneración del adsorbente, siempre que este sea valioso.

Bioproducto	**Ventas, en millones de $**
Insulina	1.000
Hormona del crecimiento humano	900
Interferones	500
Eritropoyetina	400
Activador del tejido **plasminogénico**	200

Tabla 8.1
Productos biofarmacéuticos recombinantes purificados por adsorción

La adsorción-desorción es una operación de separación que se puede calcular de forma precisa, igual que la extracción vista en el capítulo anterior. Estas operaciones implican conocer los datos de transferencia de masa y de equilibrio del proceso. Generalmente, estos datos son difíciles de obtener y, muy a menudo, son accesibles a partir del propio proceso en la planta del propietario. En la tabla 8.1, se proporcionan datos sobre la importancia de la adsorción en la producción de bioproductos farmacéuticos obtenidos por técnicas de ADN recombinante. Como se puede ver, el valor económico de los productos es considerable.

La adsorción-desorción es importante en la purificación y la cromatografía de las proteínas y los ácidos nucleicos. El proceso funciona, además, a mayor escala que el de la cromatografía. En algún caso, la purificación se realiza adsorbiendo preferentemente las impurezas en una columna donde se bombea un adsorbato impuro. El adsorbente captura el soluto y deja pasar el contaminante. Después, en la etapa de desorción, se invierte la afinidad con un eluyente adecuado que desorbe el soluto. En general, se puede hacer que los frentes de adsorción sean bastantes agudos, lo cual permite una buena resolución.

A continuación, tratamos los fundamentos de la adsorción, los procesos de adsorción (operación por cargas y operación en una columna) y, finalmente, las metodologías de cambio de escala.

8.2 Velocidad y equilibrio de adsorción según Langmuir

Consideremos la superficie del adsorbente con un número finito de centros activos. Las hipótesis de Langmuir son las siguientes (Smith, 1981):

1. La superficie del adsorbente es energéticamente uniforme. Por tanto, el calor de adsorción, ΔH_{ads}, es constante e independiente del grado de cobertura de la superficie, que denotamos con θ.

2. No hay interacciones entre las moléculas adsorbidas.

3. El mecanismo de adsorción es siempre el mismo y es reversible.

4. El grado máximo de cobertura es una monocapa.

Sea q la cantidad de adsorbato adsorbida, en mol/kg de adsorbente puro, y sea q_m la cantidad máxima de adsorbato correspondiente a una monocapa para $\theta = 1$. La diferencia $q_m - q$ será la cantidad de centros activos vacantes expresados en mol/kg de adsorbente. Si exponemos la superficie del adsorbente a un gas con soluto, la velocidad de adsorción de este se considera de segundo orden, o sea, proporcional al número de centros vacantes y a la concentración del soluto en la fase fluida. Así pues:

$$r_a = k_a(q_m - q)C \tag{8.1}$$

donde la velocidad de adsorción es expresada en mol/(kg s); la constante k_a, en $m^3/mol \cdot s$, y C, en mol/m^3. La velocidad de desorción se considera de primer orden:

$$r_d = k_d q \tag{8.2}$$

en que las unidades de r_d son $mol/kg \cdot s$; las de q, mol/kg; así, k_d en s^{-1}.

La velocidad neta de adsorción será, pues:

$$r = r_a - r_d = k_a\left(q_m - q\right)C - k_d q \tag{8.3}$$

En equilibrio, r = 0. Entonces, despejando la cantidad adsorbida, q, en equilibrio con la concentración a la fase gaseosa, C, se tendrá:

$$q = \frac{K_c q_m C}{1 + K_c C} \tag{8.4}$$

donde:

$$K_c = \frac{k_a}{k_d} \tag{8.5}$$

en que K_c es la constante de equilibrio, expresada en m^3/mol. La expresión 8.4 es la denominada *isoterma de Langmuir* a la temperatura en que están evaluadas k_a, k_d y K_c. Así pues, es no lineal y tiene dos parámetros, que son K_c y q_m. Estos se determinan a partir de unos cuantos pares de valores de equilibrio, determinados a T constante. La isoterma se puede expresar como:

$$\theta = \frac{q}{q_m} = \frac{K_c C}{1 + K_c C} \tag{8.6}$$

Para T constante y para C grande, el valor de q se satura y tiende a $q = q_m$, en que $\theta = 1$ (v. isoterma de Langmuir en la figura 8.3).

Es frecuente expresar la cantidad de adsorbato capturado por el sólido en kg, en vez de moles; entonces, las unidades de los parámetros son q y q_m, en kg de soluto/kg de adsorbente; K_c, en m^3/kg. En sistemas de adsorción desde el gas, la C se expresa en presión parcial, en atm, bar, ppm o psi (lb/in^2). A veces, la concentración sobre el sólido q se expresa en volumen de líquido (o de gas en CN), retenido por adsorción por kg de adsorbente.

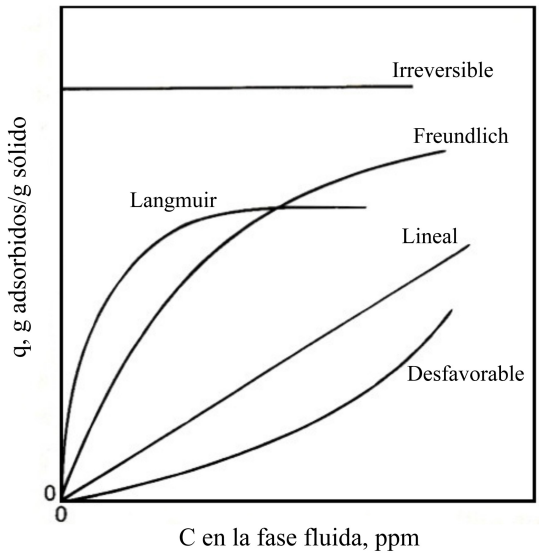


Fig. 8.3
Isotermas de adsorción ideales más frecuentes

8.2.1 Otras isotermas: la isoterma lineal y de Freundlich

Consideremos ahora la ecuación 8.6 y expresemos la cantidad de soluto en kg, en vez de mol, como es frecuente. Así pues, C se expresará en kg/m^3. Para valores de C que tiendan a 0, y q a 0, la isoterma de Langmuir se hace en lineal y adopta entonces la forma siguiente:

$$q = K_c q_m C = K'C \tag{8.7}$$

donde K_c se expresa en m^3/kg; q_m, en kg soluto/kg adsorbente; C, en kg soluto/m^3, y K', en m^3/kg. Entonces, tenemos una isoterma lineal que es muy útil en la práctica, que es totalmente similar al coeficiente de reparto, *m*, utilizado en la extracción líquido-líquido (v. fig. 8.3), que a veces se denomina *isoterma de Henry*. Muy a menudo, interesa que la constante K' de la expresión 8.7 sea adimensional. Si denominamos ρ_p (kg/m^3) la densidad de la partícula húmeda, multiplicando los dos miembros de la ecuación 8.7 por ρ_p, tendremos:

$$q\rho_p = K'\rho_p C \tag{8.8}$$

que se puede escribir como:

$$q\rho_p = KC \tag{8.9}$$

donde ahora K es la constante de Henry adimensional; cosa que es matemáticamente conveniente, como veremos más adelante (K se expresa en m^3/kg y ρ_p, en kg/m^3, en la ecuación 8.8). El producto $q\rho_p$ representa la carga de soluto por unidad *de volumen* de partícula. La ecuación 8.9 representa, pues, una expresión sencilla y útil cuando disponemos de pocos datos de equilibrio, y una constante de reparto fluido-sólido es suficiente (v. isoterma lineal en la figura 8.3). Para adsorbatos complejos (ADN, proteínas), normalmente es suficiente tener una simple constante de reparto, válida para una solución diluida.

8.2.2 Energética

Diversos autores han estudiado la constante de Henry, K', utilizando la cromatografía de gas, líquido o fluido supercrítico. La expresión precisa de la constante de Henry, a cobertura pequeña, se define a partir de la ecuación 8.7 de la manera siguiente:

$$K' = \lim_{c\to 0}\left(\frac{q}{c}\right) = K_c q_m \tag{8.10}$$

Utilizando la ecuación de Clapeyron, que relaciona las constantes de equilibrio con P y T, a $\theta = 0$, y el calor de adsorción, se obtiene la variación de K' con T para gases en baja presión o líquidos, como:

$$\left(\frac{\partial \ln K'}{\partial T}\right)_{\theta=0,P} = \frac{\overline{h}^{solid} - \overline{h}^{fluid}}{RT^2} \tag{8.11}$$

donde el numerador es Δh_{ads}, o calor diferencial de adsorción por mol de soluto. Esta ecuación predice una constante de Henry tal que, si la adsorción es exotérmica, K' disminuye al aumentar la temperatura, ya que $\Delta h_{ads} < 0$. Además, si se cumplen las hipótesis

de Langmuir, el calor de adsorción será constante con la cobertura, θ. En la figura 8.4, se da el calor diferencial de adsorción para diferentes adsorbentes y fluidos. Se observa que el calor de adsorción es negativo y que varía fuertemente en función de la cobertura, lo cual indica que no se cumplen las hipótesis de Langmuir. En muchos casos prácticos, la isoterma de Langmuir no se cumple y, por tanto, es preferible utilizar una isoterma lineal aproximada o bien la isoterma de Freundlich (v. figs. 8.3 y 8.5), para las cuales se observa que no hay saturación.

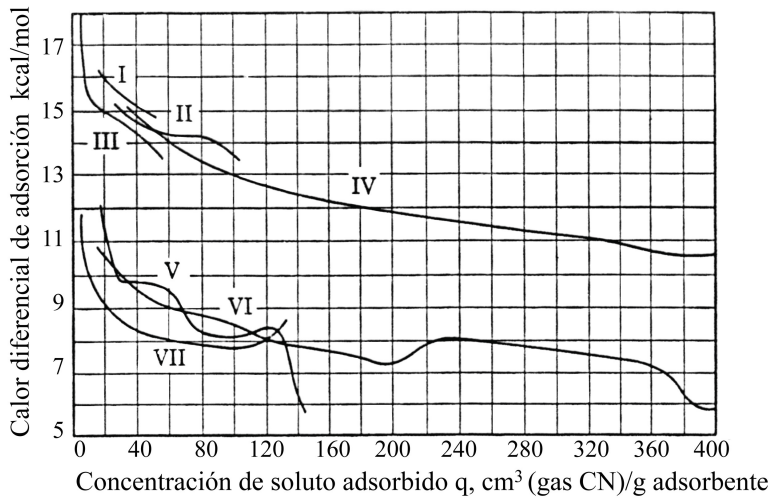


Fig. 8.4
Calor diferencial de adsorción *vs*. cantidad adsorbida. I, II y III, solutos orgánicos sobre carbón activado; IV, sobre gel de sílice; V y VI, SO_2 sobre carbones, y VII, amoníaco sobre carbón activado.
Fuente: Hougen *et al*. (1954): *Chemical Process Principles*, vol. I

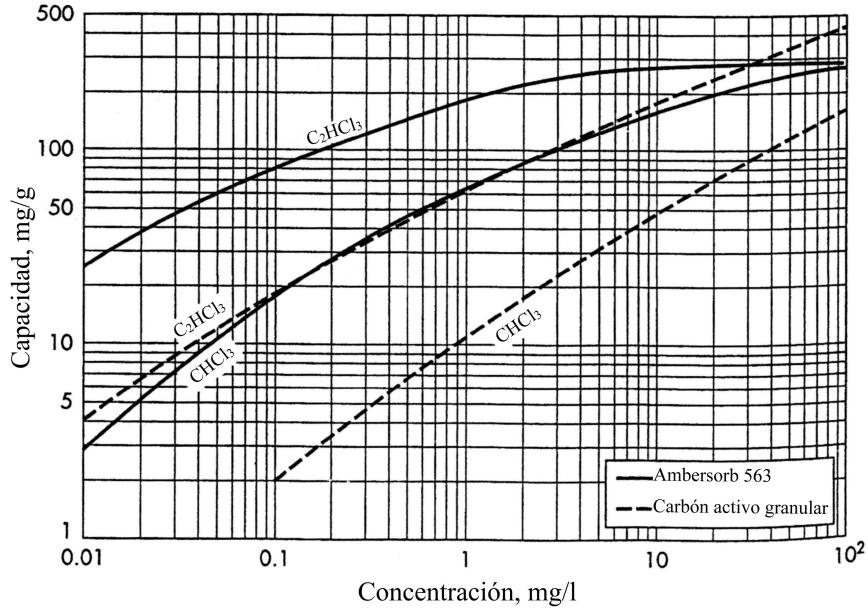


Fig. 8.5
Isotermas de Freundlich (aire y agua) para diversos solutos sobre carbón activado. Para una década, estas líneas son aproximadamente rectas

8.2.3 Regeneración térmica

La ecuación 8.11 indica que, en el caso más frecuente de adsorción exotérmica, podemos recuperar el soluto desorbiéndolo, añadiendo calor (por medio de vapor saturado) a la propia instalación de adsorción. En principio, tendríamos que añadir una cantidad de calor equivalente a Δh_{ads} por mol de soluto retenido, más el calor sensible del propio lecho e instalación. Generalmente, en la práctica industrial se *utilizan entre 5 y 6 kg de vapor/kg de solvente* a recuperar, cantidad que tiene en cuenta todos los conceptos de absorción de calor del proceso y la instalación, así como los cambios de entalpía durante el ciclo de trabajo del lecho.

8.2.4 Regeneración del adsorbente en biotecnología

En biotecnología, trabajamos también con un lecho de relleno de adsorbente. En la regeneración, sin embargo, como sea que no podemos trabajar a muy alta temperatura (el adsorbato es termolábil), se invierte la adsorción empleando otro solvente en vez de hacer un cambio de temperatura, la cual se mantiene baja (T. ambiente). Se regenera utilizando un solvente con una constante de equilibrio favorable a la desorción (K mucho menor que la de adsorción), como se verá en el ejemplo 8.4.

Ejemplo 8.1

Un secador de aire por adsorción sobre gel de sílice tiene instalados 112,5 kg de adsorbente, que inicialmente contienen 12,6 kg de agua retenida. Calcúlese el calor generado por el agua adsorbida por esta carga inicial, q, suponiendo que los datos son los de la figura 8.4 (curva IV). Compárelo con el calor latente de condensación del vapor de agua a 1 atm (a).

Calcularemos la carga inicial q, en cm^3 de vapor en CN/g de adsorbente, para entrar en el gráfico:

$$q = \frac{12,6}{112,5} = 0,112\, g/g$$

$$q = \frac{0,112}{18} \times 22,4 \times 1000 = 139 cm^3_N$$

Expresada en volumen normal será, pues, de 139 cm^3. El calor de adsorción diferencial, como se lee en el gráfico (v. fig. 8.4), para q = 139, vale -12,5 kcal/mol de agua, o bien -2.902 kJ/kg de agua adsorbida. Cuando el vapor de agua condensa a 1 bar (a), registra un cambio de entalpía de -2.258 kJ/kg (tablas del vapor de agua). Es decir, la adsorción sobre SiO_2 es un proceso ligeramente exotérmico, en el cual el calor de adsorción es similar al calor de condensación del agua. Sin embargo, como puede verse, el calor varía con la cobertura (v. fig. 8.4) y, cerca de q = 0, cuando se empiezan a adsorber los primeros kilos, puede llegar a ser de unos - 3.900 kJ/kg, para los primeros kg que se adsorben, es decir, un ~40 % superior que el anterior.

8.2.5 Isoterma de Freundlich

Así pues, vemos que el calor de adsorción varía con el grado de cobertura y, por tanto, no se cumplen las hipótesis de Langmuir. En realidad, sobre una superficie real, hay un número finito de centros activos con una distribución exponencial de energías de activación y calor de adsorción. Así pues, se puede escribir:

$$\theta = \exp\left(-\frac{\Delta h_{ads}}{\Delta h_0}\right)$$

$$\Delta h_{ads} = -\Delta h_0 \ln \theta$$

ecuación que sugiere una distribución de energía que disminuye exponencialmente con la cobertura. Con estos supuestos, y admitiendo la ley de Henry de equilibrio gas-líquido, se deduce la isoterma de Freundlich (Krebs y Smith, 1986), que tiene la forma siguiente:

$$q = KC^n \quad n<1 \tag{8.14}$$

La forma de esta ecuación sugiere que *log q* vs. *log C*, para pares de puntos en equilibrio, es una línea aproximadamente recta de pendiente *n*, que permite encontrar por regresión los parámetros de la isoterma, K y n. Y, por tanto, se da en gráficos doblemente logarítmicos (v. fig. 8.5, para solutos líquidos o gas). En la tabla 8, se dan unas cuantas isotermas de Freundlich de interés en biotecnología.

Tabla 8.2
Isoterma de Freundlich, tipo $q = KC^n$ (agua, 25ºC)

Soluto	Adsorbente	Unidades de q y C	Valor de K	Valor de n	Referencia
SO_2	Carbón activado	mol/g; mol/cm^3	0,180	0,532	Smith (1981)
Gentamicina	Carbón activado	mg/g; mg/L	35,1	0,411	Belter *et al.*
Cefalosporina	Resina aniónica	g/L; g/L	32,0	0,340	Belter *et al.*
Tolueno	Carbón activado	mmol/g; mmol/L	2,16	0,229	Recasens *et al.* (1993)

8.2.6 Isoterma generalizada para carbón activado

En la figura 8.6, se da la correlación q en función de la presión parcial del adsorbato en aire adsorbiéndose sobre carbón activado del tipo BPL de la empresa Pittsburgh (que tiene 1.040 m^2/g). Las unidades de las ordenadas y las abscisas son poco usuales y se aclaran en los textos (McCabe *et al.*, 1993). El gráfico sirve para parafinas ligeras, derivados orgánicos clorados y compuestos de azufre orgánicos, a temperaturas distintas, en las cuales se requiere la presión de vapor del adsorbato, la densidad del líquido en el punto de ebullición, etc. El gráfico da *q* vs. *p* en equilibrio, con un soluto gaseoso a una presión parcial en la fase fluida a temperatura T.

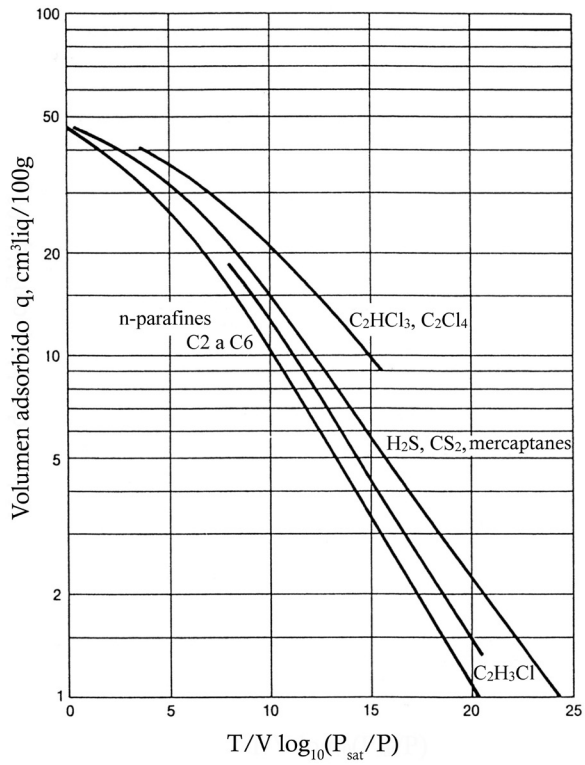


Fig. 8.6 Correlación generalizada sobre Pittsburg BPL Activated Charcoal (McCabe *et al.*, 1993). Datos de equilibrio q *vs.* p, de compuestos orgánicos sobre carbón activado desde el aire

8.3 Cálculo de las operaciones de adsorción

A continuación, tratamos los casos que se pueden calcular con más exactitud. Son estos:

- Una o varias etapas de contacto por cargas
- Operación de adsorción en un lecho fijo, isoterma lineal (Henry)
- Operación de desorción en un lecho fijo, isoterma lineal (Henry)
- Momentos de la curva de ruptura
- Cálculo de cambio de escala de las columnas (método LUB y de los momentos)
- Operación de adsorción en un lecho fijo, isoterma no lineal (Freundlich)

Los ejemplos son de biotecnología.

8.3.1 Una o diversas etapas de contacto. Operaciones por cargas

Supongamos que tenemos un volumen de líquido F, que contiene una concentración C_0, y lo mezclamos con W kg de adsorbente, que tiene una carga q_0 de soluto. Suponemos que, en la adsorción, el volumen de líquido no varía y que la carga inicial q_0 del adsorbente no es nula. El balance de soluto entre t = 0 y t = ∞ es el siguiente:

$$Wq_0 + FC_0 = Wq + FC \tag{8.15}$$

de donde la línea de operación valdrá:

$$q = q_0 - \frac{F}{W}(C - C_0) \tag{8.16}$$

donde C y q están en equilibrio de adsorción. Por tanto, han de cumplir la isoterma correspondiente. Si suponemos que conocemos la isoterma de Freundlich, C y q estarán en equilibrio, o sea:

$$q = KC^n \tag{8.17}$$

La intersección de las dos líneas anteriores (ec. 8.16 y 8.17) da las condiciones finales de la adsorción C y q. Estas se obtienen fácilmente, de forma gráfica o numérica (v. fig. 8.7).

Para diversas etapas por cargas, haciendo diferentes contactos de un mismo volumen F de disolución (v. fig. 8.7), con diferentes masas conocidas de adsorbente, se obtiene el sistema de ecuaciones siguiente:

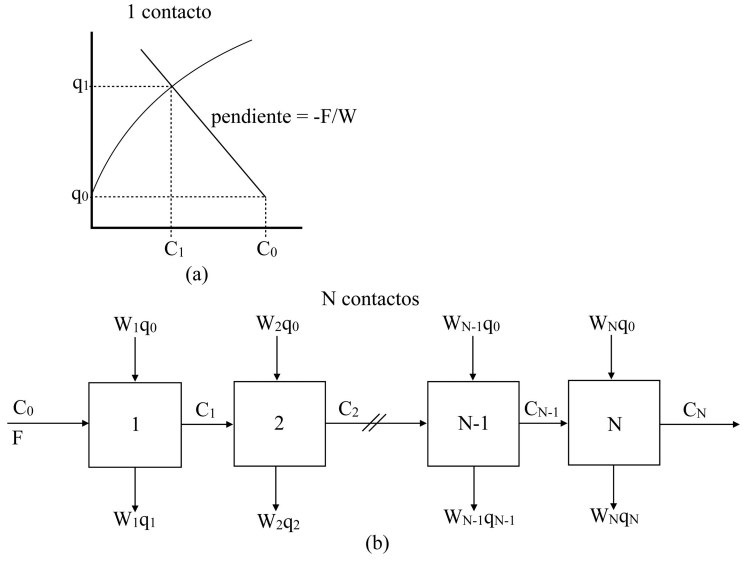


Fig. 8.7
Arriba, contacto en una etapa de un volumen de disolución F, con una masa W de carbón activado. Abajo, contacto en N etapas sucesivas, con adición de adsorbente parcialmente cargado a cada etapa

$$W_1 q_0 + FC_0 = W_1 q_1 + FC_1$$

$$W_2 q_0 + FC_1 = W_2 q_2 + FC_2 \tag{8.18}$$

$$W_N q_0 + FC_{N-1} = W_N q_N + FC_N$$

$$q_i + KC_i^n \quad i = 1, N \tag{8.19}$$

que es un sistema de 2N ecuaciones y 2N incógnitas, que tiene solución gráfica o numérica.

Ejemplo 8.2. Queremos recuperar el 98 % de un metabolito contenido en 3 L de un caldo de fermentación por contacto con carbón activado en un tanque bien agitado. La concentración inicial del bioproducto es de 46 mg/L. *a*) Calcúlese la masa de carbón que se ha de utilizar. *b*) Calcúlese el tanto por ciento de producto adsorbido por kg de carbón virgen utilizado.

Nota: La isoterma del producto sobre carbón es q (mg/g) = 35,1 $C^{0,41}$ (C en mg/L).

a) Los datos son: F = 3 L, C_0 = 46 mg/L. La recuperación relativa valdrá:

$$\frac{C_0 - C}{C_0} = 0,98$$

$$C = C_0\left(1 - 0,98\right) = 0,92$$

$$F\left(C_0 - C\right) = 3(46 - 0,92) = Wq = 135,2\, mg/g$$

El valor final de q ha de estar en equilibrio con C = 0,92; por tanto, q y W cumplirán la ecuación de la isoterma:

$$q = 35,1(0,92)^{0,41} = 33,9\, mg/g$$

$$135,2 = W33,9$$

$$W = 3,98g$$

b) La carga final sobre el carbón valdrá q = 33,96 mg/g y, por tanto, en tanto por ciento será = (0,135/3,98) × 100 = 3,39 %.

8.3.2 Operación de adsorción en lecho fijo, isoterma lineal

Consideremos una columna rellena de esferas de adsorbente retenidas en la columna. La columna tiene una altura L. Supongamos una entrada en escalón de soluto, C_0 h(t), en z = 0, donde C_0 es la concentración de la fase fluida, y C_i es la concentración de soluto en el fluido de los poros del adsorbente. h(t) es un escalón unitario. Los balances de adsorbato en el fluido exterior a las partículas tendrán en cuenta las siguientes etapas en serie: (1) la dispersión axial en el fluido, (2) la transferencia de masa externa a las partículas, (3) la difusión intrapartícula en el fluido de los poros, (4) la adsorción reversible en el interior del sólido. La última etapa es la adsorción lineal correspondiente a una isoterma de adsorción en equilibrio local. Con estos supuestos, el balance de soluto en el fluido que recorre la columna será:

$$\alpha\frac{\partial C}{\partial t} + u\frac{\partial C}{\partial z} = E\frac{\partial^2 C}{\partial z^2} - \frac{3(1-\alpha)}{R}k_m(C - Ci\,|_{r=R}) \qquad (8.20)$$

donde α es la fracción vacía o la porosidad del lecho, E es el coeficiente de dispersión longitudinal basado en el área transversal del lecho, u es la velocidad superficial del

fluido, y el último término es el flujo de transporte de masa en la superficie externa de las esferas, que debe igualarse al gradiente de difusión intrapartícula en r = R, es decir:

$$k_m(C - Ci|_{r=R}) = De\left.\frac{\partial Ci}{\partial r}\right|_{r=R} \tag{8.21}$$

siendo r la coordenada radial desde el centro de la esfera y R, su radio. El balance de soluto dentro de la esfera, de porosidad β, es el siguiente:

$$\beta\frac{\partial Ci}{\partial t} = De\left[\frac{\partial^2 Ci}{\partial r^2} + \left(\frac{2}{r}\right)\frac{\partial Ci}{\partial r}\right] - \rho_p k_a''\ (Ci - q/K) \tag{8.22}$$

donde *De* es la difusividad efectiva en la esfera y *q* es la concentración de soluto adsorbido sobre el sólido en r = r. La expresión de la velocidad reversible de la ecuación 8.22 es la expresión lineal de Langmuir para una carga q, muy inferior a q_m. En las ecuaciones anteriores, k_m es el coeficiente de transferencia de fluido-sólido, que viene dado, por ejemplo, por la correlación de Wakao-Funazkri para lechos fijos (v. Consideraciones finales).

En la ecuación 8.22, se ve que la velocidad de adsorción se ha escrito como:

$$\rho_p\frac{\partial q}{\partial t} = \rho_p k_a''\ (Ci - q/K) \tag{8.23}$$

Es usual suponer equilibrio local (adsorción ∞ rápida) en los centros activos del adsorbente; en tal caso, la ecuación anterior se reduciría a la condición de equilibrio local, del tipo q = K Ci (isoterma lineal de Langmuir, con K en m^3/kg).

8.3.3 Perfil parabólico intrapartícula y fuerza impulsora lineal

La dificultad principal para resolver las ecuaciones anteriores es debida al cálculo de los perfiles interiores de Ci(r) y q(r), y la consiguiente evaluación del flujo en r = R, en las ecuaciones 8.20, y 8.21. Diversos autores han demostrado que si se suponen perfiles parabólicos de concentraciones intrapartícula para Ci y q, la fuerza impulsora o gradiente se puede escribir como una combinación de resistencias, de modo siguiente (McCabe *et al*., 1993):

$$\frac{1}{K_p} = \frac{1}{k_m} + \frac{d_p}{10De} \tag{8.24}$$

O, lo que es lo mismo, la constante global de transporte de masa, K_p, valdrá:

$$K_p = \frac{5k_m}{5 + Bi} \tag{8.25}$$

donde *Bi* es el número de Biot de masa de una esfera de radio R, $Bi = k_m R/D_e$.

Para $Bi << 5$, K_p vale ~ k_m y, para $Bi >> 5$, Kp vale ~ 5 D_e/R, según que domine la resistencia externa o la interna, respectivamente. La teoría de la fuerza impulsora lineal permite tener en cuenta la combinación de resistencias (v. ec. 8.24) para módulos de

Thiele de velocidad de adsorción inferiores a 2, es decir, para una cierta resistencia intrapartícula combinada con la resistencia externa. En estas condiciones, diversos autores muestran que la aproximación es excelente, siempre que el tiempo de operación no sea muy pequeño (v. Tomida y McCoy, 1985). Si se utiliza esta hipótesis, la ecuación de difusión esférica (v. ec. 8.22) se puede sustituir por la siguiente:

$$\beta \frac{\partial \overline{Ci}}{\partial t} = 3\frac{K_p}{R}(C - \overline{Ci}) - \rho_p k_a'' \left(Ci - \frac{\overline{q}}{K} \right) \tag{8.26}$$

donde las concentraciones con barra superior indican medias sobre el volumen de la esfera. Así, para a la función q (r), la media sobre el volumen de la esfera se define como:

$$\overline{q} = \frac{3}{4\pi R^3} \int_0^R 4\pi r^2 q(r)\, dr \tag{8.27}$$

y análogamente para la función Ci (r). Con las medias de Ci y q, si se insertan los perfiles parabólicos bajo la integral anterior, se obtiene la contribución de *De* (v. ec. 8.24). Entonces, la velocidad de adsorción en función de la fuerza impulsora global y esas funciones medias se puede escribir como:

$$\rho_p (1-\alpha) \frac{\partial \overline{q}}{\partial t} = K_p a \left(C - \frac{\overline{q}}{K} \right) \tag{8.28}$$

Nótese que (1- α) representa la fracción volumen de partículas/volumen de lecho en un lecho fijo.

8.3.4 Equilibrio local (o en un centro activo)

En adsorción y desorción, se sabe que los procesos en un centro activo tienen lugar en equilibrio, o sea, que los procesos son infinitamente rápidos. Y que la etapa que retrasa el proceso global es la difusión intrapartícula y la difusión en la capa límite externa. Por tanto, el término de velocidad de adsorción se reduce a la condición de equilibrio, $\overline{q} = K\overline{Ci}$, que consideraremos válida en adelante y que permite simplificar del modelo.

Con las ecuaciones 8.26 y 8.28, eliminando Ci con la condición de equilibrio, se puede escribir una ecuación de velocidad relativa al volumen de fluido como:

$$\left(\rho_p + \frac{\beta}{K} \right)(1-\alpha) \frac{\partial \overline{q}}{\partial t} + K_p a \left(C - \frac{\overline{q}}{K} \right) = 0 \tag{8.29}$$

8.3.5 Modelo de la adsorción en lecho fijo: curva de ruptura

Considerando estas hipótesis, y agrupando términos, las ecuaciones del modelo 8.26 a 8.29 se transforman en el sistema lineal siguiente:

$$\frac{\partial C}{\partial t} + v\frac{\partial C}{\partial z} + k' \left(C - \frac{\overline{q}}{K} \right) = 0 \tag{8.30}$$

$$\frac{\partial \overline{q}}{\partial t} + k\left(C - \frac{\overline{q}}{K}\right) = 0 \qquad (8.31)$$

donde las constantes k' y k están especificadas en la notación, y v es la velocidad intersticial del fluido, v = u/α. La difusión intrapartícula está ahora incluida implícitamente en la función *q* promediada sobre la esfera, junto con la condición de equilibrio local (v. ec. 8.29).

Las condiciones iniciales y de contorno para el problema de adsorción de las ecuaciones 8.30 y 8.31 son:

$$C(z=0,t) = C_0 h(t) \qquad C(z,t=0) = 0 \qquad \overline{q}(z,t=0) = 0 \qquad (8.32)$$

donde h(t) es un escalón a t=0 de magnitud C_0. Habiendo tomado los valores medios de Ci y de q (v. ec. 8.27), la variable radial de la esfera r no aparece en el modelo, lo cual hace que el problema sea soluble analíticamente. Una solución analítica de las ecuaciones 8.28, 8.30 y 8.31 con 8.32 puede calcularse, como han demostrado distintos autores con diversas simplificaciones (p. ej., Bird *et al*., 1975).

Tabla 8.3
Soluciones analíticas de los modelos de adsorción y desorción de un lecho fijo de esferas porosas iguales. Caso de equilibrio lineal con resistencias de transporte externo e interno

Adsorción. Condiciones iniciales (ec. 8.33):
Para t > z/v,

$$X = \left.\frac{C(z,t)}{C_0}\right|_{ads} = J\left[\frac{zk'}{v}, k\left(t - \frac{z}{v}\right)\right] = J(\zeta,\tau)$$

$$Y = \left.\frac{\overline{q}(z,t)}{KC_0}\right|_{ads} = 1 - J\left[k\left(t - \frac{z}{v}\right), \frac{zk'}{v}\right] = 1 - J(\tau,\zeta)$$

Para t < z/v,

X = 0
Y = 0

Desorción. Condiciones iniciales (ec. 8.37):
Para t > z/v,

$$X' = \left.\frac{C(z,t)}{C_0}\right|_{des} = J\left[\frac{zk'}{v}, k\left(t - \frac{z}{v}\right)\right] = J(\zeta,\tau)$$

$$Y' = \left.\frac{\overline{q}(z,t)}{q_0}\right|_{des} = 1 - J\left[k\left(t - \frac{z}{v}\right), \frac{zk'}{v}\right] = 1 - J(\tau,\zeta)$$

Para t < z/v,

X′ = 1
Y′ = 1

En la tabla 8.3, se da un resumen de las soluciones analíticas del modelo lineal (ec. 8.30, 8.31 y 8.32), sin simplificaciones, junto con el caso de desorción que se estudia más adelante. El modelo es biparamétrico, con la constante de equilibrio K y el coeficiente global de transferencia de masa K_p. En resumen, las hipótesis del modelo son:

- Adsorbente esférico de radio R
- Dispersión axial nula en el sentido de la longitud del lecho
- Adsorción infinitamente rápida, con equilibrio local
- Fuerza impulsora lineal K_p combinada (externa + resistencia intrapartícula).

Introduciendo las funciones reducidas, X e Y, las condiciones iniciales y de contorno para el caso de adsorción (v. Notación) son:

$$X(z=0,t)=1 \quad X(z,t=0)=0 \quad Y(z,t=0)=0 \tag{8.33}$$

y la solución del sistema de ecuaciones 8.30, 8.31 y 8.32 para cada posición, z, y tiempo, t, es la siguiente:

$$X=\left(\frac{C}{C_0}\right)_{ads}=J(\zeta,\tau) \qquad Y=\left(\frac{q}{KC_0}\right)_{ads}=1-J(\tau,\zeta) \tag{8.34}$$

donde J es la función de Goldstein, definida como:

$$J(\zeta,\tau)=1-e^{-\tau}\int_0^{\zeta}e^{-\zeta}I_0(2\sqrt{\tau\zeta})d\zeta \tag{8.35}$$

Las variables adimensionales de posición, z, y tiempo, t, respectivamente, para el caso de que $K_p\rho_p >> \beta$ (Tomida- McCoy), se definen como:

$$\zeta=\frac{K_p a z}{\alpha v} \qquad \tau=\frac{K_p a\left(t-\frac{z}{v}\right)}{K\rho_p(1-\alpha)} \tag{8.36}$$

en donde *a* es la superficie específica externa de las partículas del lecho, que para esferas iguales de radio R, vale:

$$a=\frac{3(1-\alpha)}{R} \tag{8.37}$$

La variable ζ de la ecuación 8.36 representa la longitud adimensional del lecho, y la variable τ representa el tiempo adimensional. Una solución analítica del sistema 8.31 y 8.32 se encuentra aplicando la transformada de Laplace y la subsiguiente convolución. En la tabla 8.3, se resumen unas soluciones exactas del sistema para el caso de adsorción lineal. Nótese que $\rho_P (1- \alpha) = \rho_B$. El valor de J (s,t) es función de dos variables, y se ilustra en forma gráfica en la figura 8.8, siendo s y t variables genéricas, que son iguales a ζ y τ. Para calcular J, se utiliza directamente la figura 8.8, o bien se calcula numéricamente a partir de su definición (ec. 8.35). Los ordenadores personales tienen la función de Bessel I_0 incluida en su propia biblioteca; por ello, una forma rápida de calcular J es calcular directamente la integral de la ecuación 8.35. El código para calcular J consta solo de tres sentencias (v. tabla 8.4). Por otra parte, el manejo de la función J es muy sencillo para hacer cálculos manuales y se ilustra con un ejemplo.

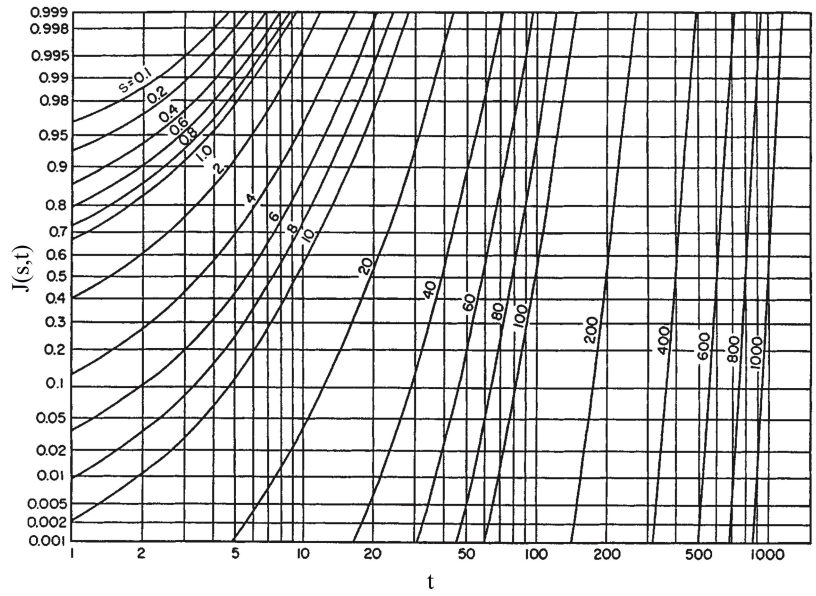


Fig. 8.8
Función J(s,t) *vs.* t, a s = constante, para la dinámica de un lecho fijo en una adsorción lineal (Perry-Green, 1980). En el texto, las variables s y t se designan por ζ y τ, respectivamente (v. definiciones en la ecuación 8.36)

Queremos evaluar J(s,t) para s = 3 t = 6 y otros valores
x = [0:0.1:s]
y = exp(-x).*besseli(0,2.*sqrt(x*t))
área = trapz(x,y)
J = 1-exp(-t)*área
J(3,6) = 0.88
J(10,10) = 0.54
J(2,8) = 0.98
J(2,6) = 0.95

Tabla 8.4
Código para la función J(s,t)

Antes veamos cómo se produce la adsorción de un lecho fijo (v. fig. 8.9). El modelo indica que la respuesta de C/C_0 es función del tiempo t en la posición z = L (final del lecho); por tanto, permite obtener toda la curva de ruptura a tiempos posteriores.

La figura 8.9 representa el perfil de C/C_0 a cada tiempo y posición. En t_1, hay una fuerte caída de concentración en la fase fluida (curva continua), porque el fluido se encuentra al entrar con un lecho completamente regenerado (v. condiciones iniciales). Al cabo de unos minutos, el adsorbente cerca de la entrada se satura y enseguida se pone en equilibrio con la entrada. La forma de la curva en t_2 se transforma en una sigmoide. En este tiempo, la concentración sobre el adsorbente q está representada por la curva de puntos. Esta zona, denominada *de transferencia de masa* o ZTM, es la zona activa del lecho y en la figura 8.9 abarca curvas en que C y q están separadas (para t_2, línea continua y de trazos, respectivamente). Esta zona mantiene una forma constante con el tiempo (cuando las isotermas son de tipo favorable, de Langmuir, Freundlich). Esta zona va avanzando a lo largo del lecho a una velocidad v_s inferior a v, sin cambiar de forma. En un tiempo

t_2, el soluto empieza a aparecer a la salida del lecho en z = L, y la curva de respuesta dinámica que se ve desde z = L en adelante para tiempos mayores –t_3, t_4, etc.– se denomina *curva de ruptura* (v. fig. 8.9 inferior). Las soluciones de la curva X e Y vienen dadas por la solución del modelo (v. ec. 8.34).

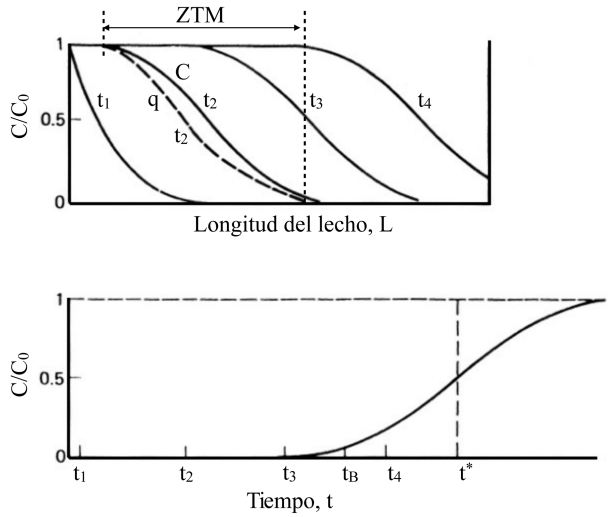


Fig. 8.9 Avance de la onda de saturación a lo largo de un lecho de adsorbente. ZTM es la zona de trabajo activa; t_B es el tiempo de operación en que se empieza a fugar soluto a la salida y en que dejamos de adsorber; t* es el tiempo estequiométrico de la onda plana

Para el diseño del lecho, se especifica la cantidad máxima de soluto que dejamos escapar del mismo. En la figura 810, puede verse la pequeña cantidad de adsorbato perdido cuando $t = t_B$. Este valor se estima normalmente en un 5 % del valor final de la curva de ruptura. En la figura 8.10, se ve también la capacidad total del lecho no utilizada. En las columnas de intercambio iónico para desionización de agua (columna aniónica), este es el valor de la fuga de cationes aceptada en el diseño.

Más adelante, calcularemos la velocidad de avance del frente de la onda, así como la longitud del lecho no utilizado o LUB (*length of unused bed*), un concepto importante en el cambio de escala.

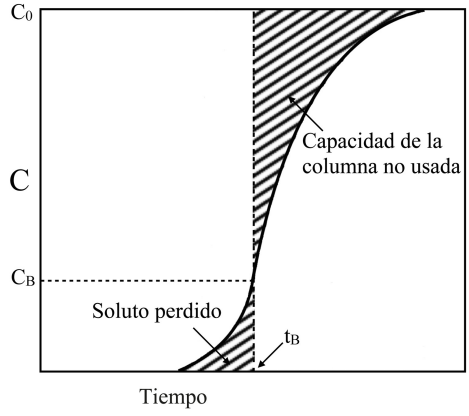


Fig. 8.10 Cuando se deja de adsorber, a $t = t_B$, se ha perdido una pequeña cantidad de soluto y hay una parte considerable de lecho no usada, a la derecha del tiempo de operación

Ejemplo 8.3. Tiempo de ruptura de un adsorbedor de lecho fijo

A baja concentración, el equilibrio de adsorción de la novobiocina sobre el polímero de intercambio iónico Dowex 21K tiene forma lineal, q = 125 C, con q y C en mg/cm^3 y con la constante de equilibrio adimensional ($K\rho_p$= 125). Para esta columna, el valor del coeficiente de transferencia global vale $K_p a$ = 82 h^{-1}. Estímese el punto de ruptura admisible (en que suponemos que C/C_0 = 0,05) al final de la columna. Esta tiene una longitud L= 20 cm y opera a una velocidad del fluido de v = 40 cm/h. La fracción vacía del lecho vale el 50 %.

Calculamos los valores cuando la fracción a la salida del lecho vale C/C_0= 0,05, utilizando el gráfico de la figura 8.8.

$$\zeta = \frac{K_p a z}{\alpha v} = \frac{82 \times 20}{0{,}5 \times 40} = 82$$

Para ζ = 82 y X= C/C_0 = J = 0,05, τ vale = 60, aproximadamente, de modo que el tiempo se calcula de la expresión de τ = 60, que es:

$$\tau = \frac{K_p a\left(t - \frac{z}{v}\right)}{K\rho_p(1-\alpha)} = \frac{82 \times \left(t - \frac{20}{40}\right)}{125 \times (1 - 0{,}5)}$$

de donde t = 46,2 h.

8.4 Operación de desorción de soluto de un lecho fijo, en el caso de una isoterma lineal

La solución de la curva de ruptura para el caso de desorción se obtiene por las mismas ecuaciones de adsorción (ec. 8.29 a 8.31), pero cambiando las condiciones de contorno. Hacemos, pues, un cambio de funciones. En la desorción, el lecho está inicialmente saturado de adsorbato y en t = 0 se introduce una entrada en escalón de solvente puro, con C_0 = 0. Se efectúa el cambio, X' = 1 - X y Y' = 1 - Y, como nuevas funciones. En este caso, las condiciones iniciales y de contorno son las siguientes:

$$X'(z=0,t)=0 \quad X'(z,t=0)=Y'(z,t=0)=1 \tag{8.37}$$

que corresponden a una entrada en z = 0, C_0 = 0. Entonces, la solución de la curva de desorción, en términos de las funciones reducidas, X' e Y', se demuestra fácilmente que vale:

$$X' = 1 - X = \left(\frac{C}{C_0}\right)_{des} = J(\zeta,\tau) \quad Y' = 1 - Y = \left(\frac{\bar{q}}{q_0}\right)_{des} = 1 - J(\tau,\zeta) \tag{8.38}$$

donde la función J (s,t) viene dada como antes por la gráfica de la figura 8.8.

Ejemplo 8.4. Para desorber un soluto, se tiene que emplear un eluyente cuya afinidad por el soluto sea favorable

Se ha aislado por adsorción una proteína (una posible vacuna) desde un tampón por contacto con una resina de intercambio iónico en un lecho fijo. La resina consiste en esferas de 0,011 cm de diámetro, con una fracción vacía de lecho de $\alpha = 0{,}37$. El lecho es de 100 cm de longitud y 83 cm de diámetro, y se alimenta con fluido a una velocidad de $v = 0{,}052$ cm/s. En estas condiciones, la proteína se adsorbe con un coeficiente de transferencia de masa de $K_p = 6 \times 10^{-6}$ cm/s y una constante de equilibrio adimensional de $K\rho_\pi = 27{,}0$. Después de saturar el lecho, se planifica la desorción utilizando un tampón más ácido como eluyente a fin de desorber la proteína. La constante de equilibrio de adsorción para el nuevo tampón vale $K\rho_B = 0{,}22$ (unas 100 veces menos que su valor en el tampón de adsorción) y los demás parámetros permanecen constantes. Con el modelo biparamétrico, se pregunta:

a) ¿Durante cuánto tiempo deberemos eluir la columna hasta tener una concentración en la salida de un 10 % del valor máximo?

b) ¿Cuánta proteína quedará retenida en el lecho en ese momento?

Adsorción. Utilizaremos la figura 8.8 en los dos casos. Los datos a introducir en la figura 8.8 son las siguientes: $\alpha = 0{,}37$; $v = 0{,}053$ cm/s, $K_p = 6 \times 10^{-6}$ cm/s.

$$a = \frac{6(1-\alpha)}{d_p} = \frac{6\times(1-0{,}37)}{0{,}011} = 343 cm^{-1}$$

$$\zeta = \frac{K_p a z}{\alpha v} = \frac{6\times10^{-6}\times343\times100}{0{,}37\times0{,}053} = 10$$

Este valor de $\zeta = 10$ se mantendrá constante durante la adsorción y la desorción, ya que no depende de la constante de equilibrio, que es la que cambia. Para la adsorción, tendremos que la variable de tiempo τ para alcanzar la saturación, $X = C/C_0 = 1$, deberá cumplir (v. fig. 8.8 y ec. 8.34):

$$X = 1 = J(10, \tau)$$
$$\tau = 30$$

Desorción. Para la desorción, utilizamos letras con primas.

a) Aplicaremos las ecuaciones 8.38. Durante la desorción, observaremos una curva de ruptura exponencial decreciente hasta $C/C_0 = 0{,}1$. Utilizaremos las ecuaciones 8.38 para los valores de los parámetros:

$$\zeta = 10$$
$$X' = (C/C_0)'_{des} = J(10, \tau') = 0{,}10$$
$$\tau' = 5$$

Conocido el tiempo adimensional durante la desorción, τ,' calculamos el tiempo real. Obsérvese que la densidad del lecho está incluida en los valores de K adimensionales. Es decir:

$$K\rho_B = K\rho_p(1-\alpha) = 0,22$$

$$\tau' = 5 = \frac{K_p a}{K\rho_p(1-\alpha)}\left(t - \frac{L}{v}\right) = \frac{6\times10^6\times343}{0,22}\left(t - \frac{100}{0,053}\right)$$

$$t = 2436 \text{ s} = 40,6 \text{ min}$$

b) La proteína residual sobre el adsorbente vendrá dada por Y´:

$$Y' = \left(\frac{q}{q_0}\right)_{des} = 1 - J(\tau',\zeta) = 1 - J(5,10) = 1 - 0,93 = 0,07$$

Es decir, un 7 % de la proteína queda retenida en el lecho en el momento de la elución, en que $C/C_0 = 0,1$.

8.4.1 Resumen de las soluciones del modelo de adsorción lineal

En la tabla 8.3, se resumen las soluciones analíticas del comportamiento de la adsorción y la desorción en un lecho fijo, cuando el proceso es lineal, es decir, con una isoterma de tipo Henry. Las soluciones de la tabla 8.3 son generales y se obtienen empleando la transformada de Laplace de las ecuaciones 8.31.a y b y 8.32, seguida de convolución, con las hipótesis anteriores de equilibrio local y flujo de pistón.

Por tanto, como procesos de velocidad tenemos la resistencia externa e interna, combinadas en K_p según el número de Biot. La expresión de K_p tiene en cuenta una cierta resistencia intrapartícula hasta un módulo de Thiele de < 2 (para la reacción de adsorción).

8.5 Pérdida de carga por fricción en lechos porosos

En mecánica de fluidos, se estudia el rozamiento del fluido en lechos de partículas sólidas. Cuando un gas o un líquido pasan a través de un lecho de relleno, la fricción en las paredes es depreciable comparada con la del propio relleno. A día de hoy, la ecuación más general de pérdida de carga es la ecuación de Ergun para lechos de partículas esféricas iguales de radio R, que contiene las contribuciones laminar y turbulenta en una sola ecuación (McCabe *et al*., 1993), que es:

$$\frac{-\Delta P}{L} = \frac{150(1-\alpha)^2\mu u}{\alpha^3 d_p^2} + \frac{1,75(1-\alpha)u^2}{\alpha^3 d_p} \qquad (8.39)$$

donde d_p es 2R y μ es la viscosidad absoluta. El primer sumando de la derecha da la caída de presión en flujo laminar (Re < 90, para un lecho fijo) y el segundo sumando

corresponde al flujo turbulento (Re >120), donde Re es el número de Reynolds relativo al diámetro de la partícula (en un lecho fijo, la transición tiene lugar en Re = 90-120). En biotecnología y cromatografía, utilizamos el primer término de la derecha de la ecuación 8.39, ya que las velocidades son muy pequeñas (del orden de mm/min). En tecnología ambiental (VOC), fluidización, filtros de arena y otras operaciones, se utilizan los dos términos de la ecuación 8.39. Para partículas irregulares, en vez del diámetro d_p, en la ecuación 8.39 debe emplearse un diámetro con un factor de forma o esfericidad apropiado, o sea, $d_p\phi$. Las unidades SI de la ecuación 8.39 son Pa/m.

8.6 Cálculo empírico del cambio de escala: método LUB

Consideremos los sistemas que tienen una curva de avance de la ZTM de forma constante. No se conocen los datos de equilibrio de adsorción; únicamente conocemos la respuesta empírica de un lecho de pruebas de planta piloto o laboratorio. Queremos calcular el adsorbedor de planta utilizando solo cambio de escala.

Tiempo estequiométrico y tiempo de ruptura. En principio, cuando se quiere calcular un adsorbedor, se emplea el tiempo estequiométrico, que es el mínimo tiempo para la adsorción. Éste se define suponiendo que la velocidad de paso del fluido por el adsorbedor es suficientemente lenta como para saturar el lecho, de modo que el fluido sale en equilibrio con el adsorbente con respecto al soluto. Ello implica que la velocidad de transporte de masa es infinitamente rápida y que el flujo es de pistón. En estas condiciones, el tiempo de adsorción es el mínimo posible. Considerando 1 m^2 de sección transversal, tenemos que, si C_0 y q_{sat} están siempre en equilibrio, y el tiempo es estequiométrico t*, se deberá cumplir:

$$uC_0t^* = L\rho_B q_{sat} \tag{8.40}$$

siendo C_0 el valor de C en equilibrio con q_{sat}. De donde t* valdrá, pues:

$$t^* = \frac{L\rho_B q_{sat}}{uC_0} \tag{8.41}$$

y, por tanto, la velocidad de avance del frente estequiométrico valdrá:

$$v_s = \frac{uC_0}{\rho_B q_{sat}} \tag{8.42}$$

En la figura 8.9, se ve que cuando $t = t_B$, la ZTM, al tener la forma sigmoide dentro del lecho, empieza a soltar soluto en la salida a z = L, es decir, el soluto empieza fugarse. El tiempo de operación práctico del lecho se fija admitiendo un valor máximo de fuga de soluto de un 5 %, o sea, que el valor del tiempo de operación del lecho t_B sea tal que $C/C_0 = 0{,}05$. Por tanto, cuando el tiempo sea t_B, *habrá una fracción de lecho no utilizada* o una longitud de lecho no usada (LUB), que asumimos que no aprovechamos, por especificación y por economía, porque no aceptamos perder más soluto que el que perdemos en t_B. El diseño del lecho por cambio de escala se hace teniendo en cuenta que este valor de LUB se mantiene constante.

8.6.1. Cálculo de la LUB a partir de pruebas a escala reducida

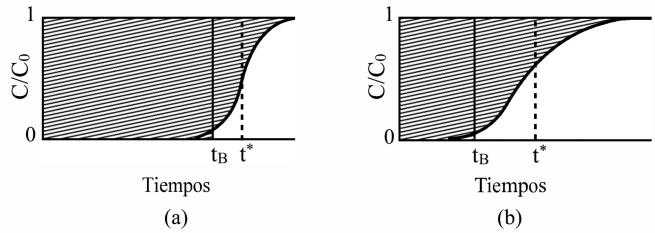


Fig. 8.11
Cuanto menor sea la variancia de la curva de ruptura, más eficaz será el lecho. La variancia de la curva permite hacer un cambio de escala fiable

Como puede verse en la figura 8.11, la fracción del lecho útil se puede calcular evaluando el cociente:

$$f_{util} = \frac{\int_0^{t_B}\left(1-\frac{C}{C_0}\right)dt}{\int_0^{\infty}\left(1-\frac{C}{C_0}\right)dt} \tag{8.43}$$

en que el numerador es la fracción de alimentación adsorbida hasta $t = t_B$, y el denominador es la cantidad *total* adsorbida hasta $C/C_0 = 1$. Las integrales se calculan teniendo la curva de ruptura experimental de un lecho piloto. Entonces, la LUB se calcula como la fracción del lecho no utilizada, es decir:

$$LUB = (1 - f_{util})L \tag{8.44}$$

En la figura 8.11, se observa la relación entre t_B y t*, correspondientes a L_B, y el final del lecho L, respectivamente. Utilizando la velocidad del frente estequiométrico v_s para calcular las distancias L y L_B, tendremos las relaciones siguientes:

$$LUB = L - L_B = v_s\left(t^* - t_B\right) = L\left(\frac{t^* - t_B}{t^*}\right)$$
$$L = L_B + LUB \tag{8.45}$$

de donde:

$$t_B = t^*\left(1 - \frac{LUB}{L}\right) \tag{8.46}$$

expresiones que nos dan ecuaciones suficientes para dimensionar el lecho. Con el fin de obtener los valores de t_B y t*, se pueden utilizar las integrales del numerador y del denominador de la ecuación anterior, a partir de uno o dos ensayos en una planta piloto o en un laboratorio en condiciones controladas, en las que medimos C/C_0 sobre toda la curva de ruptura a diferentes tiempos. En estos ensayos, en que disponemos de C/C_0 *vs.* t, calculamos las integrales siguientes:

$$t_B = \int_0^{t_B}\left(1-\frac{C}{C_0}\right)dt \tag{8.47}$$

$$t^* = \int_0^{\infty}\left(1-\frac{C}{C_0}\right)dt \tag{8.48}$$

Este procedimiento se denomina *diseño por cambio de escala* y, en el modelo y en la instalación final, se mantienen constantes la velocidad del fluido y el tamaño y la porosidad del adsorbente. Manteniendo constantes estos dos factores, se asegura que la constante global de transporte, K_p es constante. Sin embargo, no se impone que el valor de la longitud del lecho L sea constante, pero sí que la distancia LUB lo sea. A partir de estas hipótesis, se seleccionan la longitud L del lecho grande y el tiempo de operación o de ruptura.

Ejemplo 8.5. Cálculo de un lecho de adsorción por el método LUB

En la tabla siguiente, se dan los datos de ruptura, C_{salida} *vs* t, de una columna de adsorción en una prueba del laboratorio (lecho de 5 cm de diámetro y 15 cm de longitud). El caudal del fluido es de 400 cm^3/h y la concentración de alimentación del bioproducto es de C_0 = 0,75 U/L (U, unidades de actividad biológica). Se quiere hacer una columna más larga, de 30 cm, extrapolando los datos de la columna pequeña por el método LUB. Además, se quiere saber cuál será el tiempo de ruptura (t_B) de la columna larga.

Concentraciones de ruptura de una columna de adsorción, C_0 = 0,75 U/L

t (h)	**20,5**	**26,7**	**32,0**	**36**
C_{sal} (U/L)	0,01	0,20	0,39	0,53
C/C_0	0,013	0,26	0,52	0,71
$1- C/C_0$	0,98	0,74	0,48	0,29

L = 15 cm, Q = 400 cm^3/h, U/L = unidades de actividad por litro. Para t = ∞, C/C_0 = 1

Se calculan las integrales gráficas de la función $1-C/C_0$ *vs.* t (v. ec. 8.47 y 8.48), utilizando los datos de la tabla, haciendo la integral frente a t, y se obtiene t_B = 21,4 h y t* = 31,2 h. Por tanto, para la columna de laboratorio, de 15 cm, tendremos:

$$f_{util} = \frac{21,4}{31,2} = 0,685 \qquad LUB = (1-0,685)15 = 4,7cm$$

La velocidad superficial en la columna pequeña y en la grande, valdrá:

$$u = \frac{Q}{S} = \frac{400}{\pi 5^2/4} = 20,4\,cm/h$$

Ecuaciones del adsorbente para la columna de laboratorio, L= 15 cm, t* = 31,4 h, u = 20,4 cm/h. Aplicando la ecuación del tiempo estequiométrico, se tendrá:

$$\frac{uC_0t^*}{L} = \rho_B q_{sat}$$

de la cual podemos calcular el término de la derecha, que será un invariante de ambas columnas:

$$\rho_B q_{sat} = \frac{20,4 \times 0,00075 \times 31,4}{15} = 0,0321 U/cm^3$$

Este valor será también bueno para la columna grande (ya que es el mismo adsorbente).

Columna grande, L = 30 cm. Los valores siguientes serán constantes: LUB = 4,77 cm, u = 20,4 cm/h y, para el adsorbente, $\rho_B\, q_{sat} = 0{,}0321$ U/cm^3. Calculamos, pues, t_B y t*:

$$\frac{LUB}{L} = \frac{4{,}77}{30} = 0{,}153$$

$$t^* = \frac{L\rho_B q_{sat}}{uC_0} = \frac{30 \times 32{,}1}{20{,}4 \times 75} = 62{,}4h$$

$$t_B = t^*(1 - LUB/L) = 62{,}9 \times (1 - 0{,}153) = 53{,}3h$$

que nos dan las condiciones de trabajo del adsorbedor grande.

8.7 Momentos de la respuesta temporal

La curva de respuesta transitoria de un lecho fijo o de una columna cromatográfica en que se introduce una entrada en pulso o escalón permite medir los momentos de respuesta. Estos son el momento de orden 0 (que, para una adsorción reversible sin reacción vale 1), el tiempo de residencia o momento de 1^r orden, y el momento de 2º orden o dispersión. Así pues, para la salida C (z,t), el momento de orden n vale:

$$m_n = \int_0^\infty t^n C(L,t)dt \tag{8.49}$$

y el momento absoluto de orden n vale:

$$\mu_n = \frac{m_n}{m_0} = \frac{\int_0^\infty t^n C(L,t)dt}{\int_0^\infty C(L,t)dt} \tag{8.50}$$

Para el caso de n = 0, $m_0 = 1$. Para n = 1, nos da el tiempo de residencia medio, μ_1. Y, para n = 2, nos da la dispersión de la señal de salida. Levenspiel (1975) realiza una excelente exposición del tema y explica el cálculo de los momentos utilizando trazadores no reactivos.

La dispersión es el momento centrado de 2º orden con respecto a la media, que se define como:

$$\mu_2' = \frac{\int_0^\infty (t-\mu_1)^2 C(L,t)dt}{\int_0^\infty C(L,t)dt} \tag{8.51}$$

Los momentos se determinan experimentalmente midiendo las C en z = L y calculando con ellos las integrales anteriores. A partir de la señal analógica o digital del detector, se pueden calcular directamente los momentos tras un pulso o un escalón. El segundo paso es relacionar los momentos con los parámetros del modelo. No hay que resolver las ecuaciones del modelo para calcular los momentos (v. Anexo A). Basta con obtener la transmitancia de la concentración dinámica en la salida, $\underline{C}$ (L,s), lo cual es más fácil. Se hace una entrada en impulso a partir de las ecuaciones de conservación del modelo (ec. 8.20 a 8.22) y, a continuación, se aplica el teorema de Van der Laan (v. Anexo A). Los momentos de orden 1 y 2 anteriores son las derivadas primeras y segundas de $\underline{C}$ (L,s) para s = 0. Para las ecuaciones del modelo, las contribuciones a los momentos son el primer momento absoluto (Furusawa *et al*., 1976):

$$\mu_1 = \frac{L}{V}(1+\delta_0)$$
$$\delta_0 = \frac{1-\alpha}{\alpha}\left(\beta + \rho_p K\right) \tag{8.52}$$

El segundo momento centrado, calculado a partir del momento absoluto de 2º orden con $\mu_2' = \mu_2 - \mu_1^2$, vale:

$$\mu_2' = \frac{2L}{v}\left(\delta_{\text{int }rap} + \delta_{ad} + \delta_f + \delta_{ax}\right) \tag{8.53}$$

Las contribuciones al primer momento y al segundo momento provienen, pues, de δ_0 y δ_1. Interesa sobre todo la dispersión de la señal a la salida del lecho o curva de ruptura. La figura 8.11 indica que, cuanto más se dispersa la señal, mayor es la fracción de lecho no usada (curva de la derecha de la fig. 8.11); por tanto, tenemos que examinar la contribución de cada parámetro a la variancia total de la señal para tener una curva de ruptura lo menos dispersa posible.

Las contribuciones a la variancia total σ_{tot}^2 se calculan individualmente. Las cantidades δ anteriores tienen dimensiones (tiempo). Sin embargo, las contribuciones que facilitamos a continuación son adimensionales (v. Blanch y Clark, 1997):

1. Difusión intrapartícula:

$$\sigma^2_{\text{int }ra} = \frac{2\delta_{\text{int }rap}}{L/v} = 2\frac{1-\alpha}{\alpha}\frac{R^2}{15D_e}\left(\beta + \rho K^2\right)\frac{v}{L} \tag{8.54}$$

2. Dispersión axial:

$$\sigma^2_{ax} = \frac{2\delta_{ax}}{L/v} = \frac{2E}{vL}(1+\delta_0)^2 \tag{8.55}$$

3. Transferencia de masa externa:

$$\sigma^2_{film} = \frac{2\delta_{film}}{L/v} = \frac{2(1-\alpha)}{\alpha}\frac{\left(\beta + \rho K\right)^2 vR}{3k_m L} \tag{8.56}$$

4. Velocidad de adsorción:

$$\sigma_{ads}^2 = \frac{2\delta_{ad}}{L/v} = \frac{2(1-\alpha)}{\alpha}\frac{(\rho K)^2}{k_a}\frac{v}{L} \tag{8.57}$$

Blanch y Clark (1997) dan estas ecuaciones, en función del número de unidades de transferencia (1/N, inversos de las sigmas al cuadrado). Sin embargo, la interpretación es la misma. Es importante observar que, excepto la dispersión axial (que disminuye al aumentar la velocidad), las otras contribuciones a la dispersión de la señal son directamente proporcionales a la velocidad del fluido y, por tanto, cuanto menor sea esta, las curvas de ruptura serán menos dispersas y, por tanto, mayor será el aprovechamiento del lecho.

8.8 Cambio de escala basado en los parámetros del modelo

Los momentos proporcionan una guía excelente para cambiar de escala un lecho de adsorción o una columna cromatográfica. Ya hemos visto que habrá que minimizar la variancia de la respuesta. Hay tres factores operativos que afectan la dispersión. Estos son:

- El tamaño de la partícula de adsorbente
- La velocidad del fluido
- La longitud del lecho
- Los coeficientes de velocidad, k_m, k_a,y E

8.8.1 Metodología de cambio de escala más simple

Un problema típico es el siguiente. Queremos incrementar la producción de una columna sin empeorar la dispersión. El método más seguro de cambio de escala consiste en mantener todos los factores constantes: d_p, L y v, y al mismo tiempo incrementar la sección del lecho, para alcanzar una producción mayor. El método de cambio de escala más sencillo consistirá en agrupar en paralelo 100, 200 o más columnas de adsorción, en un lecho mayor equivalente. Al mantener la velocidad igual en el lecho grande, con un examen de las contribuciones a la dispersión sabremos qué factores tendremos que mantener invariantes.

¿Qué inconvenientes tiene este método? El primer problema es hacer un escalón (o un pulso) perfecto en z = 0 y t = 0, en un lecho de gran diámetro; ello se resuelve con una alimentación múltiple en distintos radios, con una distribución fractal del fluido. El otro problema que presentan las partículas pequeñas es su elevada pérdida de carga. En la ecuación de Ergun (ec. 8.39), la caída de presión ($-\Delta P$) se observa que es inversamente proporcional a d_p^2 (en régimen laminar). Una gran $-\Delta P$ implica una compresión indeseable del lecho, con una deformación inadmisible de las esferas de adsorbente contra el fondo de la columna. Por tanto, para efectuar cambios de escala muy grandes, deberemos adoptar otras estrategias.

8.8.2 Metodología de cambio de escala más elaborada

Téngase en cuenta que el efecto más importante del aumento de la dispersión de la señal de salida no es la dispersión axial del soluto, que a gran escala no tiene demasiada influencia, sino el retraso debido al tiempo que el soluto invierte al entrar y salir del interior de las partículas, sobre todo si estas son grandes. Para mantener la dispersión debida a la difusión intrapartícula, tendremos que mantener constante la contribución de ésta (v. ec. 8.54), que es:

$$\sigma^2_{\text{int}ra} \propto \frac{R^2 v}{15 D_e (1-\alpha) L} = const \qquad (8.58)$$

Para el lecho grande, aumentaremos el diámetro de partícula y, por tanto, la pérdida de carga del lecho ($-\Delta P/L$) disminuirá en la ec. de Ergun. Como d_p (y R) aumenta, en la ecuación 8.58 se observa que tenemos que alargar lecho (aumentar L) y/o reducir la velocidad v del fluido, para compensar el mayor tiempo de difusión intrapartícula en una partícula mayor. Ya se ve que esta metodología es más difícil de implementar que la anterior, pero se sabe que es efectiva. Véase el ejemplo siguiente para ver cómo se aplica este criterio.

Cabe señalar que los otros efectos de los diferentes procesos sobre σ_{tot}^2 son menores que el de difusión interna y, por tanto, la ecuación anterior (ec. 8.58) es un criterio adecuado para controlar la dispersión global. Así pues, teniendo en cuenta la difusión intrapartícula, se suelen utilizar tamaños de relleno muy pequeños.

Ejemplo 8.6. Cambio de escala controlando la dispersión

En el laboratorio, se hace una separación satisfactoriamente en una columna de adsorción a escala reducida en las condiciones siguientes:

- Diámetro de la partícula adsorbente $d_p = 20\ \mu m$
- Velocidad superficial del líquido $u = 0{,}1$ mm/s
- Altura de la columna $L = 10$ cm
- Diámetro de la columna $D = 1$ cm

La planta de producción prevista debe hacer una producción 10.000 veces superior que la planta piloto, y queremos especificar la columna de adsorción grande, es decir, se debe dimensionar la columna de adsorción considerando dos criterios de cambio de escala: 1) Manteniendo v y el diámetro del adsorbente d_p en el paso a la escala de producción. O bien, 2) Empleando una partícula de tamaño cinco veces mayor, de 0,1 mm, con la misma velocidad del fluido.

Calcúlese, en este caso, la longitud del lecho para el adsorbedor de producción.

1. Las primas corresponden al lecho grande. Emplearemos $u = u'$, $d_p = d_p'$. La igualdad de velocidades superficiales implica que la sección del lecho grande tiene que cumplir la relación siguiente:

$$\frac{u'S'}{uS} = \frac{S'}{S} = 1 \times 10^4$$

Los diámetros del lecho pequeño y grande son D y D', respectivamente. Entonces:

$$\frac{\pi D'^2}{\pi D^2} = 10^4 \qquad \frac{D'}{D} = 100$$

de donde, si D = 1 cm es el diámetro de la columna pequeña, el diámetro de la columna grande deberá ser D' = 100 × 1 cm = 1 m.

2. Para una producción 10.000 veces mayor, necesitaremos un diámetro de lecho de 1 m. Ahora imponemos que el diámetro de partícula de la columna grande sea $d_{p'}$ = 0,1 mm, y también la condición de la ecuación 8.58. Se tendrá:

$$\frac{(dp')u'}{L'} = \frac{(dp)u}{L}$$

donde las velocidades u y u´son iguales. Sustituyendo valores, tendremos:

$$\frac{(0,1)^2 u}{L'} = \frac{(0,02)^2 u}{L}$$

$$\frac{L'}{L} = \left(\frac{0,1}{0,02}\right)^2 = 5^2 = 25$$

Por tanto, la longitud del lecho grande deberá ser L' = 25 × L = 25 × 10 = 250 cm = 2,5 m, y su diámetro deberá ser de 1 m (como hemos visto).

8.9 Adsorción no lineal: isoterma de Freundlich

Se han presentado los fundamentos de la operación de adsorción. En la primera parte, se han explicado las isotermas de Langmuir y Freundlich y sus aspectos energéticos. En la segunda parte, se ha utilizado la isoterma de Henry (Langmuir lineal) para el diseño de lechos de adsorción y también se ha estudiado la operación inversa de desorción, que se utiliza a menudo en biotecnología para recuperar bioproductos adsorbidos. En ambos casos, se ha utilizado la solución analítica del modelo basado en la función J(s,t) (v. fig. 8.8), debida a Hiester-Vermeulen (Perry-Green, 1980). Esto da un método de cálculo exacto de la adsorción y la desorción, fácil de aplicar. Tan solo requiere dos parámetros: la constante de equilibrio y el coeficiente global de transferencia de masa.

Para el caso de lechos profundos, la solución asintótica de Rosen da unos resultados similares, pero solo es aplicable a lechos largos, en que el parámetro de longitud ζ vale 15 o más, como sugiere Ruthven. Para valores de ζ inferiores, la solución de Rosen es poco práctica, debido a su complejidad, y entonces es preferible utilizar el método de J(s,t). Para valores grandes de ζ, la solución analítica de Rosen sí es práctica, ya que se

puede calcular fácilmente con la función de los errores. Para este caso, véanse los ejemplos dados por Ibarz y Barbosa-Cánovas (2005), relativos a la tecnología alimentaria. En biotecnología, los lechos de adsorción corresponden al caso $\zeta < 8–10$.

8.9.1 Isoterma no lineal: cálculo del punto de ruptura

El método que presentamos a continuación es aplicable a Freundlich, que es una isoterma muy utilizada en tecnología de VOCs y en biotecnología (v. tabla 8.2). Consideramos el caso no lineal (v. ec. 8.14). La isoterma completa de Langmuir también es no lineal y se presta, pues, a este tratamiento, que se explica a continuación.

La figura 8.9 representa el movimiento de la ZTM desde la entrada a lo largo del lecho, y la figura 8.10 muestra el soluto perdido cuando el tiempo de ruptura es t_B y la capacidad no utilizada o desaprovechada de la columna. En z = L, el lecho no está agotado. Ello tiene lugar en un tiempo posterior, llamado t_E. La onda de adsorción, C/C_0, mantiene una forma constante al moverse por dentro del lecho desde z = 0 hasta z = L (v. fig. 8.9).

Cabe señalar que un lecho es tanto más eficaz cuanto más tarda en alcanzarse el tiempo de ruptura. Ello indica que hay menos variancia en la onda de salida. La forma del perfil de C/C_0 *vs*. z y de la curva de ruptura dependen de los parámetros de los momentos. La operación del lecho y la rapidez con que aparece el soluto a la salida indican la calidad o las prestaciones del adsorbedor. Un tiempo t_B pequeño indica una gran dispersión y denota que la adsorción es más ineficiente que otro con mayor tiempo.

Representaremos el movimiento de la onda como se muestra en la figura 8.9 y la ruptura, como en la figura 8.10.

8.9.2 Estimación del punto de ruptura. Diseño del adsorbedor

Como puede verse, si la forma de la onda es constante (1) y si la longitud de la ZTM también es constante (2), puede estimarse el punto de ruptura siempre que se pueda calcular la velocidad de avance de la onda. Este último punto es fundamental: calcularemos la velocidad de translación de la ZTM (v. fig. 8.9), como se describe más adelante.

En la figura 8.9, hemos explicado que se obtiene una ZTM de forma constante, en determinadas condiciones. Ello ocurre cuando la isoterma es *favorable,* condición que se da con las isotermas de Langmuir y Freundlich. Efectivamente, consideremos, por ejemplo, la isoterma de Langmuir de la figura 8.3. Vemos que en todos los puntos se obtiene una disminución de la variación de q cuando C aumenta y, por tanto, la derivada dq/dC es negativa o constante cerca de la saturación. Así pues, la velocidad de la ZTM será mayor a concentraciones de adsorbato mayores. En consecuencia, cerca de la entrada del lecho, la ZTM tendrá una velocidad más alta, que se reducirá más adelante. La ZTM tiende pues, a ser más estrecha aguas abajo. Pero, a medida que avanza, se ensancha, por los efectos de los componentes de la variancia. Estos dos efectos dan una onda con una forma en conjunto constante (v. fig. 8.9, a partir del tiempo t_2). Ello se representa en la figura 8.9, en que se ve el recorrido de la onda con una forma constante.

El método simplificado de cálculo que proponemos ahora se basa en la estimación de la longitud de ZTM y la velocidad de la onda, v_s. Una hipótesis adicional necesaria es que la curva de ruptura sea simétrica con respecto a su centro, donde $C/C_0 = 0{,}5$. Esta es una hipótesis de lecho fijo ideal, es decir, rellenado según un apilamiento regular. En la figura 8.9 *infra*, se ve que el frente estequiométrico pasa por t* para $C/C_0 = 0{,}5$. De acuerdo con eso, la velocidad de la onda vendrá dada por la ecuación 8.42, ya razonada, es decir:

$$v_s = \frac{u\,C_0}{\rho_B\,\overline{q}_{sat}} \tag{8.59}$$

donde $u = \alpha v$ es la velocidad superficial, v es la velocidad intersticial y q_{sat} es la carga de adsorbato en equilibrio con C_0, siendo ésta la concentración C en $z = 0$ y $z > L$, α es la porosidad del lecho y t* es el tiempo estequiométrico.

La hipótesis de la curva de ruptura simétrica permite escribir el tiempo de ruptura en función de $z_a/2$, de la forma siguiente:

$$t_B = \frac{L - z_a/2}{v_s} \tag{8.60}$$

en que t_B es el tiempo de ruptura calculado; z_a es la longitud de la curva de ruptura (v. fig. 8.12); v_s es la velocidad de translación de la onda, dada por la ecuación 8.58, y L es la longitud total del lecho, en la que $C/C_0 = 1$ (lecho agotado). Las ecuaciones 8.59 y 8.60 permiten calcular el punto de ruptura, t_B, conociendo la isoterma. Veámoslo.

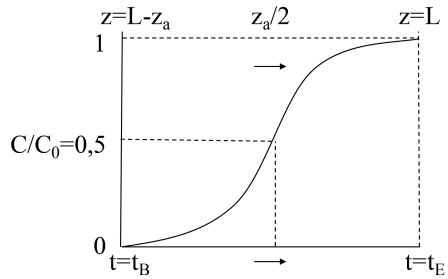


Fig. 8.12
Curva de ruptura simétrica: la longitud de la ZTM vale z_a. En la mitad del intervalo (L-za, L), C/C_0 vale 0,5

Primero calculamos las relaciones C-q en el lecho con la isoterma de Freundlich. La forma constante de la onda de adsorción implica que su pendiente es constante, con las condiciones de integración siguientes, es decir:

$$\begin{aligned} &\frac{d\overline{q}}{dC} = \text{const.} \\ &C = 0 \quad \text{para} \quad \overline{q} = 0 \\ &C = C_0 \quad \text{para} \quad \overline{q} = q_{sat} \end{aligned} \tag{8.61}$$

de donde, por integración y aplicación de las condiciones iniciales, se obtiene:

$$\overline{q} = \frac{q_{sat}}{C_0} C \tag{8.62}$$

Sustituyendo este valor de q en la ecuación 8.28, se puede escribir que la velocidad de adsorción en función de la fuerza impulsora de concentración vale:

$$\rho_B \frac{d\overline{q}}{dt} = \frac{\rho_B q_{sat}}{C_0} \frac{dC}{dt} = K_p a (C - C^*) \tag{8.63}$$

en que C es la concentración en la fase fluida; C* es la concentración en la fase fluida en equilibrio con *q en la fase sólida*, según la isoterma de Freundlich, y C - C* es la fuerza impulsora *en la fase fluida*, en un punto del lecho. Veremos después la utilidad de esta ecuación en el intervalo z = L- z_a y z = L.

Cálculo de la longitud z_a. Para una curva de ruptura simétrica, utilizaremos la ecuación 8.62 para calcular z_a. Para una sección transversal de 1 m^2 de lecho, con caudal volumétrico u, la cantidad adsorbida valdrá:

$$1\text{m}^2 \times dz_a = \frac{\text{kg/s absorbidos}}{\text{Flujo de adsorción, kg/(m}^3\text{s)}} = \frac{udC}{K_p a (C - C^*)} \tag{8.64}$$

Integrando esta ecuación entre C_B y C_E, se obtendrá z_a:

$$z_a = \frac{u}{K_p a} \int_{C_B}^{C_E} \frac{dC}{(C - C^*)} \tag{8.65}$$

en que C_B y C_E son las concentraciones a la ruptura y en el agotamiento, respectivamente.

Si ahora sustituimos el valor de z_a de la ecuación 8.65 en la ecuación 8.60, utilizando v_s de la ecuación 8.59, obtenemos el tiempo de ruptura, t_B, que valdrá:

$$t_B = \frac{\rho_B q_{sat}}{u C_0} \left[L - \frac{u}{2 K_p a} \int_{C_B}^{C_E} \frac{dC}{(C - C^*)} \right] \tag{8.66}$$

Obsérvese que esta ecuación permite calcular el tiempo de operación t_B para un lecho de longitud L, conocida la isoterma que relaciona C con C*, en un caso general no lineal, conociendo el coeficiente de transporte K_p. A veces, se puede obtener la integral analítica de la ecuación 8.64 y utilizarla en la ecuación 8.66. Sin embargo, es más fácil expresar la fuerza impulsora a partir de la isoterma y calcular numéricamente la integral de la ecuación 8.66. El ejemplo siguiente, debido a Katoh, ilustra el procedimiento a seguir para el caso de una isoterma de Freundlich. La ecuación 8.65 es también la ecuación de diseño del lecho, es decir, cuando interesa calcular L, fijado el tiempo de operación del lecho y los parámetros adecuados.

Ejemplo 8.7. Cálculo de un adsorbedor: predicción del tiempo de ruptura con la isoterma de Freundlich

Se utiliza una columna de 25 cm de longitud con un relleno de partículas de carbón vegetal poroso como adsorbente (supónganse esferas de 0,6 mm de diámetro). La corriente de entrada al adsorbedor fluye a una velocidad intersticial de 1,6 m/h, y la porosidad del lecho vale 0,5. La concentración del soluto en la corriente de entrada es $C_0 = 1{,}1$ mol/m^3. De las pruebas de laboratorio, se conoce la isoterma del soluto sobre carbón a la temperatura de trabajo, que es:

$$\rho_b \overline{q} = 1.270 C^{0,11}$$

donde $\rho_B = 386$ kg/m^3. En donde q se expresa en moles de soluto/kg de carbón y C, en moles/m^3. El solvente es acuoso. Suponemos un coeficiente de transferencia volumétrico, $K_{pa} = 9{,}2$ h^{-1}. Además, se cumple que el perfil de la onda de adsorción es constante y la curva de ruptura es simétrica.

Calcúlese el tiempo de ruptura durante la operación normal de este lecho. Durante la operación, las concentraciones a la entrada de la columna son de 1,1 mol/m^3 y a la salida, de 0,11 mol/m^3.

Tenemos los datos siguientes:

L = 0,25 m; tamaño del carbón $d_p = 0{,}66$ mm; $C_0 = 1{,}1$ mol/m^3; $\alpha = 0{,}5$; $K_p a = 9{,}2$ h^{-1}

Velocidad superficial, $u = \alpha v = 0{,}5 \times 1{,}6 = 0{,}8$ m/h

Planteamos la integral de la ecuación 8.64. Para cada valor de C, necesitamos calcular C* con la isoterma. Esta relaciona puntos en equilibrio, C*-q, es decir:

$$\rho_B \overline{q} = 1.270 (C^*)^{0,11}$$

Aplicándola a dos puntos diferentes de la isoterma, y dividiendo miembro a miembro, se tendrá:

$$\frac{\overline{q}}{q_{sat}} = \left(\frac{C^*}{C_0} \right)^{0,11}$$

Así pues, la relación entre C y C* se puede calcular a partir de C*, de la forma siguiente:

$$\left(\frac{C}{C_0} \right)^{1/0,11} = \frac{C^*}{C_0} \quad \Rightarrow \quad C^* = C_0 \left(\frac{C}{C_0} \right)^{1/0,11}$$

Este valor de C* permite calcular la fuerza impulsora, C-C*, de la integral de la ecuación 8.65. Dando el valor a $C_0 = 1{,}1$, la integral que se tiene que resolver finalmente es la siguiente:

$$Int = \int_{0,1C_0}^{0,9C_0} \frac{dC}{C - C_0(C/C_0)^{9,1}} = \int_{0,11}^{0,99} \frac{dC}{C - 0,462\,C^{9,1}}$$

Integrando numéricamente (por trapezoides) con 10 valores de C entre 0,11 y 0,99, se obtiene que la integral vale *Int* = 2,33 (adimensional).

Calculamos ahora t_B empleando la ecuación 8.65:

$$t_B = \frac{1.270 \times 1,1^{0,11}}{0,8 \times 1,1}\left[0,25 - \frac{0,8 \times 2,33}{2 \times 9,2}\right] = 216\,\text{h}$$

Vemos que el tiempo de ruptura es bastante grande, 216 h, si tenemos en cuenta la poca profundidad del lecho, L = 25 cm.

8.10 Evaluación de los parámetros y consideraciones finales

A menudo, tenemos que escoger entre un modelo de cálculo simple o utilizar uno más elaborado. Aquí hemos utilizado la hipótesis de que la constante global de velocidad de adsorción es una combinación de la resistencia externa e interna; por tanto, se podría tener en cuenta parte de la difusión en la capa límite y una resistencia intrapartícula moderada, hasta un módulo de Thiele no superior a 2 (Tomida y McCoy, 1985), lo cual permite efectuar un cálculo gráfico, exacto y sencillo (v. ec. 8.24 y 8.25), basado en la función J(s,t), o más elaborado (con una isoterma no lineal), como en el ejemplo 8.7.

Para evaluar k_m (y, después K_p), se recomienda la correlación más moderna para lechos fijos debida a Wakao-Funazkri (v. fig. 8.12), que abarca desde Re = 1 hasta Re = 1.000. La correlación es la siguiente:

$$Sh = \frac{k_m d_p}{D_{12}} 2 + 1,1\,\text{Re}^{0,6}\,Sc^{1/3} \qquad (8.67)$$

Con respecto a la resistencia intrapartícula, tendremos que evaluar la difusividad intrapartícula, D_e, a partir de la difusividad binaria, D_{12}, y después hacer:

$$D_e = \frac{D_{12}\beta}{4} \qquad (8.68)$$

donde β es la porosidad interna de la partícula y el factor 4 es un factor empírico medio, basado en la catálisis heterogénea.

Los casos de las isotermas no lineales de Freundlich o Langmuir se pueden tratar también con la metodología de la función J(s,t), como han demostrado diversos autores, utilizando las variables adimensionales ζ y τ, definidas para cada caso. En muchas referencias, este tipo de cálculo se ha aplicado a la biotecnología para anticuerpos monoclonales,

a la cromatografía de separación de azúcares y demás, y permite utilizar la figura 8.8 en sistemas no lineales. El método que se explica en el apartado 9.1 y que se ilustra en el ejemplo 8.7 es aplicable siempre que conozcamos k_m y se cumpla la hipótesis del patrón de adsorción constante.

En este capítulo, se ha estudiado la metodología del cambio de escala de los adsorbedores basado en la LUB y en los valores de los momentos de la curva de respuesta temporal. Se han resuelto unos cuantos problemas del cambio de escala, que se presentan en adsorción y en cromatografía aplicadas a la biotecnología.

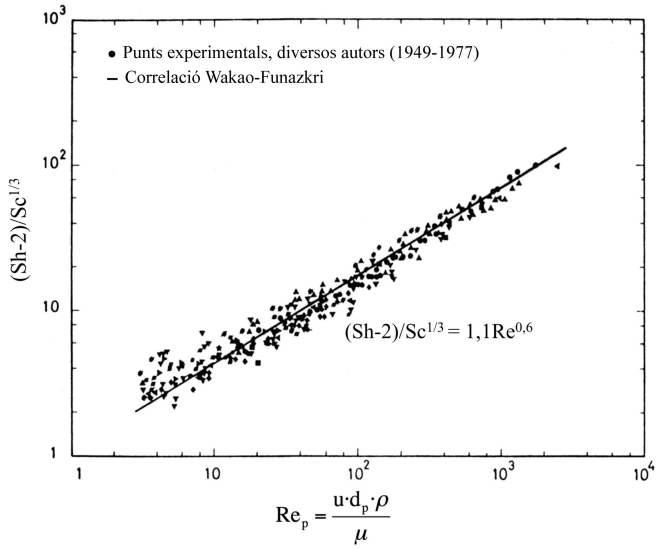


Fig. 8.13
Correlación de Wakao-Funazkri por transferencia en lechos fijos con líquidos o gases

8.11 Notación

a	área específica, en m^{-1}
Bi	número de Biot de masa = $k_m R/D_e$
C	concentración molar, en mol/m^3
Ci	concentración molar en el fluido de los poros, en mol/m^3
D_{12}	difusividad molecular, en m^2/s
D_e	difusividad efectiva, en m^2/s
d_p	diámetro de la esfera, en m
F	volumen de la disolución, en m^3
f_{util}	fracción de lecho útil
h	entalpía molar, en J/mol
h(t)	escalón unitario en t = 0
Δh	valor de la entalpía de adsorción, en J/mol
I_0	función de Bessel modificada, de clase 1 y orden 0
J(s,t)	función J de dos argumentos, ec. 8.35
K	constante de equilibrio
k'	$= K_p a/\alpha$
k	$= K_p a/(1-\alpha)(\rho_p + \beta/K)$
k_a	Constante cinética de adsorción
K_c	k_a/k_d, constante de equilibrio de adsorción, en m^3/kg, $K' = K_c q_m$
k_m	coeficiente de transferencia de masa, en m/s
K_p	coeficiente TM global, ec. 8.24, en m/s
L	longitud del adsorbedor, en m
LUB	longitud de lecho no utilizada, m
m_n	momento de orden n, ec. 8.49
P	presión, en Pa
q	carga de adsorbato sobre el sólido, q_m, id valor máximo, en mol/kg
q_{sat}	valor de equilibrio con C_0, en mol/kg
R	radio de la esfera, en m
r	coordenada radial de la esfera, en m
r_a	velocidad de adsorción, en $mol/m^3 s$, r_d, id. de desorción
Re	número de Reynolds, $u\rho d_p/\mu$
Sc	número de Schmidt, $\rho/\mu D_{12}$
Sh	número de Sherwood, ec. 8.59
t	tiempo, en s
t*	tiempo estequiométrico, en s
t_B	tiempo de ruptura, en s
u	velocidad superficial, en m/s
v	velocidad intersticial, en m/s
v_s	velocidad del frente estequiométrico, en m/s
W	Masa de adsorbente sólido, en kg
X	C/C_0, durante la adsorción
X´	1-X, durante la desorción
Y	q/q_0, durante la adsorción
Y´	1-Y, durante la desorción
z	posición, en m
α	porosidad del lecho
β	porosidad de la partícula
σ^2	contribuciones a la dispersión total,en s^2, ec. 8.53 a 8.57
μ_0	momento absoluto de orden 0
μ_1	momento absoluto de orden 1, en s, ec. 8.50
μ_2	momento absoluto de orden 2, en s^2, ec. 8.51, μ_2' = id centrado
ρ_p	densidad de la partícula, en kg/m^3
$\Delta\sigma^2$	variancia de la señal, en s^2, ec. 8.53
τ	tiempo adimensional, ec. 8.36
θ	cobertura del adsorbente = q/q_m
ζ	longitud adimensional, ec. 8.36

Cromatografía

En este capítulo, se estudia la cromatografía en general y, en particular, la cromatografía líquida de elución, como proceso de separación y purificación a escala de producción. Por un lado, se presupone que el estudiante conoce la cromatografía de gases de materias prácticas como el análisis instrumental, y por otro, se supone que los ingenieros químicos conocen la teoría del flujo no ideal, y la dinámica y el control de procesos.

Desde un punto de vista general, la figura 9.1 proporciona un esquema de los usos de la cromatografía general. En biotecnología, interesa su uso como proceso de separación. Hay que observar que el grado de purificación después de una separación cromatográfica, la ultrafiltración o la electroforesis, puede ser cercano al 98 %. Sin embargo, en algunas aplicaciones farmacológicas, esta pureza es insuficiente y son necesarias operaciones posteriores con el fin de alcanzar una concentración de impureza de partes por millón –y a veces– de partes por billón.

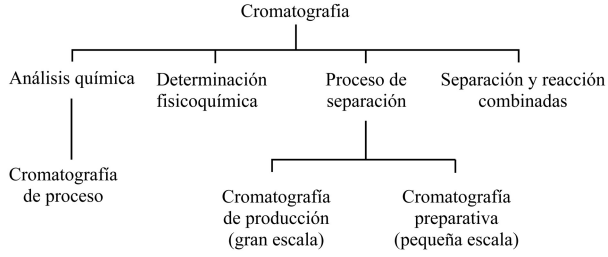


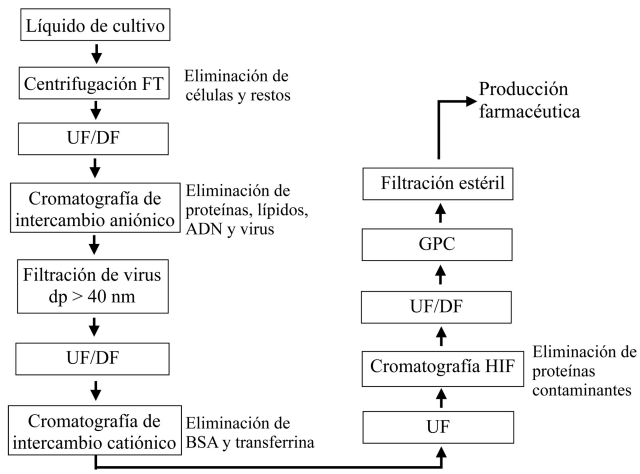
Fig. 9.1
Usos de la cromatografía hoy en día. En biotecnología, interesa la cromatografía como proceso de separación y adaptación para la producción

Con el desarrollo de las técnicas de ADN recombinante para la síntesis de proteínas, la cromatografía ha tomado un nuevo impulso. En un mismo proceso de producción, se utilizan hoy en día diversas purificaciones cromatográficas con el fin de alcanzar diferentes objetivos en un mismo proceso. El conjunto de técnicas de cromatografía líquida que se utilizan en biotecnología se resume en la tabla 9.1, con sus características principales. En la figura 9.2, se ve la aplicación de la cromatografía en un proceso complejo de separación del interferón recombinante. En el proceso, se utiliza una combinación de diferentes columnas de cromatografía: de intercambio iónico, de afinidad, de fase inversa, permeación sobre gel y otras técnicas de migración, como la ultrafiltración y la diálisis, la electroforesis, etc., como se ve en la figura 9.2. La escala de producción puede ser grande. Por ejemplo, una planta de insulina biológica humana que fabrica unos 2.000 kg/a puede tener hasta 12 columnas de 50 cm de diámetro de diversos tipos de cromatografía.

Tabla 9.1
Métodos cromatográficos de biosepara-ración a gran escala

Tipo de cromatografía	Mecanismo de retención	Resolución/ velocidad/capacidad	Aplicación típica
Intercambio iónico	Reacción iónica	Alta/alta/alta	Proteínas, virus
Interacción hidrófoba	Adsorción L-S	Buena/buena/alta	Polipéptidos
Afinidad	Bioafinidad	Excelente/alta/alta	Antígeno-anticuerpo
Fase invertida	Reparto L-L	Excelente/alta/alta	ADN, plasmidios
Exclusión por tamaño	Permeación sobre gel	Modesta/buena/alta	Proteína, plasmidios, ADN

Fig. 9.2
Operaciones de separación en la producción de un interferón recombinante a partir del caldo de fermentación filtrado. UF/DF = ultrafiltración/diafiltración; centrifugación FT = centrifugación/filtración tangencial continua; GPC = cromatografía de permeación sobre gel; HIC = cromatografía de adsorción hidrofóbica



Así como la adsorción se centraba en un adsorbato (v. cap. 8), la cromatografía como proceso de separación se basa en la adsorción-desorción de dos o más solutos en una o diversas columnas y, por tanto, se trata de una separación multicomponente. La teoría de los momentos de la respuesta temporal de un adsorbedor (v. cap. 8) se aplica aquí a la cromatografía (v. resumen de la teoría de los momentos al final de este capítulo). La cromatografía es un proceso de separación no estacionario, basado en la diferencia de velocidad de transferencia de masa de los componentes, y no se puede analizar con el concepto de etapa de equilibrio (si bien se utiliza el concepto de equilibrio local). Para un estudio más profundo de los procesos de separación por velocidad, véase Wankat (1999). La columna se puede describir hidráulicamente como un cierto número de recipientes en serie que contienen adsorbente, o bien como un tubo relleno de partículas de adsorbente que son atravesados por un flujo no estacionario de componentes que se adsorben y se desorben. En principio, se aplica la teoría de distribución del tiempo de residencia, ampliada con la transferencia de masa externa e interna y la adsorción.

En este capítulo, se estudian primero los fundamentos de la cromatografía lineal, las bases físicas de la cromatografía de elución, la teoría de la retención y la eficiencia de la separación. Y, después, los tipos de cromatografía empleados en la biotecnología de producción.

9.1 Fundamentos de la cromatografía de elución

El tipo más corriente de cromatografía es el de elución en una columna de relleno, en que la alimentación es un pulso de muestra con el objetivo de separar sus componentes. Este tipo se muestra esquemáticamente en la figura 9.3. Consta de un inyector donde se introduce un pulso de Dirac de una disolución que contiene los compuestos A, B y C, que se quieren separar a lo largo de la columna. Esta está rellena de un sólido poroso, que de forma selectiva adsorbe preferentemente un componente. Después, se sigue eluyendo con una fase móvil o un portador a través del tubo. La banda de solutos se sigue separando, como se muestra en la figura 9.3. La corriente de salida del tubo se vigila continuamente con un detector capaz de cuantificar y registrar los perfiles de salida. La velocidad de cada lado depende de las características de adsorción de cada componente en el relleno sólido. En el ejemplo de la figura 9.3, el soluto B va más rápido que el soluto A. Ello quiere decir que tiene menos afinidad por el sólido y más afinidad por la fase móvil. Así pues, para separar, utilizamos la migración diferencial, que es un proceso basado en la distinta velocidad de migración de los componentes. Considerando estas características de interacción entre el fluido y el sólido, la cromatografía se utiliza también para determinar coeficientes de distribución LL (en cromatografía, líquido-líquido), coeficientes de actividad ELV (en cromatografía, gas-líquido), así como para el análisis químico. Las áreas bajo la curva de respuesta de cada componente son proporcionales a la masa de sustancia eluyente. La respuesta depende del tipo de detector que se utiliza. El momento de orden 0 de la respuesta vale la unidad, porque idealmente tratamos con una adsorción reversible y sin reacción química.

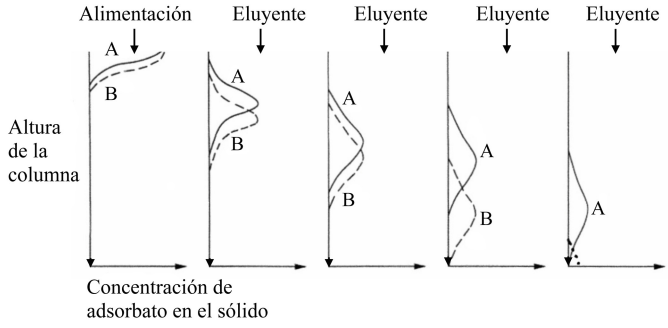


Fig. 9.3
Movimiento de dos componentes, A y B, en una columna de cromatografía. Véase la inyección de la muestra (en la alimentación, A y B están juntos); la separación progresiva de A y B, y el ensanchamiento de los picos, gracias a la acción del eluyente. Al final de la columna, el componente A está ligeramente contaminado con B

La cromatografía de producción comercial se lleva a cabo repitiendo operaciones por cargas, como la anterior, haciendo sucesivas inyecciones, un tras otra, en la misma columna. El ciclo de inyecciones se temporiza de modo que, a la salida del último pico de una operación, se procede a la inyección siguiente, como se muestra en la figura 9.3. Así pues, hay dos o más picos en resolución corriendo por la columna durante el proceso de separación.

9.1.1 Velocidad del frente de onda de un componente

El balance del componente en la fase móvil de la figura 9.3 viene dado por la ecuación 8.20 del capítulo anterior, que escribimos aquí para el componente j:

$$E\frac{\partial^2 C_j}{\partial z^2} - u\frac{\partial C_j}{\partial z} = \varepsilon\frac{\partial C_j}{\partial t} + (1-\varepsilon)\rho_p\frac{\partial \overline{q_j}}{\partial t} \qquad (9.1)$$

donde se ha sustituido el término de transferencia de masa, $K_p a$, por la velocidad de adsorción, haciendo uso de las ecuaciones 8.21 y 8.23, con el concepto de fuerza impulsora lineal. En la ecuación 9.1, la porosidad del lecho se escribe como ε, y u es la velocidad superficial del fluido. Luego, la velocidad intersticial del fluido será v = u/ε.

Queremos calcular la velocidad de un pico al recorrer la columna para un caudal constante de eluyente. Hacemos las simplificaciones siguientes:

1) Dispersión axial nula, E = 0

2) Equilibrio local de adsorción, q* = f (C), según Langmuir

con lo cual la ecuación 9.1 se transforma en:

$$u\frac{\partial C_j}{\partial z}+\varepsilon\frac{\partial C_j}{\partial t}+(1-\varepsilon)\rho_p\frac{\partial \overline{q_j}}{\partial t}=0 \tag{9.2}$$

A fin de considerar únicamente la fase fluida, utilizaremos la relación siguiente en un punto z de la columna:

$$\left(\frac{\partial \overline{q}}{\partial t}\right)_z=\left(\frac{\partial q*}{\partial t}\right)_z=\left(\frac{\partial q*}{\partial C}\right)\left(\frac{\partial C}{\partial t}\right)_z \tag{9.3}$$

en que la derivada dq*/dC depende de la isoterma de adsorción. Sustituyendo la expresión (ec. 9.3) en la ecuación 9.2 y sacando factor común de la derivada dC/dt, se obtiene una ecuación diferencial en términos de $C_j(z,t)$, para el componente j:

$$\frac{\partial C_j}{\partial t}+\frac{u}{\varepsilon+(1-\varepsilon)(dq*/dC)\rho_p}\frac{\partial C_j}{\partial z}=0 \tag{9.4}$$

que es una ecuación de onda cinemática de primer orden. Si consideramos una entrada en pulso, el frente del componente j se moverá a una velocidad u_j, o velocidad de la onda de choque. Esta vale:

$$u_j=\frac{u}{\varepsilon+(1-\varepsilon)q'(C)\rho_p} \tag{9.5}$$

Esta velocidad es constante para temperatura constante y si la derivada es constante. El movimiento es, pues, uniforme. Como se ve en la ecuación 9.5, la velocidad del frente del componente j se mueve más lentamente que el fluido. Para una isoterma lineal, $(dq*/dC)\rho_p = K_a$, la expresión de la velocidad *efectiva* del frente de j es:

$$u_j=\frac{u}{\varepsilon+(1-\varepsilon)K_a} \tag{9.6}$$

y, por tanto, el tiempo que el componente j tarda en recorrer la longitud L, valdrá:

$$\overline{t_{Rj}}=\frac{L}{u}\left[\varepsilon+(1-\varepsilon)K_a\right]=\frac{L}{v}\left[1+\frac{1-\varepsilon}{\varepsilon}K_a\right] \tag{9.7}$$

que se denomina *tiempo de retención del componente j* (v. ec. 9.7).

A una temperatura dada y para un caudal de portador fijado, el tiempo de retención refleja la identidad de un componente, ya que contiene información solamente la constante K_a, propia del componente j. De este razonamiento y de las expresiones anteriores, se puede calcular la longitud de columna necesaria para separar dos solutos si se conocen sus constantes de adsorción. Y, a la inversa, las constantes de adsorción se pueden estimar a partir del tiempo de retención de cada uno de ellos. No sabemos, sin embargo, si las constantes de los componentes han de ser muy diferentes o poco, a fin de que se separen bien los picos. El ejemplo siguiente aclara esta pregunta.

Ejemplo 9.1. Separación de dos picos cromatográficos

De dos componentes, 1 y 2, conocemos del laboratorio los coeficientes de reparto adimensionales, que valen $K_1\rho_p = 7,5$ y $K_2\rho_p = 7,8$. La columna de producción trabaja con una alimentación líquida a una velocidad superficial del eluyente de 23 cm/h (valor habitual), tiene un diámetro de 63 cm y una fracción vacía de $\varepsilon = 0,33$. Queremos separar los dos componentes a la salida al menos 8 min. Calcúlese la longitud mínima de la columna.

Para calcular las velocidades de los frentes de los solutos, utilizamos la ecuación 9.6, con u = 23 cm/h = 0,385 cm/min. Las K_a son muy próximas: $K_{a1} = 7,5$ y $K_{a2} = 7,8$, y la velocidad del frente de 1 será:

$$u_1 = \frac{u}{\varepsilon + (1-\varepsilon)K_{a_1}} = \frac{0,385}{0,33 + 0,67 \times 7,5} = 0,0718\,\text{cm/min}$$

Análogamente, para el componente 2, se obtiene $u_2 = 0,0692$ cm/min. Imponemos ahora que la diferencia de tiempo de retención sea 8 min, siendo L la longitud mínima de la columna:

$$t_{R_2} - t_{R_1} = \frac{L}{0,0692} - \frac{L}{0,0718} = L\left(\frac{1}{0,0692} - \frac{1}{0,0718}\right) = 8\,\text{min}$$

de donde se obtiene L = 17,9 cm. Como se ve, para K_a similares, se puede tener una separación aceptable empleando una columna relativamente corta.

9.2 Análisis de una columna como una serie de N adsorbedores

A continuación, suponemos que tenemos un conjunto de platos que contienen adsorbente, en que el portador y el adsorbente están en equilibrio con respecto al componente. La notación corresponde a la de figura 9.4 (v. Notación). Seguimos el método de Villermaux (1983), que se basa en las transmitancias de los bloques y el teorema de Van der Laan, con el fin de obtener los momentos (v. Anexo A). Consideremos una entrada en pulso ideal en el plato 1 de la columna.

El balance del componente en el plato 1 es el siguiente (v. fig. 9.4):

$$v_0 C_1^0 = v_0 C_1 + V_1 \frac{dC_1}{dt} + V_2 \frac{dC_2}{dt} \qquad (9.10)$$

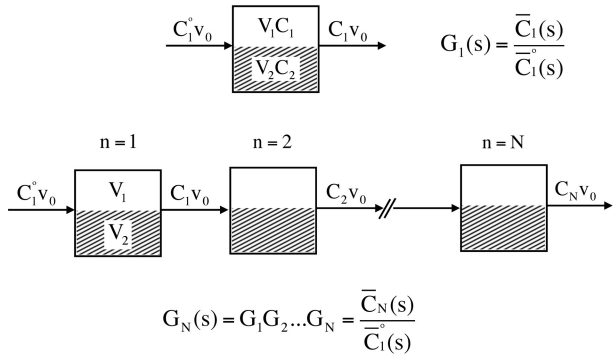


Fig. 9.4 Arriba, un recipiente que contiene adsorbente por el cual pasa una corriente de fluido. C1, C2, etc. son las concentraciones de soluto en la fase móvil y en la fase fija, de volúmenes V1 y V2, respectivamente. $G_1(s)$ es la transmitancia del bloque 1. Abajo, N bloques en serie, cuya transmitancia global es $G_N(s)$

Se definen los parámetros siguientes. El factor de capacidad k' se define como:

$$k' = \frac{K_a V_2}{V_1} = \frac{K_a (1-\varepsilon)}{\varepsilon} \tag{9.11}$$

K_a es el coeficiente de reparto (suponiendo equilibrio instantáneo):

$$C_2 = K_a C_1 \tag{9.12}$$

y el tiempo de retención y el tiempo medio de residencia en el volumen total, respectivamente, se definen como:

$$t_R = \overline{t}\,(1+k') \tag{9.13}$$

$$\overline{t} = \frac{NV_1}{v_0} \tag{9.13, 9.14}$$

Transformando en el dominio de Laplace la ecuación 9.10, se obtiene la transmitancia del primer plato, en función de N, que valdrá:

$$G_1(s) = \frac{\overline{C_1}}{\overline{C_0}} = \frac{1}{1+st_R/N} \tag{9.15}$$

Para N platos en serie, se tendrá:

$$G_N(s) = \frac{\overline{C_1}}{\overline{C_0}} = \frac{1}{(1+st_R/N)^N} \tag{9.16}$$

cuyo límite para N = infinitos platos valdrá:

$$\lim_{N\to\infty} G_N(s) = e^{-st_R} \tag{9.17}$$

que es un retardo puro con un tiempo de retardo t_R. La inversión de $G_N(s)$ es inmediata con tablas y da:

$$E(t) = \frac{N^N}{t_R}\frac{(t/t_R)^{N-1}}{(N-1)!}\exp\left(-Nt/t_R\right) \tag{9.18}$$

que coincide con la distribución de tiempos de residencia de N mezcladores perfectos en serie con un tiempo de residencia total t_R. La expresión 9.18 corresponde a una ley de Poisson. Cuando N es no entero, se aplica la equivalencia (N-1)! = Γ(N). Si N es muy grande, la ley exponencial de la ecuación 9.18 tiende a una ley normal (Levenspiel, 1999) (v. fig. 9.5). Aplicando el teorema de Van der Laan (v. anexo al final del libro), se obtienen los momentos. Así, para una columna de N platos de equilibrio en serie, se tiene:

$$\mu_1 = t_R \tag{9.19}$$

$$\sigma_t^2 = \frac{t_R^2}{N} \tag{9.20}$$

donde t_R es el tiempo de residencia (en s) y σ_t^2 es la variancia (en s^2), que son similares en todo al resultado del modelo de recipientes en serie.

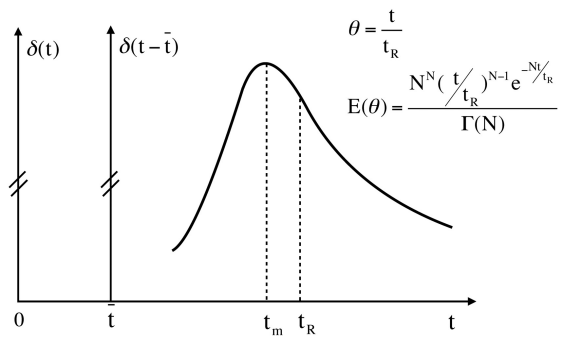


Fig. 9.5
Respuesta de N adsorbedores en serie, a una entrada en pulso δ (t). δ (t-t̄) representa el pico de solvente. E(t) equivale a la función de DTR de N recipientes en serie, con un tiempo de residencia total t_R. E(t) se obtiene invirtiendo G_N (s) con tablas. Para N ~200 o más, E(t) es una ley normal, si no es una ley gamma.
Fuente: Levenspiel (1978)

9.2.1 Consecuencias

1ª) Cuando N es grande, la E(t) anterior tiende a ser una ley normal. Entonces, la anchura del pico en la base es, aproximadamente, igual a $4\sigma_t$, es decir:

$$w = 4\sigma_t \approx 4\frac{t_R}{\sqrt{N}} \tag{9.21}$$

Por tanto, para una columna de 1.000 platos, la desviación tipo valdrá:

$$\sigma_t = \frac{t_R}{\sqrt{1000}} \approx \frac{t_R}{32}$$

Así, para un pico que salga de la columna a t_R = 6 min, la anchura a media altura valdrá $2\sigma_t$ = 2 × 6/32 = 0,37 min, y la base del pico, aproximadamente valdrá $4\sigma_t$ = 0,74 min.

2ª) El tiempo en que se produce el valor máximo de la respuesta es próximo a t_R y vale:

$$t_m = t_R\left(1 - \frac{1}{N}\right) \neq t_R \tag{9.22}$$

Por tanto, para N muy grande, t_m y t_R tienden a ser iguales.

3ª) Dimensiones de la columna *vs*. número de platos. Si aumentamos la longitud de una columna, estamos añadiendo platos en serie. Como el tiempo del solvente es proporcional al número total de platos, es interesante ver que la separación entre dos picos varía con N (v. ejemplo 9.1), pero las anchuras de los picos varían con $\sqrt{N}$. Por tanto, la separación mejora, pero no tanto.

4ª) Modelo de cromatografía lineal basado en recipientes en serie. Si bien este modelo permite introducir la dispersión axial (a través de N, v. Levenspiel, 1979), no tiene en cuenta la velocidad de transferencia de masa fluido-partícula. Ello es importante, ya que el número de Reynolds del fluido en una columna cromatográfica es muy pequeño y por ello la resistencia externa puede ser notable. El modelo siguiente incorpora esta resistencia.

9.2.2 Efecto de la transferencia de masa

En el modelo anterior, el fluido estaba en equilibrio de adsorción. En realidad, hay resistencia fluido-sólido en el exterior de las partículas de relleno, de manera que la velocidad es finita (v. fig. 9.5). La ecuación 9.10 se tiene que escribir ahora como:

$$v_0\left(C_1^0 - C_1\right) = V_1\frac{dC_1}{dt} + k_p a\left(C_1 - \frac{C_2}{K_a}\right) \tag{9.23}$$

donde el segundo término de la derecha representa una velocidad de transporte de masa finita. En estas condiciones, se define el tiempo característico de la transferencia de masa externa t_m como:

$$t_m = \frac{K_a V_2}{k_p a} \tag{9.24}$$

El modelo de la ecuación anterior (ec. 9.23) tiene dos parámetros: uno de equilibrio, K_a y uno de velocidad, k_p. Los otros parámetros son k´, $\underline{t}$ y t_R, definidos anteriormente (v. ec. 9.11, 9.13 y 9.14). La transmitancia de N adsorbedores en serie con resistencia externa se demuestra que vale:

$$G_i(s) = \frac{\overline{C_i}}{C_i^0} = 1 + \frac{s\bar{t}}{N}\left(1 + \frac{K'}{1 + st_m}\right) \tag{9.25}$$

que aunque tiene aspecto sencillo no admite inversión por tablas. Solamente se pueden calcular los momentos (v. Anexo A). Estos son:

$$\mu_1 = t_R = \bar{t}(1 + k') \tag{9.26}$$

$$\sigma_t^2 = \frac{1}{N} + \frac{2K't_m}{(1 + K')t_R} \tag{9.27}$$

9.3 Análisis de la columna continua

Nos referimos ahora a la figura 9.6, en que la columna es considerada un espacio libre por donde pasa el fluido en contacto con un relleno de adsorbente sólido. Las condiciones radiales de la columna son uniformes. Por tanto, las variables serán la longitud z y el tiempo t. Las ecuaciones de conservación del soluto para el caso más general (dispersión axial en el fluido y velocidad de transferencia de masa finita), con el adsorbente sólido en estado transitorio, serán, para la fase móvil:

$$\varepsilon u\frac{\partial C_1}{\partial z}+\varepsilon\frac{\partial C_1}{\partial t}+k_p a\left(C_1-\frac{C_2}{K}\right)=\varepsilon E\frac{\partial^2 C_1}{\partial z^2} \tag{9.28}$$

Y, para la fase sólida:

$$(1-\varepsilon)\frac{\partial C_2}{\partial t}-k_p a\left(C_1-\frac{C_2}{K}\right)=0 \tag{9.29}$$

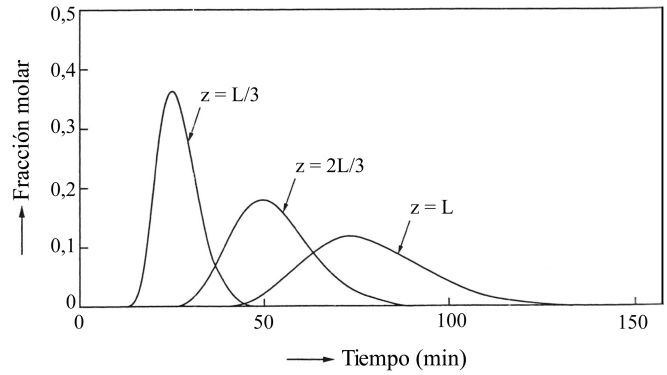


Fig. 9.6
Cálculo de la progresión de un componente a lo largo de una columna (en tiempo) en tres puntos de la misma (a 1/3 de la entrada, a 2/3 de L y en el detector L). Obsérvese el ensanchamiento de los picos.

Evidentemente, al introducir más procesos elementales en el modelo, más parámetros aparecen en la transmitancia G(s) y más difícil es obtener los momentos. Se tendrían que poder evaluar momentos de orden superior a 2, con el fin de poder tener más ecuaciones para evaluar más parámetros. En las ecuaciones 9.28 y 9.29, hay tres parámetros (K, k_f y E). En principio, se necesitarían tres momentos para determinarlos, pero el momento 0 vale 1, y los otros dos momentos no son suficientes. Además, surgen dos problemas. El primero es que los momentos de orden superior a 2 contienen muchos más error, por el efecto de las colas de los picos, que se amplían con las potencias t^2 t^3 t^4, que son mayores a tiempos largos. Y el segundo problema es que la información sobre los parámetros contenida en los momentos es redundante y, por tanto, no aporta más datos, sino solo más error.

Villermaux (1983) ha obtenido los momentos para la columna de este caso (v. ecuaciones 9.28 y 9.29). Son estos:

Primer momento:

$$\mu_1=t_R=\bar{t}\left(1+\frac{1-\varepsilon}{\varepsilon}K\right) \tag{9.30}$$

Y segundo momento central adimensional:

$$\sigma^2 = \frac{\sigma_t^2}{t_R^2} = \frac{2}{Pe} + \frac{2K'}{1+K'} \times \frac{t_m}{t_R} \tag{9.31}$$

donde el segundo término de la derecha está relacionado con el coeficiente de transferencia de masa, y el número de Péclet está relacionado con el coeficiente de dispersión axial, y son, respectivamente:

$$t_m = \frac{K_a(1-\varepsilon)}{k_p a}$$

$$Pé = \frac{uL}{\varepsilon E} \tag{9.32, 9.33}$$

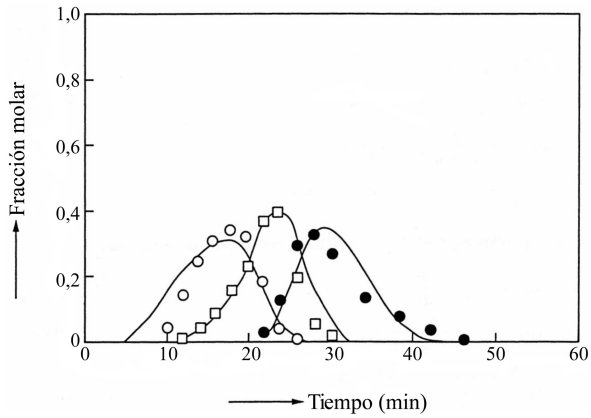


Fig. 9.7 Prueba de separación de m-xileno (○), etilbenceno (□) y p-xileno (●), por cromatografía de gases sobre un relleno de zeolita, portador N_2, detector FID. Fuente: Storti *et al.* (1985)

La figura 9.6 muestra el aspecto de los frentes de onda del componente cuando pasa por tres puntos de una columna y cómo se ensanchan (Varma y Morbidelli, 1997). Se observa que los picos no son simétricos debido a la dispersión que aparece en la ecuación del segundo momento. La figura 9.7 muestra el cromatograma de la separación m-xileno, etilbenceno y p-xileno, con isopropilbenceno como solvente, sobre una columna de zeolita (Storti *et al*., 1985). El ensanchamiento de los picos corresponde a los efectos acumulativos de la dispersión axial (a través del número de Péclet) y de las resistencias de transferencia de masa del segundo momento.

9.4 Eficacia de la columna: ecuación de Van Deemter

El modelo de columna más estudiado ha sido el que se ha definido en las ecuaciones 8.20 a 8.24 del capítulo anterior y que se ha comentado al principio de este capítulo (v. ec. 9.1). En el capítulo anterior, se han dado las expresiones de los momentos a través de las ecuaciones 8.52 a 8.57. La expresión de la dispersión de un componente en la columna viene dada por:

$$L = HETP \times N \tag{9.34}$$

donde HETP es la altura equivalente del plato teórico y N, el número de platos teóricos. HETP y N se pueden expresar, en función de los momentos, de la forma siguiente:

$$HETP = \frac{L\mu_2'}{\mu_1^2} \qquad N = \frac{\mu_1^2}{\mu_2'} \tag{9.35}$$

donde el primer momento viene dado por las ecuaciones 8.52 y el segundo momento central, por la expresión del capítulo anterior (ec. 8.53 a 8.57). La expresión de la HETP calculada con estos momentos da:

$$\frac{\mu_2'}{\mu_1^2} = \frac{2v}{L}\left[\frac{E}{v^2} + \frac{\varepsilon}{1-\varepsilon}\left(\frac{R^2}{15D_e} + \frac{R}{3k_m}\right)\right] \tag{9.36}$$

Aproximando ahora la difusividad axial mediante la siguiente expresión:

$$E = \eta D_{12} + \lambda d_p v \tag{9.37}$$

se obtiene la HETP aplicando las ecuaciones 9.35, empleando los momentos. El resultado es el siguiente:

$$HETP = 2\lambda d_p + \frac{2\eta D}{v} + 2\frac{\varepsilon}{1-\varepsilon}\frac{R^2}{15D_e}v \tag{9.38}$$

en que v es la velocidad intersticial. Trabajos pioneros de Van Deemter *et al*. dieron una expresión empírica de la HETP que tiene la forma siguiente:

$$HETP = A + \frac{B}{v} + Cv \tag{9.39}$$

que recibe el nombre de ecuación de Van Deemter, totalmente similar a la ecuación 9.38 con respecto a la variable v. La ecuación 9.39 presenta un óptimo de velocidad de operación en el cual HETP es mínima. En las figuras 9.8, 9.9 y 9.10, se representa la forma de la ecuación para varios casos prácticos.

En la cromatografía líquida, el eluyente es un líquido orgánico, un tampón acuoso o agua pura. Así pues, la D de la ecuación 9.38 representa la difusividad molecular del soluto en ese eluyente, que será pequeña, comparada con la de un soluto en un gas. Para la cromatografía líquida, la HETP se reduciría, pues, a la expresión siguiente, basada en los momentos, que obvia el término constante A de la ecuación de Van Deemter:

$$HETP \approx 2\lambda d_p + 2\left[\frac{\varepsilon}{1-\varepsilon}\frac{R^2}{15D_e}\right]v \tag{9.40}$$

que separa el efecto del tamaño de partícula del de la velocidad. La figura 9.8 muestra la dependencia de la HETP experimental frente a la velocidad para columnas de cromatografía de GPC e intercambio iónico, empleadas en la separación de proteínas. Obsérvese

que el término de dispersión axial, B/v, de la ecuación 9.39 no se aprecia para velocidades inferiores 0,5 mm/min. En la figura 9.9, se muestra la ecuación de Van Deemter para diversos diámetros de partícula de relleno, asociados a la pendiente R^2 de la ecuación de la HETP *vs*. la velocidad v.

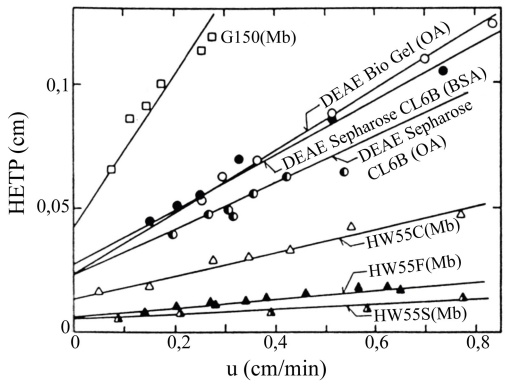


Fig. 9.8
Valores de HETP *vs*. velocidad superficial para columnas de GPC (G150, HWFFC y HW55F) e intercambio iónico (DEAE-Sepharose y Biogel). Proteínas: mioglobina (Mb), ovoalbúmina (OA) y seroalbúmina bovina (BSA). Fuente: De Blanch y Clark (1997)

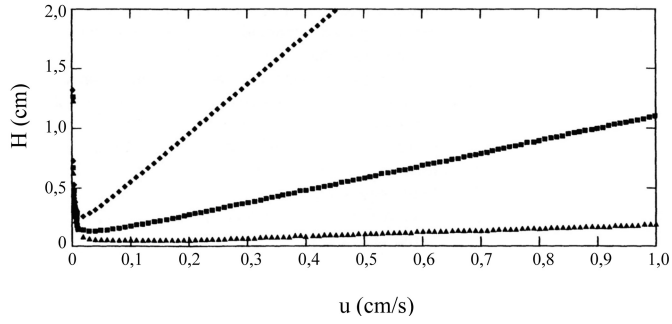
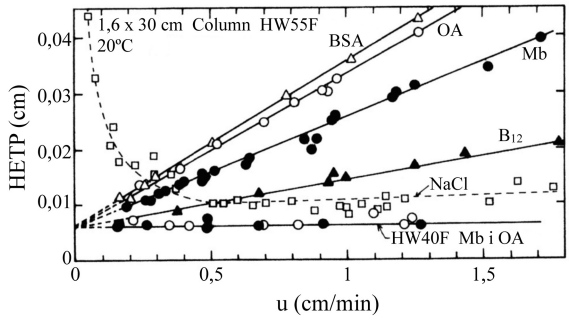


Fig. 9.9
Ecuación de Van Deemter, HETP *vs*. u, para tres diámetros de partícula. Mayor pendiente: 0,050 mm, pendiente media: 0,025 mm, mínima pendiente mínima: 0,010 mm. Fuente: Harrison *et al*. (2003)



HETP *vs*. u, cromatografía de GPC de diversas proteínas (seroalbúmina, BSA; ovoalbúmina, OA; mioglobina, Mb; vitamina B12) y columnas HW55 (tamaños de partícula: 0,044, 0,035 y 0,075 mm). Véase la rama (con u = 0) para NaCl, debida a la difusividad mayor. Los valores de las proteínas se extrapolan a un mismo HETP. Fuente: Yamamoto *et al*. (1987)

Para proteínas sobre columnas de GPC, Yamamoto *et al*. (1987) han correlacionado la altura reducida, $h = HETP/d_p$, con la velocidad adimensional ($v^* = vd_p/D_{12}$) para diversas proteínas sobre varias columnas de GPC. Utilizando los datos extrapolados de la figura

para H *vs*. u, se obtiene la representación adimensional de la figura 9.11. Para GPC de baja o alta presión, el valor mínimo de HETP es de $2d_p$, como se observa en la figura 9.11.

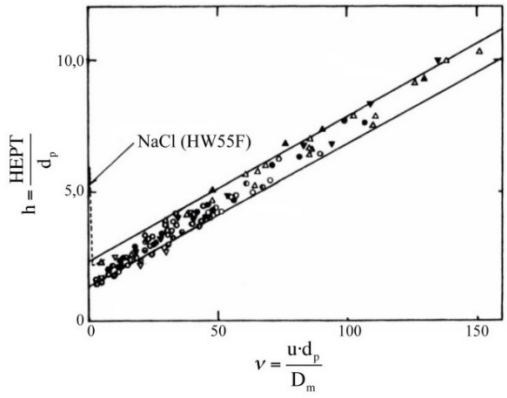


Fig. 9.11 HETP/$_{dp}$ *vs*. v*, para una columna de GPC HW55. La figura incluye los datos de la figura 9.10 y NaCl. Fuente: Yamamoto *et al*. (1987)

9.5 Parámetros que definen la separación de dos componentes

De las ecuaciones anteriores, conviene recordar los parámetros que definen k' y t_R para el componente j, que son, respectivamente:

$$\mu_1 = t_R = \bar{t}\left(1+\frac{1-\varepsilon}{\varepsilon}K_a\right) \tag{9.41}$$

donde la K_a es la constante de adsorción del componente j. t_{Rj} vale:

$$t_{Rj} = \bar{t}\left(1+k'_j\right) \tag{9.42}$$

y k_j' vale:

$$k'_j = \frac{K_{aj}(1-\varepsilon)}{\varepsilon} \tag{9.43}$$

9.5.1 Resolución de dos picos

La resolución de dos picos se define con un nuevo parámetro R_{12} que refleja que la diferencia entre dos picos y cumple lo siguiente: *a*) Es directamente proporcional a la diferencia de tiempos de retención. *b*) Es inversamente proporcional a la anchura base de los picos. Ello se expresa de forma algebraica con el índice siguiente:

$$R_{ij} = \frac{\left|t_{Ri} - t_{Rj}\right|}{(w_i + w_j)/2} \tag{9.44}$$

Como, a caudal constante, los tiempos de retención son proporcionales a los volúmenes de portador o eluyente que han pasado a cada t, el índice R_{ij} se puede escribir también como:

$$R_{ij} = \frac{\left|V_{Ri} - V_{Rj}\right|}{(w_i + w_j)/2} \tag{9.45}$$

en que las anchuras w_i deberán expresarse también en volúmenes pasados y k' se expresará como:

$$k'_j = \frac{V_{Rj} - V_0}{V_0} \tag{9.46}$$

donde V_{Rj} es el volumen de elución de j y V_0 es el volumen vacío de la columna. Esta definición es útil cuando disponemos de una indicación de la variable volumen V(t) dada por los instrumentos de la columna.

El valor mínimo deseable para la resolución R_{ij} es 2 o mayor que 1. Pero la resolución depende de otros factores, como veremos enseguida.

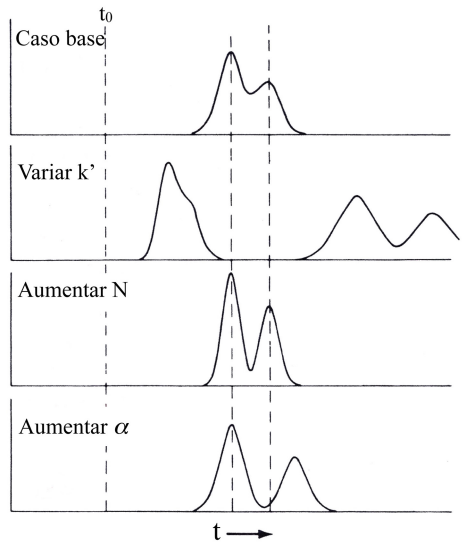


Fig. 9.12 Influencia de los parámetros α, k' y N en la resolución de dos picos (caso base). Véase la explicación en el texto. Fuente: Adaptado de Snyder i Kirkland (1974)

En la figura 9.12, se representan los parámetros que influyen en R_{ij} para columnas de muchos platos. En la última figura, se ve que una cosa es R y otra es N, pero ambas contribuyen a mejorar la separación. La relación de R con los parámetros de los dos componentes de una separación se puede deducir fácilmente de la definición y de otras ecuaciones anteriores. Se demuestra que la expresión de R se puede escribir como producto de tres factores (v. Blanch y Clark, 1997):

$$R_{ij} = (\alpha - 1)_{\text{selectividad}} \times \left(\frac{k'}{1+k'}\right)_{\text{retención}} \times \left(\frac{\sqrt{N}}{4}\right)_{platos} \tag{9.47}$$

en que intervienen los tres factores que señalamos que están asociados a la selectividad, a la retención y al número de platos. Comentamos su efecto sobre el caso base del cromatograma de la figura 9.12 (caso base).

Selectividad. En el primer factor, α es el factor de separación de los dos componentes, definido como (v. cap. 8, ec. 8.11):

$$\alpha = \frac{k'_2}{k'_1} = \frac{K_{a_2}}{K_{a_1}} \tag{9.48}$$

Por tanto, es de naturaleza termodinámica, esto es, depende de la temperatura. El cambio de α con T es debido a un calor de adsorción distinto de ambos componentes. Se sabe que una ligera disminución de T puede aumentar la resolución (v. fig. 9.12). Además, α depende de la afinidad del solvente por el relleno sólido y, por tanto, de la propia naturaleza de la adsorción en la columna.

Retención. El factor de retención k' de la ecuación 9.47 es una media aritmética de k'_1 y k'_2, que mide la fracción de solutos presentes sobre la fase sólida y la afinidad de los solutos adsorbidos por el líquido de la fase móvil. Los solventes buenos tienen una k' pequeña e, inversamente, los solventes más pobres tienen una k' grande.

Número de platos. Depende de la longitud L de la columna y de los factores que influyen en la HETP que tiene la columna. Cuanto mayor sea N, más estrechos serán los picos y, por tanto, más pequeño el denominador de la definición de R_{ij}. N es el número de platos de la columna y representa la eficacia de la misma. Los valores deseables en cromatografía líquida son $N > 10^4$ y $k' > 5$.

9.5.2 Control de la resolución

Una vez establecidos la columna y el eluyente, queremos mejorar la separación, dada por la expresión última de R_{ij} (v. ec. 9.47). Supongamos que el caso base experimental tiene el aspecto del caso base del cromatograma de la figura 9.12, en que los picos se solapan por las bases, que es lo más frecuente. Aplicaremos los pasos siguientes:

Primero. Un aumento del factor α produce un desplazamiento del centro de un pico con respecto al centro del otro y un incremento sustancial de la resolución. El tiempo de separación y las alturas de los picos responden mucho con cambios relativamente pequeños de α. La banda inicial pasará a ser la indicada.

Segundo. Un aumento del número de platos disminuye la anchura de los picos, como hemos visto (v. ec. 9.21), la cual está inversamente relacionada con la desviación tipo de los picos. Pero el tiempo de retención no queda afectado.

Tercero. Un cambio en el factor k' tiene un gran impacto, como se ve en la figura 9.12. Cuando el factor k' cae en el intervalo $0{,}5 < k' < 2$, la separación empeora mucho. En estos primeros pasos, se recomienda operar con k' dentro del rango óptimo, que es $1 < k' < 10$.

La sensibilidad de R a los factores es la siguiente: $k' > \alpha > N$, siendo k' el parámetro más sensible y N, el menos sensible.

9.5.3 Control de la anchura del pico

La evolución temporal de la variancia de un pico tiene interés en la producción y purificación de proteínas y en el cambio de escala de la columna de laboratorio a planta. Recordemos que el mayor factor de variancia de la respuesta es el tiempo de difusión

intrapartícula. La variancia adimensional en función de la variancia dada por la ecuación 8.54 del capítulo anterior es la siguiente:

$$\sigma_a^2 = 2\frac{1-\varepsilon}{\varepsilon}\frac{R^2}{15D_e}K_a^2\frac{v}{L} \tag{9.49}$$

Hagamos ahora $\sigma_t = t_R\sigma_\alpha$ y calculemos la base del pico en función de la desviación tipo, considerando pico normal (gaussiano) para el cual $w(t) = 4\sigma_t$. Insertando la variancia adimensional dada por la ecuación 9.49 en esta última ecuación e introduciendo L en función de la velocidad del pico y el tiempo, $z(t) = u_j\, t$, se obtiene la expresión de w(t) en función del tiempo, o z(t), como:

$$w_j(t) = 4\sqrt{\frac{2(1-\varepsilon)}{\varepsilon v}u_j^2 t\frac{K_a^2R^2}{15D_e}} = Md_p u_j\sqrt{\frac{t}{D_e}} = Md_p\sqrt{\frac{u_j z(t)}{D_e}} \tag{9.50}$$

donde w es función del tiempo t, o de la posición z(t), dentro de la columna, el diámetro del relleno es d_p y la velocidad de onda del pico, u_j. D_e es la difusividad intrapartícula. Esta ecuación para w(t), junto con la velocidad de onda del pico, u_j, son las dos ecuaciones que caracterizan el movimiento uniforme del pico dentro de la columna. M es un factor de proporcionalidad, que se toma más bien como un factor empírico pero que se puede determinar experimentalmente. Véase cómo se aplican estas ecuaciones en el ejemplo siguiente.

Ejemplo 9.2. Ensanchamiento de los picos

Inyectamos dos componentes, designados por 1 y 2, iguales a los de la figura 9.3. La separación no es inmediata y necesita que los picos y las bandas se separen en la columna. Hemos deducido las anchuras de los picos en función del tiempo a partir del segundo momento (v. ec. 9.50). Los componentes difunden primero hacia el interior de las partículas y después hacia afuera. Este es el motivo del ensanchamiento de las bandas. Se conocen los valores siguientes: $D_e = 10^{-11}$ m^2/s, d_p = 0,010 mm, L = 10 cm, u = 1 mm/s; las constantes de adsorción K_a son: K_1 = 14,5 y K_2 = 14,0. Por tanto, la separación se prevé difícil. Supóngase que M = 0,1 y la fracción vacía = 0,33.

1. Calcúlese el tiempo de residencia del eluyente o portador del componente 1 y del componente 2 en la columna.

2. Hállese la distancia entre los picos cuando el componente 2 salga de la columna.

3. ¿Cuánto valen las anchuras de la base de los picos en ese momento?

1. El tiempo del eluyente y el tiempo de residencia real valdrán, respectivamente:

$$\bar{t} = \frac{L}{u} = \frac{100}{1} = 100s$$

$$t_{\text{eluyente}} = \frac{L}{U/\varepsilon} = 33\text{s}$$

Las velocidades de los frentes de los componentes serán:

$$u_1 = \frac{1}{0,33 + 0,67 \times 14,5} = 0,099\, mm/s$$

Y, análogamente, para el componente 2, u_2= 0,102 mm/s. La diferencia de velocidades es, pues, muy pequeña. Por tanto, una columna larga separará los picos, pero las bases se ensancharán. Veamos qué sucede al final de la columna. Los tiempos de retención se calcularán con la ecuación 9.30 para cada K_a.

$$t_{R_1} = \bar{t}\left[\varepsilon + (1-\varepsilon) K_1\right] = 100 \times (0,33 + 0,67 \times 14,5) = 1004,5s$$

Y, $t_{R_2} = 971,0s$, análogamente. El componente 2 corre pues más que el 1.

2. La diferencia de tiempo entre los picos será:

$$\Delta t_R = 1004,5 - 971 = 33,5s$$

en términos de espacio, tendremos que calcular Δz. Cuando el componente 2 sale de la columna, z_2 = 100 mm, y el componente 1 va detrás, separado a una distancia correspondiente a su velocidad:

$$\Delta z = 100 - u_1 t_{R_1} = 100 - 0,102 \times 971 = 0,96mm$$

3. Cuando el componente 2 sale de la columna, las bases de los picos valen:

$$w_2\,(z = 100) = Md_p \sqrt{\frac{u_2 L}{D_e}} = 0,1 \times 0,010 \sqrt{\frac{0,102 \times 100}{10^{-5}}} = 1,00mm$$

$$w_1\,(z = 99,04) = 0,1 \times 0,010 \sqrt{\frac{0,099 \times 99,04}{10^{-5}}} = 0,99mm$$

Es decir, los dos picos tienen casi la misma base, 1 mm, aprox.. La posición relativa de los centros de los picos será z_1 = 99,04 y z_2 = 100 mm, es decir, casi 1 mm de diferencia solamente. Así pues, los componentes están separados, pero la resolución que resulta es bastante mala, y vale:

$$R_{12} = \frac{100 - 99}{2/2} = 1$$

9.6 Diseño de la columna, separación de proteínas y cambio de escala

En la tabla 9.1, hemos indicado las diferentes columnas, que corresponden a las diferentes interacciones físico-químicas entre el fluido y el sólido del relleno. Una columna puede funcionar de diversas maneras:

- isocráticamente, en que el eluyente siempre es el mismo;
- haciendo un cambio progresivo de concentración del eluyente (el gradiente de composición del eluyente, es decir, no isocráticamente);
- haciendo un escalón súbito de otro líquido eluyente;
- no isotérmicamente, como en la cromatografía de gases (cuando los solutos tienen K_a similares), etc.

Estas variantes se detallan en los textos de cromatografía líquida (p. ej., Snyder y Kirkland, 1972). Ahora queremos ver cómo mejorar nuestra cromatografía de una manera general. Con el fin de mejorar R_{ij}, se estudian los factores que afectan N a través de la HETP. En general, es deseable un valor pequeño de $h = HETP/d_p$ (v. figs. 9.10 y 9.11), para tener un valor grande de N. La ecuación 9.36 da el efecto de las variables de operación de la columna en función de μ'_2/μ_1^2. Hemos visto que el valor mínimo de h es = 2 (v. gráfico de h en función de $v^* = d_p v/D_{12}$); así, para otras velocidades, la correlación anterior es muy útil (v. figs. 9.10 y 9.11).

9.6.1 Velocidad de operación de la columna y difusividad de los solutos

En la ecuación 9.38, el primer término es independiente de la velocidad y es directamente proporcional a d_p. Entonces, HETP aumenta linealmente con la velocidad v, cómo muestra la figura 9.10. Para una velocidad dada, cuando la difusividad intrapartícula D_e disminuya, aumentará la HETP, pero no porque aumente la ordenada al origen de la figura 9.10, que es constante. La ordenada en el origen nos da d_p, que no varía con D_e. Un valor de D_e pequeño y desfavorable hará aumentar la pendiente de las líneas de la figura 9.9. Véase la pendiente de las expresiones de la HETP *vs*. v* (ec. 9.38 y 9.40).

Cabe señalar que D_e se puede obtener de la literatura o estimar mediante correlaciones (p. ej., ec. 9.52) y por otros métodos (difusividad de proteínas en agua). Normalmente, es difícil medir la difusividad de una proteína en agua, pero medir la viscosidad es bastante más fácil. La difusividad y la viscosidad están relacionadas con la ecuación de Stokes-Einstein. Una correlación para la difusividad molecular basada en el modelo de Stokes-Einstein, para proteínas, es la dada por Polson (Ghosh, 2003):

$$D_{12} = 9,40\times10^{-15}\frac{T}{\mu(PM)^{1/3}} \tag{9.51}$$

donde D_{12} es la difusividad molecular en m^2/s, T en K, y μ es la viscosidad en Pa·s, mientras que PM es el peso molecular de la proteína, en kg/kmol. Entonces, la difusividad efectiva (intrapartícula) se puede calcular como:

$$D_e = \frac{D_{12}\beta}{4} \tag{9.52}$$

donde β es la porosidad interna de la partícula y 4 es un factor de tortuosidad medio. Hay correlaciones más elaboradas cuando la partícula tiene microporos y macroporos, pero estas aproximaciones son suficientes para estimar cómo aumentará la HETP al cambiar D_e.

9.6.2 Diámetro de partícula

La expresión de $HETP/d_p$ *vs*. v* es muy útil, ya que ofrece un panorama de la gráfica del tipo:

$$h = \frac{HETP}{d_p} = a + Bv^* \tag{9.53}$$

que es interesante utilizar junto con la ecuación que da R_{ij} en función de N, señalando que la resolución es directamente proporcional a $N^{1/2}$, de h *vs*. v*, como hemos visto en la figura 9.11. Esta gráfica permite evaluar datos de operación de la columna que estamos seleccionando. Las fórmulas prácticas aplicables para expresar la resolución en función de L, de HETP o de h, serán pues:

$$R_{ij} \propto \sqrt{N} = \sqrt{\frac{L}{HETP}} = \sqrt{\frac{L}{hd_p}} \qquad (9.54)$$

El ejemplo 9.3 muestra su utilidad, ya que permite mejorar la resolución con cambios de velocidad, conociendo la dependencia de la HETP de la velocidad.

9.6.3 Diseño por cambio de escala en cromatografía

Primero, definiremos cuáles son los problemas. El cambio de escala se plantea generalmente cuando se quiere diseñar una unidad mayor que dé más producción, y se especifica la producción de la unidad de planta. Nos basamos en una columna que funciona de forma aceptable en la planta piloto o en el laboratorio. A veces, sin embargo, se especifica solamente el tamaño de la unidad de plena escala (p. ej., cuando hay problemas de agitación, el fermentador tiene un volumen diez veces mayor). La especificación de la producción o del tamaño no dan resultados iguales y pueden conducir a aparatos diferentes. En general, el planteamiento responde a los requisitos siguientes:

- un aumento de producción o un aumento del tamaño,
- criterio de extrapolación a conservar,
- a menudo, se dan condiciones adicionales (geometría, $\Delta P_{columna}$ aceptable, etc.), sin sacrificar la pureza, resolución o N_{platos}

El cambio de escala se presenta en la mayoría de las ramas de la ingeniería y tiene una gran importancia, ya que el diseño por cambio de escala suele ser necesario en todos los ámbitos constructivos. En biotecnología, hay problemas grandes de extrapolación en los fermentadores, debidos a la agitación, la aeración, la mezcla, la intensidad de agitación, etc. En cromatografía, cuando se trata de pasar a una mayor producción, es preciso:

1. aumentar el diámetro de la columna y
2. aumentar el volumen inyectado

Este procedimiento, que es bastante elemental constituye el método más conservador de hacer el cambio de escala.

*Para cromatografía isocrá*ticas, aplicaremos las reglas de diseño siguientes:

a) Si las partículas de relleno son del mismo tamaño y características que en el laboratorio, un método de escalado adecuado es mantener constantes el volumen inyectado y la velocidad lineal por unidad de sección transversal.

b) Si cambiamos el tamaño de partícula y/o la longitud de la columna, se impone como invariante respetar el número N de platos en la columna grande, con lo cual se controla la resolución con respecto a un contaminante. De ahí se desprende que la información aportada por el gráfico de h *vs*. v* es de gran ayuda. Es decir, expresado con ecuaciones, la condición a aplicar sería: $N_{lab} = (L/HETP) = N_{planta}$

c) *En condiciones no isocráticas* (o sea, con gradiente de elución), la manera de obtener un pico de un soluto con la misma resolución sobre dos columnas de dimensiones distintas consiste en mantener el mismo número de platos en ambas columnas.

Ejemplo 9.3. Manejo de la correlación HETP *vs.* velocidad

Una columna de GPC con esferas de $d_p = 0{,}044$ mm trabaja a una velocidad intersticial de 1,2 cm/min. La resolución de dos picos no es muy buena, $R_{ij} = 0{,}85$. Queremos mejorarla, de forma que $R_{ij} > 1{,}2$, utilizando la misma longitud de columna, pero disminuyendo la velocidad del fluido.

a) ¿Qué velocidad de la fase móvil necesitamos?

b) ¿Qué longitud de columna debemos utilizar para tener la resolución de Rij = 1,2 con la velocidad inicial, es decir, v = 1,2 cm/min?

Datos: Se puede utilizar la correlación de la figura 9.11 para columnas de GPC. Para las proteínas en agua, tómese una difusividad molecular en agua de $D_{12} = 7 \times 10^{-7}$ cm^2/s.

a) En las condiciones actuales, calcularemos la HETP de que disponemos. Para ello, necesitamos calcular la velocidad adimensional v* que estamos utilizando:

$$v^* = \frac{d_p v}{D_{12}} = \frac{2 \times 0{,}0022 \times 1{,}2}{7 \times 10^{-7} \times 60} = 125{,}7$$

De la figura (9.11), encontramos que, para v* = 126, h vale = 8, de donde:

$$HETP = h d_p = 8 \times 0{,}0044 = 0{,}035 cm$$

Las resoluciones son inversamente proporcionales a las HETP o a las h (v. ec. 9.54). Así pues, designando con el subíndice 1 la resolución inicial y con 2 la resolución incrementada, tendremos:

$$\frac{R_1}{R_2} = \sqrt{\frac{h_2}{h_1}} \qquad \frac{0{,}85}{1{,}2} = \sqrt{\frac{h_2}{8}}$$

de donde $h_2 = 4{,}0$. Para este valor de h, la figura (9.11) nos da una velocidad adimensional de v* = 50. La nueva velocidad para mejorar la resolución valdrá, pues:

$$v = \frac{v^* D_{12}}{d_p} = \frac{50 \times 7 \times 10^{-7}}{0{,}0044} = 8{,}3 cm/s$$

b) Podemos optar por alargar la columna con el fin de tener una resolución mejorada, sin modificar la velocidad inicial. La fórmula que relaciona la resolución cromatográfica con la longitud de la columna es la siguiente:

$$R_s \propto \sqrt{\frac{L}{HETP}}$$

Así pues, aplicando esta ecuación a las dos resoluciones, con la misma HETP (dado que la velocidad inicial es constante) resultará:

Así pues, aplicando esta ecuación a las dos resoluciones, con la misma HETP (dado que la velocidad inicial es constante) resultará:

$$\frac{R_1}{R_2} = \frac{0,85}{1,2} = 0,71 = \sqrt{\frac{L_1}{L_2}}$$
$$L_2 = 2L_1$$

En conclusión, deberemos duplicar la longitud de la columna.

9.6.4 Otras reglas de cambio de escala de las columnas y los lechos fijos

En el capítulo 8 (Adsorción), se han presentado dos estrategias de cambio de escala generales, que son aplicables aquí. La primera se describe en el apartado 8.8.1 (Metodología de cambio de escala más simple) y se basa, sencillamente, en el traslado de tubos en paralelo para ampliar la sección total de la columna. En esta estrategia, se mantienen constantes d_p, la velocidad superficial u y L.

La segunda estrategia, presentada ya para la adsorción (v. 8.8.2, Metodología de cambio de escala más elaborada), se utiliza cuando el diámetro de la partícula es demasiado pequeño, lo cual causa una pérdida de carga inadmisible. Entonces, podemos aumentar el diámetro d_p, si se modifican al mismo tiempo la velocidad superficial y la altura de relleno. El criterio que se tiene que mantener es el valor de la variancia adimensional:

$$\sigma^2 \propto \frac{d_p^2 u}{D_e (1-\varepsilon) L} = const \tag{9.55}$$

como se ha explicado en el capítulo anterior. El propósito de mantener σ^2 en el cambio de escala es limitar el ensanchamiento del pico debido al retardo intrapartícula del soluto (v. ejemplo 8.6).

9.6.5 Columnas de purificación de proteínas: regla de Yamamoto

Cuando se separan proteínas sobre columnas de cromatografía de intercambio iónico y de adsorción con un gradiente de elución, g_t, en condiciones no isocráticas, Yamamoto *et al*. demuestran que la resolución cumple la ecuación siguiente:

$$R \propto \sqrt{\frac{D_{12} L}{g_t (V - V_0) v d_p^2}} \tag{9.56}$$

en que g_t es la pendiente del gradiente elución por unidad de volumen; V es el volumen total de la columna, V_0 es el volumen vacío, v es la velocidad intersticial, d_p es el diámetro de partícula, D_{12} es la difusividad molecular de la proteína y $V\text{-}V_0 = V(1-\varepsilon)$. Esta expresión se puede escribir, de forma general, como:

$$R \propto \sqrt{\frac{D_{12} \varepsilon}{V g (1-\varepsilon) \frac{v_0}{V} d_p^2}} \tag{9.57}$$

donde $Vg_t = G$. Y el cociente v_0/V (= u/L) es el inverso del tiempo de residencia medio del fluido en el lecho. Así pues, para un cambio de escala de una columna en que se quiera mantener constante la resolución, operando con un gradiente de elución, se debe cumplir la invariante siguiente:

$$G_1 \frac{v_{01}}{V_1} d_{p_1}^2 = G_2 \frac{v_{02}}{V_2} d_{p_2}^2 \tag{9.58}$$

En la práctica, el gradiente y el tipo de relleno estudiados en el laboratorio no se suelen modificar. En tal caso, la condición anterior se reduce a la igualdad de las velocidades espaciales, afectadas por los diámetros de partícula al cuadrado. Es decir:

$$\frac{v_{01} d_{p_1}^2}{V_1} = \frac{v_{02} d_{p_2}^2}{V_2} \tag{9.59}$$

que es equivalente a:

$$\frac{u_1 dp_1^2}{L_1} = \frac{u_2 dp_2^2}{L_2} \tag{9.60}$$

y que coincide con la expresión dada en la variancia adimensional (v. ec. 9.55). Si, además, las partículas se mantienen iguales, se obtiene que el criterio de igual resolución equivale a que la velocidad espacial u/L es constante. Los ejemplos que siguen ilustran cómo se aplica este criterio.

En el diseño de columnas grandes, se debe tener en cuenta la caída de presión, ya que las partículas son muy pequeñas y las alturas de lecho son grandes y, por tanto, no conviene que el fluido comprima el lecho contra el fondo de la columna. Por ello, en algunos diseños, el fluido entra por el fondo de la columna, con una rejilla superior que retiene el relleno. Un factor adicional es que muchas resinas son blandas y flexibles cuando son húmedas, y tienden a aplastarse con la presión.

Como en cromatografía el flujo es laminar, utilizaremos solamente el primer sumando de la ecuación de Ergun:

$$-\Delta P = \frac{150(1-\varepsilon)^2}{\varepsilon^3} \frac{u \mu L}{d_p^2} \tag{9.61}$$

donde u es la velocidad superficial y μ es la viscosidad. En unidades del SI, la caída de presión se expresa en Pa, y L y d_p, en m. En columnas de producción, la caída de presión admisible varía entre 0,5 y 3 bar (e) y las velocidades superficiales, entre 30 y 300 cm/h, valores que hay que tener presente al diseñar una columna. Recuérdese, sin embargo, que un aumento de la velocidad solo mejora la dispersión axial, pero afecta negativamente todas las demás contribuciones a la variancia del pico (que son proporcionales a v) (v. cap. 8).

En la tabla 9.1, se da un catálogo resumido de columnas de metacrilato para la cromatografía de proceso, con los tamaños normalizados, el diámetro y la longitud del tramo. En el cambio de escala, es importante reproducir exactamente la operación de laboratorio con respecto a la duración y la producción de un ciclo de trabajo de una columna. El

ciclo va desde la inyección hasta la regeneración de la columna, en que vuelve a estar a punto. Normalmente, se escogen ciclos de 3 a 8 horas, en la medida de lo posible, con el fin de ajustarse a dos o tres turnos de trabajo (16 o 24 horas).

Diámetro × longitud, en mm	**Área transversal, en cm^2**	**Capacidad máxima ajustable, en dm^3**	**Diámetro × longitud, en mm**	**Área transversal, en cm^2**	**Capacidad máxima ajustable, en dm^3**
70 × 500	38	1,9	250 × 500	500	25
90 × 500	64	3,2	350 × 500	962	48
140 × 500	154	7,7	440 × 500	1.520	76
180 × 500	254	12,6	630 × 500	3.119	156

Tabla 9.1
Dimensiones de las columnas de metacrilato comerciales para cromatografía. Fuente: Adaptado del catálogo *Data Sheet*, Millipore Inc.

Ejemplo 9.4. Cambio de escala simple

Estamos purificando una proteína en una columna de laboratorio de 5 cm de diámetro y 20 cm de altura de relleno. Con la concentración de proteína en la alimentación, producimos 4 g/ciclo y los ciclos son de 8 horas. Manteniendo esta duración de ciclo, queremos estudiar una columna mayor que proporcione una producción de 12 g/h (concentración inicial de proteína, velocidad superficial y diámetro de partícula iguales que en el laboratorio).

a) Calcúlense las dimensiones de la columna grande.

b) Para esta producción, se puede utilizar una columna que esté libre en la planta piloto. La columna es de 18 cm de diámetro interior × 50 cm de altura, y se puede ajustar la altura entre 0 y 12,6 litros (v. tabla 9.5). ¿Se podrá utilizar como columna de producción?

Presión admisible: 1-3 bar (e), según el diámetro (v. datos del fabricante). Hay columnas en tramos de 1 m de longitud. Para diámetros de 180 mm y superiores, hay versiones en acero inoxidable. Se puede estimar la capacidad suponiendo una velocidad superficial del eluyente de 100 cm/h.

a) Con la columna de laboratorio, estamos haciendo una producción de:

$$M_1 = \frac{4\,g/c}{8\,h/c} = 0,5\,g/h$$

Para la columna grande, se tendrán que hacer 12 g/h. Por tanto, la relación de producciones será:

$$\frac{M_2}{M_1} = \frac{12}{0,5} = 24$$

de donde, trabajando a la misma velocidad superficial:

$$\frac{\pi D_2^2/4}{\pi D_1^2/4} = 24$$

Por tanto:

$$D_2 = \sqrt{24} \times D_1 = \sqrt{24} \times 5 = 24,6cm$$

b) Queremos ajustar las condiciones de más producción a la columna de la planta piloto, que tiene solo D = 18 cm. Impondremos que la nueva producción para esta columna sea de 24.

$$\frac{V_2}{V_1} = 24$$

$$V_2 = 24 \times \frac{\pi D_1^2}{4} \times L_1 = 24 \times \frac{\pi 5^2}{4} \times 20 = 9.420cm^3$$

Por tanto, ajustaremos la altura del lecho de la planta piloto a un volumen de:

$$\frac{\pi D_2^2}{4} \times L_2 = 9.420cm^3 < 12.600cm^3$$

con D_2 = 18 cm. Ello da L_2 = 37 cm, que es inferior a 50 cm, y un volumen de trabajo de 12,6 L, inferior al máximo.

Ejemplo 9.5. Extrapolación de una columna a resolución constante

Queremos diseñar una columna de planta con una capacidad de producción 150 veces mayor que la de la unidad de laboratorio, en la que se purifica una proteína. La columna de cromatografía de intercambio iónico del laboratorio opera de la forma siguiente:

- diámetro interior de la columna = 1 cm
- altura del lecho de relleno = 20 cm
- diámetro de las partículas = 0,020 mm
- velocidad superficial = 30 cm/h

En la planta, utilizaremos partículas de relleno de 0,040 mm de diámetro. En el cambio de escala, se quiere mantener la resolución que tenemos en el laboratorio. Disponemos de dos columnas de catálogo: una de 14 cm de diámetro interior y otra, de 18 cm de diámetro interior, ambas de 50 cm de altura.

1. ¿Podremos utilizar alguna de estas columnas?
2. ¿Cuáles serán la altura y la velocidad superficial de la columna seleccionada?
3. Calcúlese la pérdida de carga de la columna seleccionada.

Nota: La viscosidad vale 1,0 mPa·s y la fracción vacía de la columna, 0,33.

1. El caudal de la columna del laboratorio es:

$$Q_1 = \frac{\pi D_1^2}{4} u_1 = \frac{\pi 1^2}{4} 30 = 23{,}5\, cm^3/h$$

Así pues, para la columna grande, el caudal será $Q_2 = 150 \times Q_1 = 3.525 cm^3/h$

2. Examinemos la columna de 18 × 50 cm, para ver si es posible utilizarla. La velocidad superficial para este caudal en la columna grande será:

$$3.525 = \frac{\pi D_2^2}{4} u_2 = \frac{\pi 18^2}{4} u_2$$

de donde u_2 = 13,8 cm/h. La altura de la columna ha de cumplir el criterio de la ecuación 9.58, o sea:

$$\frac{u_1 dp_1^2}{L_1} = \frac{u_2 dp_2^2}{L_2}$$

Sustituyendo valores, solo queda L_2 como incógnita:

$$\frac{30(20)^2}{20} = \frac{13{,}8(40)^2}{L_2}$$

de donde se obtiene que L_2 = 37 cm, inferior a 50 cm; así pues, podremos utilizar la columna de 18 × 50 cm. Si hacemos los mismos cálculos para la columna de 14 × 50 cm, obtendremos L_2 = 61,3 cm, que es mayor que 50 cm y, por tanto, la columna de 18 × 50 no es adecuada.

3. Comprobaremos la caída de presión para L_2 = 0,37 m, con u_2 = 13,8 cm/h ($3{,}83 \times 10^{-5}$ m/s). Utilizamos unidades SI, porque es más práctico. Aplicando la ecuación de Ergun laminar, tendremos:

$$-\Delta P = \frac{150(1-\varepsilon)^2 u_2 \mu L_2}{\varepsilon^3 d_p^2} = 150 \frac{0{,}67^2 \times 3{,}8 \times 10^{-5} \times 0{,}37}{0{,}33^3 \left(44 \times 10^{-6}\right)^2} = 136.909 Pa$$

eso es, aproximadamente 0,137 bar, que es inferior a la presión admisible de las columnas comerciales (1 bar).

9.6.6 Utilización de columnas en paralelo

Para una gran producción, no podremos alimentar la inyección de proteína y hacer la elución en una sola columna, porque se necesitaría una sección transversal muy grande. Entonces, es preferible utilizar varias columnas en paralelo, con sus ciclos de trabajo desde la inyección hasta la regeneración de la columna. En este caso, el número de columnas en paralelo dependerá de la producción total requerida, de la producción de proteína de cada columna durante un ciclo y del número de ciclos diarios que realice cada columna. Así pues, con un número de columnas en paralelo, N_c, se tiene que cumplir la relación siguiente:

$$F_{pA} = \sum_{i=1}^{N_C} F_{pci} N_{cdi} \qquad (9.62)$$

siendo F_{pA} la producción requerida en kg de proteína A/día; F_{pci} son los kg producidos por columna y ciclo, y N_{cdi} es el número de ciclos al día que hace la columna i. Los datos

de laboratorio permiten determinar los valores de F_{pc} y N_{cd} durante la puesta en funcionamiento experimental del proceso. A partir de aquí, se calcula el número de columnas en paralelo y cómo opera cada una de ellas.

¿Cuándo tendremos una producción tan grande que necesite utilizar más de una columna? Para tener una idea, podemos pensar en los valores siguientes. Si tomamos una velocidad superficial de trabajo de 100 cm/h (entre 30 y 300 cm/h, como hemos dicho), para las columnas Moduline^{TM} de la tabla 9.1 (cuya sección máxima corresponde a 630 mm de diámetro) se podrá alimentar un caudal volumétrico de 312 L/h durante 6 horas de trabajo (o sea, 1,87 m^3 en total para cada columna!, que es un volumen respetable).

Al utilizar simuladores, hemos de tener las ideas claras sobre nuestra investigación, a fin de concebir correctamente las operaciones de separación al modelar un proceso real en que se proyectan bioprocesos de verdad. En este sentido, nos referimos al simulador de la empresa Inteligen (BioPro Designer, v. cap. 13), porque se utiliza con mucha frecuencia. Para una producción de 1.800 kg/a de insulina humana BH, Petrides utiliza tres columnas en paralelo (denominadas C-101 en su diagrama de flujo), que son de Sepharose de 140 mm de diámetro, de intercambio de cationes. Esas tres columnas de Sepharose admiten un caudal total de 192 L/h. Debemos saber bien de dónde obtenemos los datos de nuestro laboratorio, utilizados para escalar el proceso con este simulador. Teniendo en cuenta que la planta de insulina tiene otras cuatro columnas de cromatografía adicionales (además de la C-101 comentada), sería razonable ver la incidencia de tantas columnas en un proyecto. En definitiva, recomendamos que la planta en estudio se diseñe estrechamente en contacto con los responsables de desarrollo del proceso y con ingeniería.

El número óptimo de columnas en paralelo es un problema de naturaleza económica y de flexibilidad del proceso. La condición representada por la ecuación 9.62 es el valor de F_{pA} (la producción deseada), que es una constante que, en realidad, es independiente del número de columnas. Durante la optimización experimental, hemos de poder encontrar los factores $F_{pci\ y}$ N_{cdi} que van mejor a nuestro proceso. N_c se determina, pues, por optimización económica.

9.7 Tipos de cromatografía más utilizados en biotecnología

Los tipos más corrientes hoy día, como método industrial de purificación, son los siguientes: intercambio iónico, permeación sobre gel (GPC), interacción hidrofóbica o de adsorción, y de afinidad, que se resumen en la tabla 9.2, donde se indican el mecanismo de retención, la resolución y sus aplicaciones. En la tabla, se resumen los factores de purificación esperables de cada tipo. Aquí solo presentaremos los tres más importantes.

Tabla 9.2
Purificación obtenida en cromatografía de biomoléculas

Tipo	Factor de purificación	Ejemplos
Bioafinidad	1:50 a 10.000	Prot./I. globulinas
Afinidad de colorante	1:10 a 100	Azul dextrano/prot.
Intercambio de cationes	1:2 a 40	Citocromo C
Exclusión por tamaño	1:3 a 30	Hemoglobina

9.7.1 Cromatografía de intercambio iónico

El gel que constituye las partículas contiene cargas eléctricas fijas positivas o negativas y contraiones. Las partículas son esferas perfectas iguales. Los grupos funcionales ligados la matriz se muestran en la tabla 9.3. La matriz es un polímero de poliestireno o poliacrilato reticulado, que se hincha en agua al solvatarse. Como las proteínas tienen una carga neta lejos de su punto isoeléctrico (pI), ello permite adsorberlas selectivamente en el gel de la resina, desplazando los contraiones. Este proceso de separación de proteínas depende de su pI y del intervalo de estabilidad entorno e él. Para purificar una proteína, primero se eluye del lecho la proteína no capturada. Para recuperarla, se eluye con un tampón adecuado. Por ejemplo, supongamos que se ha adsorbido una proteína catiónica (cuyo pI = 4 es estable en el intervalo 3-5) con una resina aniónica fuerte (por ejemplo, Dowex 50 en forma sódica) utilizando un tampón de pH = 5. Así pues, las demás proteínas de pI ~7 serán eluidas fuera de la columna. Entonces, para recuperar por desorción la proteína de interés, necesitaremos aumentar la fuerza iónica del eluyente con una solución de pH inferior a 4 para tener la proteína protonada.

Carácter	Grupo químico	Ion	pK
Ácido fuerte	Sulfónico	$-SO_3-$	2
Ácido débil	Carboxílico	-COO-	4-4,5
Base débil	Dietilaminoetilo	$-N^+H<$	9-9,5
Base fuerte	Trimetilamonio cuaternario	$-N^+\equiv$	12

Tabla 9.3
Tipos de resina de intercambio iónico más importantes

Una característica importante de la cromatografía iónica es que se puede tener una disolución eluida que tiene una concentración de proteína mayor que la concentración de la misma en la alimentación a la columna (de 5 a 10 veces mayor). Ello es debido a que la adsorción de la proteína sobre la resina produce una disolución muy concentrada en el interior del gel. Cuando se cambian el tampón y el pH y se ponen cerca del pI de la proteína, la concentración de equilibrio en el solvente es muy alta, ya que en el pI el solvente pasa a ser un solvente más bueno para la proteína, y, por tanto, la proteína se desorbe a alta concentración.

La cromatografía de intercambio iónico se utiliza para productos farmacéuticos, aminoácidos, proteínas, péptidos, ácidos nucleicos, azúcares, etc.

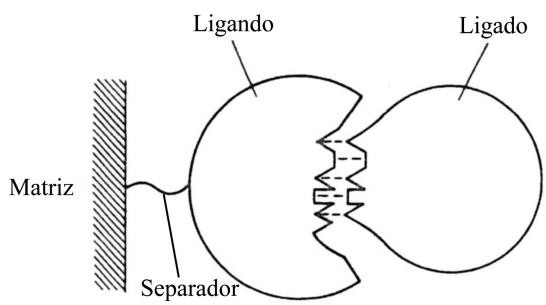


Fig. 9.13
Elementos constitutivos de un centro activo de la cromatografía de afinidad. El *ligando* está enlazado químicamente a un sustrato (o matriz, p. ej., la agarosa) mediante una cadena de separador. El soluto o *ligado* reconoce el ligando y se adsorbe muy selectivamente. La adsorción puede ser de Langmuir

9.7.2 Cromatografía de afinidad

En este tipo de cromatografía, las partículas del sólido son la matriz que inmoviliza un *ligando* molecular a través de una pequeña cadena o separador covalente enlazado al soporte. El ligando tiene una afinidad muy específica por el *ligado* o especie a retener. Esta especificidad se basa en un reconocimiento bioquímico del tipo: enzima-sustrato, antígeno-anticuerpo, enzima-cofactor, hormona-receptor, secuencia de bases-ácido nucleico complementario, etc. (v. tabla 9.4). La figura 9.13 representa el tipo de interacción, la matriz, el ligando, el ligado y el separador. En el momento actual, los ligandos más selectivos son los anticuerpos monoclonales, con adsorbentes basados en péptidos. Los ligandos sintéticos son colorantes que reaccionan con la mayoría de las proteínas. La tabla 9.4 indica las parejas de biomateriales con bioafinidad.

Los soportes son los siguientes: agarosa, celulosa, dextrano, sílice, adsorbentes basados en polimetacrilato, membranas de afinidad. Para el lector interesado en saber cómo funciona la separación de afinidad de dos proteínas, nos remitimos a un trabajo que explica claramente cómo se prepara el anclaje del ligando y cómo funciona la adsorción de afinidad y su desorción. Martín del Valle *et al*. (2002) hacen la separación de dos proteínas (la tripsina y la asparaginasa) por adsorción discontinua y desorción en continuo en una columna posterior, en que utilizan un modelo de equilibrio de Langmuir para la adsorción. La asparaginasa se adsorbe selectivamente y la tripsina se eluye del todo, así pues se produce una separación excelente. Otros soportes estudiados son la agarosa anclada sobre las paredes internas de los tubos de monolito (Montes, *et al*. 2004). Este soporte permite predecir la desorción con una geometría muy simple (con las paredes de los tubos en paralelo recubiertas de agarosa), modelando la elución solamente con consideraciones hidrodinámicas. El modelo no tiene parámetros ajustables y, por tanto, valida el mecanismo de desorción y proporciona un procedimiento directo de cambio de escala.

Tabla 9.4
Parejas de biomateriales aptos para la cromatografía de afinidad

Soluto o ligado	Ligando
Enzima	Sustrato, o afín Inhibidor Coenzima
Hormona	Receptor
Antígeno	Anticuerpo
Anticuerpo	Antígeno
Polisacárido	Lectina
Factor de coagulación	Heparina
ADN, ARN	Complementario de ADN o ARN
Enzima NADP-dependiente	Colorante sintético
Proteína con histidina	Quelante de metal pesado

9.7.3 Permeación sobre gel (GPC o de exclusión por tamaño)

Esta técnica deriva del fraccionamiento por peso molecular de polímeros sintéticos, de forma que permite caracterizar la dispersión de pesos moleculares en una columna con partículas geliformes que tienen diferentes tamaños de poro. La GPC fue una rutina importante en los años setenta para la caracterización del poliestireno eluido con solvente

orgánico. Las moléculas son excluidas por su tamaño molecular en disolución. Las más pequeñas (sales, aminoácidos y, en general, compuestos de bajo PM) entran enseguida en los poros de la matriz, mientras que las moléculas grandes no pueden entrar y son eluidas en primer lugar. En GPC, el coeficiente de distribución matriz/eluyente es independiente de la concentración de soluto, el pH, la fuerza iónica, etc., dependiendo solamente del tamaño molecular. El coeficiente de distribución viene dado por la ecuación de Ogston:

$$K_a = \exp\left[-(1-\varepsilon)(1+\frac{d}{f})^2\right] \tag{9.63}$$

donde d es el diámetro o radio de giro de la molécula, f es la dimensión de la fibra del gel y K_a es la constante de reparto, $K_a = C_{fluido}/C_{sólido}$. El diámetro d está relacionado con el peso molecular de una partícula esférica, según:

$$M_w = N_A \rho \left(\frac{\pi d^3}{6}\right) \tag{9.64}$$

en que la densidad ρ se expresa en kg/m^3; d, en m, y N_A es el número de Avogadro.

La GPC sirve para eliminar la sal después de la precipitación de proteína con $(NH_4)_2SO_4$, o antes de un cambio de tampón y desalado en general, y para separar proteínas de diferente PM o liberarlas de las sales del caldo del fermentador. Un inconveniente del proceso es que la solución producida es diluida y, por tanto, se procura combinar la GPC con otras técnicas, como la ultrafiltración/diálisis y la cromatografía de intercambio iónico, que producen soluciones más concentradas.

9.8 Consideraciones finales

Hemos explicado los fundamentos de la cromatografía de elución y la teoría de los momentos de la respuesta, ya que la cromatografía es un proceso de separación no estacionario, y la teoría de los momentos se adecua perfectamente a este caso. Además, la teoría de los momentos aporta una guía excelente para predecir el efecto de las variables de operación sobre la separación. La aplicación en biotecnología se ha hecho centrándonos en el objetivo del cambio de escala. Este aspecto ha sido muy poco estudiado en la práctica de la cromatografía y es una parte que la ingeniería puede aportar a la biotecnología industrial. Los problemas nuevos que la biotecnología afronta surgen cuando el proceso debe implementarse a escala de producción. Se han visto por encima los tipos de cromatografía más útiles en la biotecnología aplicada.

9.9 Notación

a	Área específica externa, en m^{-1}
C_j, C_1	Concentración del componente j en el fluido, en mol/m^3
D	Diámetro de la columna, en m
D_{12}, D_m	Difusividad molecular de la proteína, en m^2/s
D_e	Difusividad intrapartícula, en m^2/s
d_p	Diámetro de la esfera, en m
E	Coeficiente de dispersión axial, en m^2/s
E(t)	Respuesta de N adsorbedores en serie, ec. 9.18
F_p	Producción, en kg/h
F_{pc}	Producción por columna y ciclo, en kg/c/ciclo
G	Gradiente, = Vg_t
g	Aceleración de la gravedad, 9,81 m/s^2
g_t	Pendiente del gradiente por unidad de volumen de columna, en mol/L/L
G(s), $G_N(s)$	Transmitancia de un bloque y de N bloques
h	Altura del plato teórico adimensional, $HETP/d_p$
H, HETP	Altura equivalente a un plato teórico, en m
k’	Factor de capacidad, ec. 9.11
K’	Combinación de constantes, $K_a V_2/V_1$
K_a	Constante de equilibrio
k_p	Coeficiente de transferencia de masa, en m/s
L	Longitud de la columna, en m
M	Constante, ec. 9.5
N	Número de platos
N_c	Número de columnas en paralelo
N_{cd}	Ciclos/día
P	Presión, en Pa
Pé	Número de Péclet, ec. 9.33
q_j, C_2	Concentración de soluto sobre el sólido, en mol/kg o kg/kg
R	Radio de la esfera, en m
R_{ij}	Resolución de i y j, ec. 9.44
s	Variable de Laplace, en s^{-1}

t	Tiempo, en s
t_m	Tiempo de la ec. 9.32, en s
t_R	Tiempo de retención del componente j, en s
u	Velocidad superficial, en m/s
u_j	Velocidad de onda del componente j, en m/s
v	Velocidad intersticial, en m/s
v^*	Velocidad adimensional, en udp/Dm
v_0	Caudal volumétrico, en m^3/s
V_1, V_2	Volúmenes 1 o 2, en m^3
w	Anchura de la base, en m
z	Posición, en m
$z(t)$	Espacio recorrido por la onda a t = t, en m

Letras griegas

α	Factor de separación, ec. 9.48
β	Fracción vacía (porosidad) de la partícula
ε	Fracción vacía (porosidad) de la columna
μ	Viscosidad, en Pa·s
μ_2	Momento de 2º orden, en s^2
μ_1	Momento de 1^r orden, en s
ρ	Densidad de la partícula, en kg/m^3
σ_t	Desviación tipo en tiempo, en s
σ_a	Desviación tipo adimensional = σ_t/t_R

Abreviaturas

HETP	Altura equivalente a un plato teórico
GPC	Cromatografía de permeación sobre gel
UF/DF	Ultrafiltración, diafiltración
HIC	Cromatografía de adsorción hidrofóbica
FT	Filtración tangencial

→10

Filtración tangencial

En este capítulo, se exponen las operaciones más importantes de filtración tangencial sobre membrana, a saber, la ultrafiltración (UF), la diafiltración (DF) y la microfiltración (MF), que se basan en la permeación de disoluciones a través de una membrana activada por presión mecánica. En el desarrollo del tema, nos referiremos a la presión osmótica, porque en fase líquida incide en todos los procesos en que intervienen disoluciones separadas por una membrana semipermeable. En biotecnología, las operaciones con membrana de UF/DF son muy importantes y perfectamente estandarizadas, con aparatos comerciales disponibles de casi todos los tamaños. En la figura 9.2 del capítulo anterior, que representa una parte del proceso de fabricación del interferón recombinante glicosilado, vemos que se utilizan repetidamente la UF y la DF como procesos de concentración o de lavado, o cuando se cambia de tampón.

En las industrias de proceso (industria química, de aguas, alimentaria, de materias primas farmacéuticas, gases industriales, etc.), la UF permite concentrar alimentación evitando la evaporación, que es más costosa en términos de energía térmica. En la UF, se utiliza la energía mecánica, en vez de vaporizar agua. Comparada con la evaporación, la ósmosis inversa (OI) tiene la ventaja de que ahorra mucha energía, gracias a la recuperación de energía mecánica por expansión del filtrado en una turbina. Una ventaja de la UF es que se realiza a baja temperatura (10-35 ºC). Ello es muy apropiado para algunos bioproductos que no soportarían las temperaturas de la evaporación.

En biotecnología, las ventajas de los procesos de membrana son que permiten:

- concentrar,
- separar,
- purificar,
- lavar (sales o tampón) y
- fraccionar

directamente la alimentación de bioproductos contenidos en un caldo de fermentación.

Los procesos de membrana utilizan energía mecánica, de forma que la presión hidráulica provoca la permeación por efecto de la circulación tangencial. En UF, MF y DF, la presión es relativamente baja (inferior a 10 bar); sin embargo, en la OI, la presión es elevada (unos 80 bar). En realidad, la fuerza impulsora del proceso es el potencial químico o la fugacidad del agua líquida a ambos lados de la membrana. Como el potencial químico

de un componente depende de la presión (además de la temperatura y la composición), se aplica presión hidráulica para activar el proceso de transferencia de masa. En los procesos en que hay una membrana semipermeable, a un lado de la barrera hay moléculas/partículas solubles más o menos pequeñas o bien macromoléculas y, al otro lado, agua pura, y la tendencia espontánea es que el agua pase de un lado de la membrana al otro, a fin de igualar los potenciales. La presión osmótica se desarrolla, pues, en sentido contrario al del flujo de agua que se desea. Así pues, la presión efectiva que tenemos que realizar en el lado de alta concentración de solutos, con el fin de conducir el proceso en sentido inverso, ha de superar la presión osmótica natural. En un proceso de desalinización por OI, en que se aplica una presión de 80 bar, la presión efectiva es, en realidad, más pequeña, ya que se debe restar la presión osmótica, que puede ser alta (24 bar, v. ejemplo 10.1).

10.1 Los procesos de filtración tangencial

Tabla 10.1 Procesos de separación de membrana en fase líquida

	Osmosis inversa	**Nanofiltración**	**Ultrafiltración**	**Microfiltración**	**Filtro de tela o papel**
Fuerza impulsora	Presión hidráulica	Presión hidráulica	Presión hidráulica / gradiente de concentración	Presión hidráulica	Presión hidráulica
Abertura	0,3 nm	1 nm	3 nm	0,1 µm	>20 µm
Retenido	Iones	Moléculas	Macromoléculas	Micropartículas	Partículas, células, cél. sangre
PM límite, en kg/kmol	> 40	> 200	> 3.000	> 100.000	
Flujo, en L/m^2h	1-40	2-80	10-100	100-500	50-200
Presión de trabajo, en bar	25-70	14-40	2-10	1-10	< 2

Fuente: Datos de Osmonics (1993), Cheryan (1998), Fariñas (1999)

Conviene diferenciar los procesos de membrana que son aplicables en biotecnología. En la tabla 10.1, se presenta un resumen de las operaciones de membrana, el intervalo de tamaño molecular de los solutos, los tamaños de molécula que se filtran y otros datos. Veamos los tipos de operaciones en que los solutos permean a través de una membrana semipermeable, gracias a un gradiente de potencial. Las posibles fuerzas impulsoras son el gradiente de concentración, la presión hidráulica y el potencial eléctrico, o una combinación de ellos. Dado un dispositivo de permeación industrial, existen tres corrientes. La figura 10.1 ilustra cuál es cada corriente y la nomenclatura que se adopta. Una corriente es la alimentación que queremos tratar, que contiene agua, solutos y partículas. Esta alimentación se filtra por efecto de la membrana con una corriente que la atraviesa,

que se denomina *filtrado* o *permeado*, y el resto, que no pasa o bien es retenido, se llama *concentrado*, *retenido* o *rechazo*. Las corrientes de salida, el filtrado y el concentrado contienen concentraciones diferentes de los solutos que tiene la alimentación. Las concentraciones de los solutos aguas abajo dependen de las diferentes velocidades de permeación de cada componente a través de la membrana: unos filtran rápidamente, mientras que otros son rechazados completamente por ella. A continuación, explicamos en qué consiste cada proceso de membrana, puesto que los procesos se prestan a confusión.

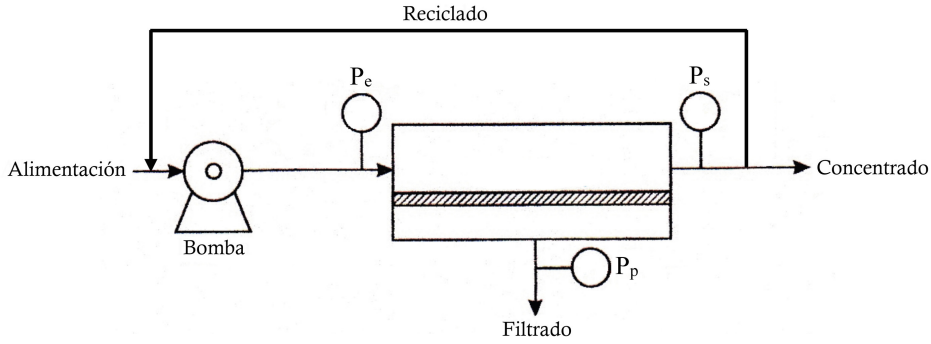


Fig. 10.1
Esquema básico de una unidad de ultrafiltración. P_e, presión de entrada; P_s, presión de salida; P_p, presión del filtrado. El concentrado es la corriente de rechazo. Gracias a la recirculación, la velocidad del fluido a lo largo de la membrana es elevada, de 1 a 4 m/s. Ello provoca la pérdida de carga, $P_e - P_s$. La presión de trabajo del filtro vale $\Delta p = (P_e + P_s)/2 - P_p$

La *diálisis* es un proceso en el cual se separan moléculas grandes de moléculas pequeñas gracias a las diferencias de velocidad de difusión a través de la membrana. En la diálisis, hay solutos que tienen afinidad por la membrana y se disuelven en ella o en el líquido ocluido en sus poros. El transporte es debido a la transferencia de masa causada más por un *gradiente de concentración* en la propia membrana, que por un gradiente de presión hidráulica. Por tanto, no hace falta que la presión en el lado de la alimentación de la membrana sea demasiado grande.

La *microfiltración* (MF) es un proceso de filtrado de partículas muy pequeñas (0,1-10 μm) de una dispersión, una emulsión, una suspensión o un coloide. La membrana de microfiltración es una membrana de poros más pequeños que las partículas. Se trata, pues, de una filtración convencional, pero con una malla de apertura más pequeña, que es la membrana. La *fuerza impulsora es la presión hidráulica* diferencial entre la alimentación y el filtrado, como en un filtro de tela. El efecto es debido al tamaño de los poros.

La *ultrafiltración* (UF) sirve para separar las macromoléculas (por ejemplo, proteínas) presentes en una solución con la membrana adecuada. La *fuerza impulsora es la presión hidráulica*, pero alterada por el transporte de masa debido a la *polarización* de la membrana, fenómeno característico de la UF y de la OI. Las partículas tratadas por UF tienen entre 3 y 100 nm, e incluyen virus y pirógenos, polímeros en emulsión (dispersiones) y macromoléculas solubles de peso molecular de entre 15.000 y 100.000.

La *diafiltración* (DF) es un proceso que utiliza la misma instalación que la UF, no para retener una macromolécula, sino para lavar o dializar las sales con agua limpia, o sustituir los tampones de la molécula de alto PM retenida. Una aplicación típica es el lavado de sulfato amónico, que se realiza en la precipitación de proteínas. Como la diafiltración se hace desde un tanque de donde se presuriza la alimentación en la membrana, el proceso

de lavado se efectúa alimentando el agua o el tampón desde el tanque de alimentación. La fuerza impulsora de la DF en las operaciones de lavado es el gradiente de concentración, igual que en la diálisis. La presión aplicada es inferior a la de la UF.

La *ósmosis inversa* (OI) es un proceso que se utiliza para concentrar solutos o iones de bajo peso molecular en disolución. La fuerza impulsora del proceso es la presión hidráulica. Se aplica una presión en el lado de la membrana donde está la disolución, que ha de superar la presión osmótica. Esta presión puede ser considerable cuando las especies en disolución son de tamaño pequeño (sales, moléculas orgánicas ligeras). En el caso del agua de mar (salinidad del 3,45 %, NaCl, a 10ºC) la presión osmótica es inferior a 23 bar. Además, se tiene que superar la polarización de la membrana. En total, la presión de trabajo es de 25 a 80 bar.

La *nanofiltración* es una técnica que se aplica entre los límites de la UF y la OI, con un peso molecular de corte de 1.000.

En la tabla 10.1, se resumen las características principales de los procesos que acabamos de exponer. Y, en la tabla 10.2, se resume la función que cumple cada tipo de proceso de membrana en el ámbito de la biotecnología y en otros campos.

Tabla 10.2
Usos de los procesos de membrana en biotecnología

Proceso	**Abertura de la membrana (intervalo de PM)**	**Utilización**
Microfiltración	0,05 - 1 μm	Retención de restos celulares, del caldo y del homogeneizado. Bacterias y células intactas. Emulsiones y dispersiones
Ultrafiltración	1 nm - 100 nm (1.000 a 1.000.000)	Retención de anticuerpos, proteínas, polisacáridos, virus, inclusiones celulares. Albúmina. Péptidos
Diafiltración	1 nm - 100 nm	Concentración del retenido. Lavado de contaminantes del retenido en la membrana, cambio de tampón, tratamiento antes y después de cromatografía. Retención de vitaminas, citocromos. Lavado de sulfato amónico
Diálisis*	< 5 nm	Hemodiálisis. Tratamiento del fracaso renal agudo. Riñón artificial
Electrodiálisis**	< 5 nm	Sales disueltas en tratamiento de aguas
Ósmosis inversa	0,3 nm - 1 nm (< 1.000)	Potabilización del agua, cuando la dureza es muy alta. Antibióticos, azúcares. Potabilización del agua de mar

* Gradiente de concentración, ** potencial eléctrico

En este capítulo, estudiamos primero la teoría de la filtración tangencial cruzada, en el caso de los líquidos. En este tipo de filtración, la circulación del fluido de alimentación es paralela en la superficie filtrante, a diferencia de la filtración convencional, en que el líquido filtrado comprime frontalmente la torta depositada sobre la tela (v. fig. 10.2).

Después, se estudian los aparatos, los módulos y las instalaciones de filtración por membrana. Finalmente, se estudian los procesos industriales discontinuos y continuos más interesantes en biotecnología.

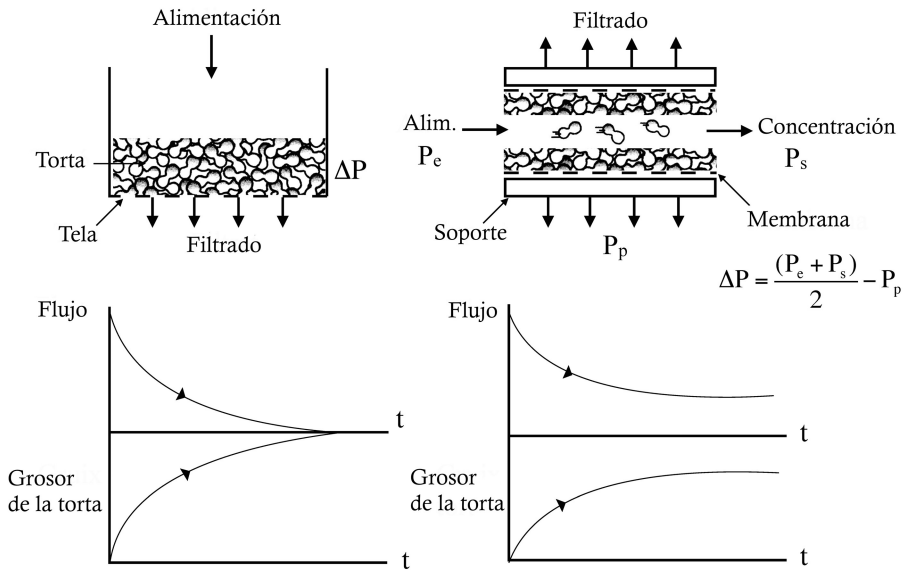


Fig. 10.2 Principio de funcionamiento de la filtración convencional y de la filtración tangencial. Obsérvese cuánto vale Δp en cada caso

10.2 Los fundamentos de la filtración tangencial

Primero, estudiamos las propiedades y los términos que se utilizan en la tecnología de membranas, así como los tipos de membrana. La figura 10.3 resume las operaciones de que estamos hablando. Vemos que el intervalo de tamaños de partícula que estamos filtrando va de 1 nm a 100 nm, que es la zona de la UF.

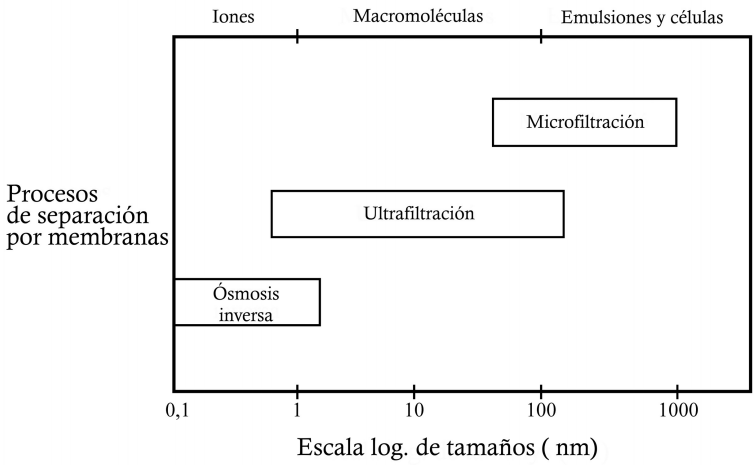


Fig. 10.3 Intervalos de tamaños de partícula de las operaciones de filtración tangencial

10.2.1 Definiciones: factor de concentración, rendimiento, presión osmótica y Δp

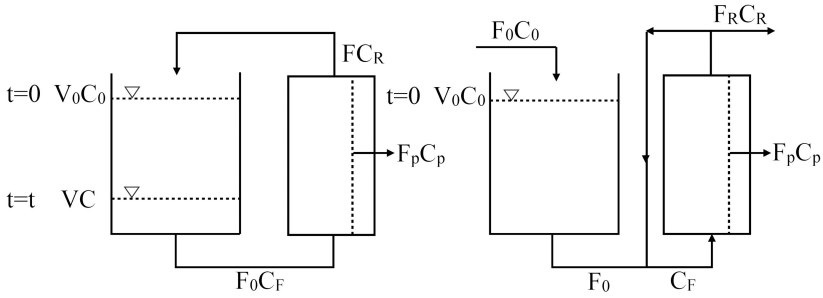


Fig. 10.4 Operaciones de UF: por cargas con recirculación (izquierda) y en continuo con recirculación local (derecha). Véanse la nomenclatura y las propiedades de la membrana en el texto

La figura 10.4 resume la nomenclatura de un elemento de permeación continua, en que las F son los caudales volumétricos que entran o salen de la membrana. En las operaciones por cargas, en vez de *caudales* hablamos de *volúmenes*. Se definen los términos siguientes relativos a las propiedades de la membrana:

Factor de concentración. En un elemento que trabaja por cargas, se define el factor de concentración, f, como:

$$f = \frac{V_0}{V} = \frac{V_{inicial}}{V_{final}} \tag{10.1}$$

Cuando un elemento trabaja en continuo en estado estacionario, f se define como:

$$f = \frac{F_0}{F} = \frac{\text{Caudal de entrada}}{\text{Caudal de salida}} \tag{10.2}$$

Factor de reducción de volumen, en % sobre el inicial, se calcula como:

$$\Delta V(\%) = \frac{V_0 - V}{V_0} \times 100 = (1 - 1/f)100 \tag{10.3}$$

Los valores habituales del factor de concentración en UF son de f = 2-40, dependiendo de la viscosidad del concentrado.

Presión osmótica. Ya hemos dicho en la introducción que es una propiedad coligativa de las disoluciones líquidas separadas por una membrana. Véase al respecto el Capítulo 4, apartado 4.1.1 sobre ósmosis. Nos interesa poder calcularla, ya que frena el proceso de permeación del agua. Designando con el subíndice 2 el solvente, para soluciones no ideales de no electrolitos, la presión osmótica se expresa como:

$$\Pi = \frac{R_g T}{V_2} \gamma_2 x_2 \tag{10.4}$$

donde x_2 es la fracción molar de agua; γ_2, su coeficiente de actividad, y V_2, el volumen molar parcial del agua. El coeficiente de actividad gamma se define conforme a la convención siguiente. Para $x_2 \rightarrow 1$ (o sea, $x_1 \rightarrow 0$, disolución diluida), se cumple que $\gamma_2 \rightarrow 1$. Esta relación se puede aplicar a disoluciones diluidas de moléculas pequeñas en agua (etanol, glucosa, etc.). Para soluciones diluidas, se obtiene la ecuación de Van 't Hoff:

$$\lim_{C_1 \to 0} \frac{\Pi}{C_1} = \frac{R_g T}{M_1} \tag{10.5}$$

donde C_1 es la concentración del no electrólito, en kg/m^3, y M_1, su peso molecular, en kg/kmol. Para electrólitos de bajo PM, que se ionizan totalmente, la concentración molar hace referencia a todas las especies presentes en la disolución. Para las sales ionizables, la presión osmótica tiene en cuenta el número total de especies y se escribe como:

$$\Pi = \sum i \frac{R_g T C_1}{M_1} \tag{10.6}$$

donde Σi es el número de iones formados por mol de sal, por ejemplo, para NaCl, $\Sigma i = 2$, para $Ca(Cl)_2$, $\Sigma i = 3$, etc. Para polímeros disueltos en solvente (como PVA, PVP, o PA en agua), la presión osmótica viene dada por una ecuación virial de la forma siguiente (Billmeyer, 1962):

$$\Pi = \frac{R_g T C_1}{M_n}\left(1 + \Gamma C_1^2 + \ldots\right) \tag{10.7}$$

Para proteínas a alta fuerza iónica, la expresión práctica que se utiliza en ultrafiltración es la siguiente:

$$\Pi = AC + BC^2 + DC^3 + \ldots \tag{10.8}$$

Para la UF de disoluciones de proteínas, McCabe *et al*. (1993) utilizan la expresión que sigue:

$$\Pi = 4,4 \times 10^{-3} C - 1,7 \times 10^{-6} C^2 + 7,9 \times 10^{-8} C^3 \tag{10.9}$$

donde C es la concentración de proteína, en kg/m^3, y Π en bar. Cheryan (1998) da más expresiones prácticas. La tabla 10.4 ofrece una recopilación de diversos solutos de interés, que es útil para calcular los distintos valores de la presión osmótica.

Tabla 10.4
Presión osmótica de algunas disoluciones acuosas en filtración tangencial

Soluto	**Concentración**	**Presión osmótica, en bar**
Sacarosa	4,5% sólidos	69
Extracto de café	28% sólidos	34,0
Agua de mar	3,45% salinidad (10ºC)	23,2
Leche descremada	20-25 % proteína	6,9
Lactosa	1 %	3,7
Etanol	14 %	9,9
Seroalbúmina bovina	44% sólidos, pH 7,4	4,8

Fuente: Cheryan (1998)

Caída de presión a través de la membrana: Presión transmembrana. Conviene distinguir entre la caída de presión debida a la fricción y la diferencia de presión asociada al proceso de UF. En la figura 10.1, vemos que la presión de entrada al módulo es P_e y la de salida del concentrado es P_s. Esta diferencia de presión es debida a la pérdida de carga del fluido a lo largo de la membrana. Vemos, además, que la presión del filtrado es p_p, que normalmente es bastante más baja que las otras. Se denomina *presión transmembrana*, PTM o Δp la diferencia media de presión entre los dos lados de la membrana en condiciones de trabajo en estado estacionario. Como la presión a un lado varía entre el valor de entrada, p_e, y el de salida, p_s, se toma un valor medio para calcular la Δp. Así, valdrá:

$$\Delta p = p_m - p_p = \frac{p_e + p_s}{2} - p_p \qquad (10.10)$$

Con esta definición, la membrana se considera que opera a una única caída de presión, que corresponde a la presión media en el lado de la alimentación.

Ahora bien, si los efectos de la presión osmótica son grandes (sobre todo en el lado de la alimentación), la Δp efectiva para el transporte de solutos se deberá corregir de acuerdo con las presiones osmóticas de los lados, es decir:

$$\Delta p = \left(p_m - p_p\right) - \left(\Pi_F - \Pi_p\right) = \left(p_F - p_p\right) - \Delta\Pi \qquad (10.11)$$

donde Π_F y Π_p son las presiones osmóticas de las dos disoluciones. Si para una macromolécula, hay rechazo total (o sea R = 1) y los componentes de bajo PM pasan libremente (o sea R = 0) se puede considerar que el lado de baja presión es igual que el medio de alta presión en que está disuelta la macromolécula, es decir, $\Pi_p = 0$.

En el ejemplo 10.1, se calcula la presión osmótica en un caso y se ve cómo afecta la Δp efectiva.

Ejemplo 10.1. Presión efectiva del proceso cuando la presión osmótica es importante

Estamos purificando por ultrafiltración un antibiótico de peso molecular moderado. La concentración de soluto es de 0,10 kmol/m^3 y T = 298 K. La presión aplicada a la solución es de 5 bar. En estas condiciones, el soluto está completamente retenido (R = 1). Consideremos que el soluto se comporta como una molécula no iónica y que el solvente es agua pura. ¿Cuál es la presión efectiva del proceso?

Aplicamos la fórmula de Van 't Hoff, $\Pi = R_g TC$, en donde C se expresa en kmol/m^3 y R_g= 0,0831 bar m^3/(kmol K), y T en se expresa en K. Tendremos:

$$\Pi = 0,0831 \times 298 \times 0,1 = 2,47 bar$$
$$\Delta\Pi = \Pi - 0$$
$$\Delta p - \Delta\Pi = 5 - 2,47 = 2,53 bar$$

10.2.2 Factor de retención y propiedades de la membrana

El *factor de retención o de rechazo* de un componente *y* se define con respecto a las concentraciones del componente en la alimentación, C_F, y en el filtrado, C_P, de la manera siguiente:

$$R = \frac{C_F - C_p}{C_F} = 1 - \frac{C_p}{C_F} \qquad (10.12)$$

donde C_p y C_F son las concentraciones de soluto correspondientes. Por supuesto, R es una propiedad importante de la membrana, ya que expresa su comportamiento con respecto a los componentes que retiene o que deja pasar. Para la retención total de un componente (por ejemplo, una macromolécula), $C_p = 0$ y, entonces, R valdrá 1 para este componente. Para la retención nula de un componente (por ejemplo, una sal), que atraviesa libremente la membrana, $C_p = C_F$ y, entonces, su valor de R vale 0. Los valores de R para los diversos componentes se determinan analizando C_F y Cp para una alimentación y un filtrado simultáneos en una unidad de UF de pruebas.

10.2.3 Membranas comerciales

Una membrana ideal tendría todos los poros del mismo tamaño. Sin embargo, en la realidad, una membrana tiene una distribución estadística de diversos tamaños de orificio, caracterizada por un valor medio y una desviación tipo. Eso hace que R, en función del PM, sea una función sigmoidea acumulada como la de la figura 10.5. Idealmente, quisiéramos que la función acumulada fuera un escalón perfecto para un único PM, pero ello no es posible en la realidad. Sin embargo, hay membranas en que el factor de retención R *vs*. PM es bastante estrecho, mientras que otras tienen una mayor dispersión. En la figura 10.5, se representa la función R *vs*. PM.

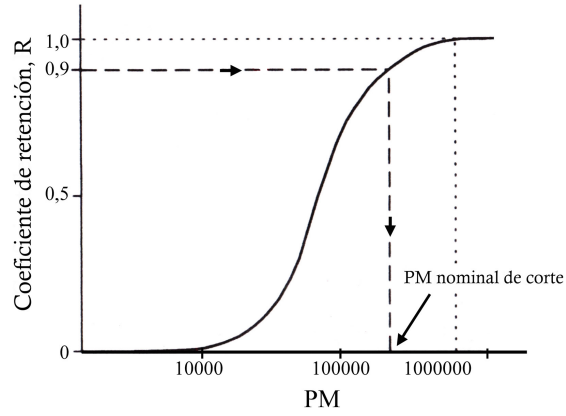


Fig. 10.5. Distribución de PM de una membrana real. Idealmente, el PM de corte sería un escalón situado en un PM único. En la práctica, la membrana tiene una distribución estadística de tamaños de poro. El coeficiente de retención R_{90} caracteriza el PM nominal de una membrana comercial

En la práctica, los fabricantes ensayan sus membranas frente a unas macromoléculas tipo (dextrano, citocromo c, polivinilpirrolidona, etc.) y definen las membranas con los valores de PM de corte (v. tabla 10.3). En inglés, este PM se denomina *nominal molecular weight limit* (NMWL), que nosotros traducimos como *PM de corte*. Si una membrana tiene un valor PM de corte de 30.000, quiere decir que retiene *al menos* el 90 % de las

moléculas de peso molecular 30.000, debido a su distribución estadística de tamaños de orificio.

Tabla 10.3
PM y rechazo típico (en %) de algunas macromoléculas sobre PM_{90} Biomax® PB (polímero PES)

Soluto	PM	5.000	10.000	30.000	50.000	100.000	300.000	500.000
Citocromo c	12.400	98	70	30	30	-	-	-
Albúmina	67.000	-	98	98	98	98	20	15
IgG	156.000	-	-	-	-	98	90	20
PVP K-90	360.000	-	-	-	-	98	90	-
Tiroglobulina	670.000	-	-	-	-	-	-	85
Azul dextrano	2.000.000	-	-	-	-	98	98	90

*A una presión de 3,9 bar (hasta PM < 50.000) y a 0,7 bar (PM entre 50.000 y 500.000)

Selección de la membrana. En la tabla 10.3, se dan los valores nominales de corte de un fabricante (Millipore, 1999). No haremos una exposición exhaustiva de dichas membranas. Solamente indicaremos que hay membranas de dos tipos básicos:

- de acetato de celulosa (o celulosa modificada), de *alta recuperación*
- de polietersulfona (PES), *de flujo elevado*

Tanto si es para UF como para DF, a continuación explicamos cómo seleccionar la membrana. Millipore utiliza la clasificación en función del PM de corte citado. Una membrana con un PM_{90} dado retiene, como mínimo, el 90 % de un soluto globular de este PM. Obsérvese que este valor del 90 % implica que habrá una pérdida de un 10 % del soluto a través de la membrana que habrá que tener en cuenta. Si esta pérdida no es aceptable, tendremos que escoger una membrana que tenga un valor de PM_{90} más pequeño. Sin embargo, cuanto más pequeño sea el valor nominal de PM de una membrana, menor será el valor de flujo que produzca. Por tanto, hay que examinar los flujos, pues a tamaños menores de PM de corte aquéllos van bajando. Millipore (1999) proporciona una regla práctica que resulta adecuada para realizar, por lo menos, la selección inicial. Lo mejor es escoger una membrana de valor PM de corte "inferior –aunque no mucho más pequeño– que la mitad del PM" de la proteína que se quiere concentrar. En concreto, se recomienda:

$$\text{PM de corte} < \frac{\text{PM de la proteína}}{2} \qquad (10.13)$$

Esta regla constituye un compromiso práctico entre la recuperación y el tiempo mínimo para filtrar. Veamos un ejemplo. Supongamos que queremos aislar una proteína del tipo BSA (de PM = 67.000). Escogeremos una membrana de PM de corte de 30.000 (en vez de 50.000) como membrana de rendimiento óptimo para concentrar y recuperar la proteína.

En la tabla 10.3, se dan los valores útiles para efectuar esta elección (que se debe basar en determinadas condiciones de presión, v. pie de la tabla). Como las tablas dan valores

corrientes con ciertos polímeros y proteínas, pueden ser diferentes para nuestro problema. Otros factores que influyen en el funcionamiento de la membrana son la fuerza iónica, la temperatura, el pH, la concentración de trabajo, las conformaciones especiales de la macromolécula (glóbulos, fibras, varillas), etc. La decisión final, sin embargo, dependerá de las pruebas experimentales.

Tabla 10.4
Filtración tangencial, datos de resistencias en serie: valores de R, en bar/(m/h), para ciertas moléculas

Molécula/soluto	Membrana	R_M	R_C	R_{gel}
BSA, sangre	PVA	0,6	1,6	0,15
Albúmina	PES	5,1	92	9,1
Fruta de la pasión	PES	2,7	19	14,0
PVP 360 M (al 2 %)	PES	1,4	79	67
Almidón	PES	6,8	27	49

Fuente: Adaptado de Cheryan (1998)

PES = polietersulfona, PVA = alcohol polivinílico, PVP = polivinilpirrolidona, R_M = membrana, R_C = torta, R_{gel} = gel

10.2.4 Diseño del proceso de UF

Como hemos visto, podemos escoger la membrana de manera orientativa. Ahora interesa calcular el flujo que podremos obtener. Este representa el caudal horario de filtrado por m^2 de membrana, que normalmente se expresa en m^3/m^2 h (= m/h), o bien en las unidades industriales habituales (L/m^2h o mL/cm^2h); en unidades del SI serían m/s. Los flujos habituales que podemos tener son de 5 a 150 L/m^2h (v. tabla 10.1). Estos flujos son para presiones del lado de la membrana de 2 a 10 bar. Si disponemos de estos datos, podremos diseñar la unidad sin demasiados problemas. Pero, al final, siempre tendremos que probar el proceso a escala piloto y hacer un diseño por cambio de escala.

Los factores que determinan el flujo son, específicamente, la turbulencia, la presión, el caudal y la viscosidad, y, por tanto, la temperatura.

Dos teorías permiten calcular el flujo de difusión a través de una membrana: la teoría de las resistencias en serie, basada en la teoría de la filtración convencional, y la teoría de la transferencia de masa con circulación tangencial con polarización. Se presentan a continuación.

10.3 Modelos de transporte de soluto a través de la membrana

El flujo de difusión en la membrana se puede calcular mediante el modelo de resistencias en serie y mediante el modelo de difusión, que tiene en cuenta la transferencia de masa en el lado de alta presión de la membrana.

10.3.1 Modelo de resistencias en serie: cálculo del flujo

La teoría de la filtración convencional establece que la velocidad de permeación depende directamente de la caída de la presión, Δp, e inversamente de la resistencia del lecho filtrante. Escribimos el flujo, J, de la forma siguiente:

$$J = \frac{\Delta p}{R_T} \tag{10.14}$$

donde R_T es la resistencia total. En la teoría general de la filtración frontal, R_T es igual a la suma de las resistencias individuales en serie, es decir, la membrana misma y el material depositado sobre el medio que forma la torta. Para nosotros, una de las resistencias equivale a la de la capa de polarización. Así:

$$J = \frac{\Delta p}{R_M + R_c} \tag{10.15}$$

que tiene su equivalente físico en la ley de Darcy, de la cual hablaremos más adelante para descomponer la ecuación anterior. En la ecuación 10.15, R_M es la resistencia de la membrana y R_C es la resistencia debida a la polarización del soluto; ambas se han determinado experimentalmente. R_M se determina empleando agua pura, es decir:

$$R_M = \frac{\Delta p}{J_{H_2O}} \tag{10.16}$$

En cambio, R_C depende de las partículas que estamos filtrando y es proporcional a la caída de presión, Δp, como se deduce de la teoría de la filtración. Incorporando ambos efectos a la ecuación anterior, tendremos:

$$J = \frac{\Delta p}{R_M + R_C \Delta p} \tag{10.17}$$

Cuando la caída de presión es pequeña, el término de R_C es despreciable porque el producto es mucho más pequeño que R_M; por tanto, el flujo será directamente proporcional a Δp. En cambio*, si la caída de presión es elevada*, el término $R_C\Delta p$ del denominador es se hace grande, con lo cual el flujo es poco sensible a la caída de presión, tal como se observa en la realidad.

Como veremos más adelante, la teoría de la transferencia de masa en la membrana explica la dependencia de Δp y, después, la dependencia de la velocidad del fluido, cuando Δp es grande.

Los valores de la permeabilidad. Ladisch (2001) considera que el valor de la permeabilidad de una membrana está relacionado con la resistencia, lo cual es muy lógico. La permeabilidad de la membrana se define como un coeficiente de transmisión, L_m, que incorpora la resistencia de la capa de gelificación (v. modelo de gelificación):

$$J = L_m \Delta p \tag{10.18}$$

$$L_m = \frac{1}{R_M + R_C + R_{gel}} \tag{10.19}$$

Cheryan (1998) da un conjunto de valores de las resistencias que contribuyen a L_m, tal como se indica en la tabla 10.4 para las membranas frente a ciertas macromoléculas. A partir de estos valores, se pueden calcular las permeabilidades correspondientes, utili-zando la ecuación 10.18 anterior y la expresión del flujo.

La teoría de la permeabilidad basada en las resistencias en serie explica la curva de flujo, es decir, la parte proporcional a Δp, y también la parte constante. Pero no explica por qué el flujo aumenta con la velocidad del fluido en la parte constante. Para ello se necesita la teoría de la transferencia de masa.

10.3.2 Modelo de transferencia de masa: cálculo del flujo

Una membrana de ultrafiltración se caracteriza por su PM de corte, y también por el flujo, el porcentaje de retención y la concentración de un componente de referencia en el filtrado. Las hipótesis que hacemos para desarrollar la teoría de la polarización son las siguientes:

- No hay depósitos (membrana limpia).
- No hay polarización.
- Es aplicable a agua pura.
- El flujo del fluido en los poros es laminar.
- R = 1 para el componente de interés.

La ecuación que da el flujo se basa en la ecuación de Hagen-Poiseuille para flujo laminar, que es:

$$J = \frac{(\Delta p - \Delta\Pi) d^2 \varepsilon}{32 L \tau \mu} \tag{10.20}$$

En el SI, los símbolos son: J es el flujo y se expresa en m^3/m^2s o m/s; d es el tamaño de los poros, en m; τ es el factor de tortuosidad de los poros; L es la longitud del poro, en m; μ es la viscosidad, en Pa·s, y ε es la porosidad o fracción vacía de la membrana. La ecuación anterior se puede escribir como:

$$J = L_m (\Delta p - \Delta\Pi) \frac{\mu_{H_2O}}{\mu} \tag{10.21}$$

donde L_m es la permeabilidad de la membrana, en m/s/bar; μ_{H2O} es la viscosidad del agua, y μ, la viscosidad del fluido actual. En el apartado 10.3.1, hemos evaluado L_m en función de las resistencias, con un modelo de resistencias en serie; por tanto, podemos utilizar L_m con cierta confianza. Veamos ahora cómo interviene la polarización en el flujo.

10.3.3 Polarización y concentración de gelificación

Consideremos una membrana cuya superficie es la unidad A = 1 m^2 (v. fig. 10.6). Supongamos el flujo J de solvente hacia la derecha, en el sentido de x > 0. En estado estacionario, el flujo del solvente J es igual al flujo que permea por el lado derecho de la

membrana. Sin embargo, las concentraciones de soluto estarán afectadas por la polarización de la membrana. El transporte convectivo de soluto en x = 0, antes de entrar en la capa límite, vale JC. Sin embargo, cerca de la membrana, entre x = 0 y x = δ, el soluto está sujeto a difusión en sentido contrario (hacia x negativas), debido al gradiente impuesto por la polarización, de manera que, pasada la membrana, el transporte de soluto valdrá JC_p, siendo $C_p < C$. Queremos ahora calcular el perfil de concentración de soluto en la capa límite cerca de la membrana. Para ello, planteamos el balance de soluto, en estado estacionario. Tendremos:

- transporte de soluto por convección, JC
- transporte difusional de soluto en sentido contrario, -D dC/dx
- transporte convectivo de soluto a la derecha de la membrana, JC_p

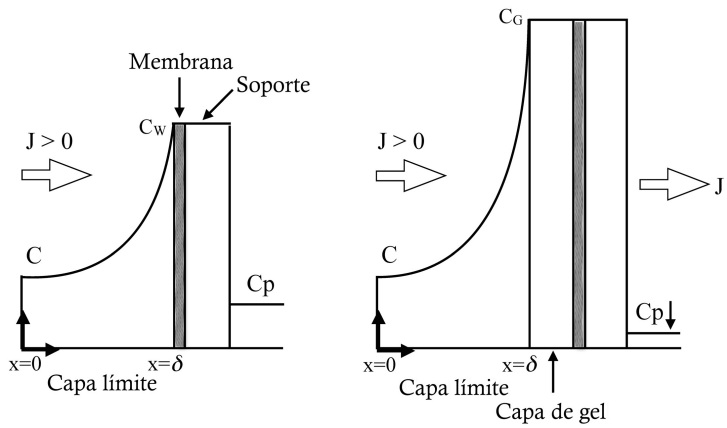


Fig. 10.6. Polarización de la membrana: *a*) membrana limpia, *b*) membrana con una capa de gel. Las curvas son los perfiles de C(x) en la capa límite. C(0) es la concentración en la disolución; C_w es la concentración sobre la membrana, y C_G es la concentración de gelificación. J representa el flujo de solvente a través de la membrana. El flujo tiende a cero en C cuando C → C_G, y es máximo cuando C → 0

En régimen estacionario, los flujos netos de soluto hacia la membrana, y de salida de ella, han de ser iguales, es decir:

$$JC - D\frac{dC}{dx} = JC_p \tag{10.22}$$

o bien:

$$D\frac{dC}{dx} + J(C_p - C) = 0 \tag{10.23}$$

ecuación que se puede integrar por separación de variables dentro de la capa límite (0 < x < δ). Las condiciones de contorno en los extremos de la capa límite serán:

$$C(x=0) = C \qquad C(x=\delta) = C_w \tag{10.24}$$

El perfil de concentración de soluto, C, solución dela ec. (10.23) con las condiciones (10.24) en la capa límite, valdrá:

$$\ln\frac{C_w - C_p}{C - C_p} = \frac{J\delta}{D} = \frac{J}{k_c} \tag{10.25}$$

donde $k_c = D/\delta$ es el coeficiente de transferencia de masa. Para el caso de un soluto que sea retenido totalmente, R = 1 y $C_p = 0$, y, por tanto, la solución anterior se reduce a:

$$J = k_c \ln \frac{C_w}{C} \tag{10.26}$$

que da el flujo local en función de la concentración C en el lado de alta presión. Es decir, el flujo es proporcional a un coeficiente de TM y el logaritmo de una relación de concentraciones. Según este modelo, se observa que el flujo es mayor cuando la concentración del soluto C es más pequeña. El valor C_w es un parámetro del modelo que representa la polarización en estado estacionario (v. fig. 10.6), que se define con el parámetro siguiente:

$$\beta = \frac{C_w}{C} = \frac{\text{Conc. membrana}}{\text{Conc. líquido}} \tag{10.27}$$

que se denomina *relación de polarización* (cociente máximo de concentraciones a un lado de la membrana).

Como R = 1, se produce un transporte convectivo de soluto hacia la membrana, pero esta actúa de barrera y, por tanto, la concentración del soluto cerca de la capa límite a este lado de la membrana produce una concentración de soluto aumentada, o sea, $C > C_w$. Este fenómeno se denomina *polarización*. Así pues, a la izquierda de la membrana hay un transporte por convección hacia la membrana y un transporte de difusión en sentido contrario, que frena el transporte efectivo del soluto.

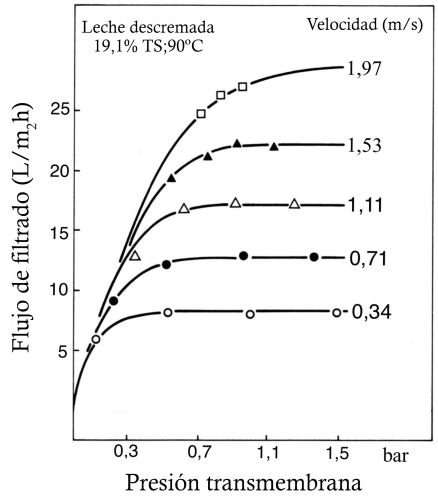


Fig. 10.7
Ultrafiltración de leche descremada (19,1% de sólidos, a 90°C). El flujo a cada velocidad primero depende linealmente de Δp, y después se extiende y se hace independiente de la presión. El flujo mayor se obtiene a más velocidad del fluido, por aumento de k_c con la velocidad

Las ecuaciones anteriores dan el flujo en función de Δp (v. ecuación 10.15) y dicen que, al principio, el flujo es directamente proporcional a Δp . Por tanto, una gráfica de J en función de Δp tiene que ser una recta que pasa por el origen, como se indica en la figura 10.7. Sin embargo, para fluidos que contienen células o proteínas, el flujo de permeación es lineal con Δp, pero enseguida se hace constante e independiente de la presión, y no aumenta más. Para concentraciones de proteína importantes, deja de cumplirse la ecuación de Hagen-Poiseuille y el flujo llega a una asíntota. Este comportamiento es debido

al rechazo de la proteína y a la polarización de la membrana que impide el flujo. Este efecto es originado por la formación de una capa de proteína gelificada que impone una resistencia adicional a la polarización (v. fig. 10.6). Si ahora aumentamos la velocidad del líquido paralelamente en la membrana y/o aumentamos la temperatura (que hace bajar la viscosidad), podremos recuperar el aumento de flujo. En la figura 10.7, se ve la zona en que el flujo es lineal con la presión y la zona en que el flujo se ve limitado por la transferencia de masa (zona asintótica), que no depende de Δp, pero sí de la velocidad lineal del fluido.

La hipótesis de la existencia de la capa de gel se ha verificado experimentalmente.

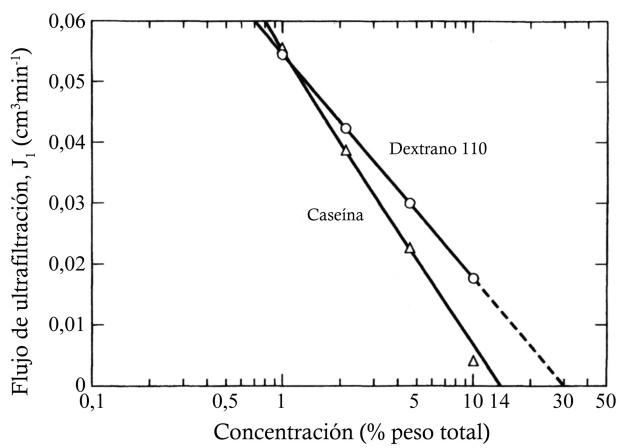
Considérese J en función de la concentración de soluto en el lado de alta presión de la membrana. La ecuación 10.26 sugiere que el flujo J en función de diferentes valores de ln C tiene que dar una recta de pendiente negativa, $-k_c$, que tiende *a ln* C_G al extrapolar la recta a flujo cero. Ello indica que el valor de C_G es el máximo valor a que puede operar la membrana. Esta prueba demuestra que la teoría de la gelificación es correcta. Los valores de la tabla 10.6 fueron obtenidos de esta manera por Cheryan (1998). El ejemplo 10.2 ilustra cómo se tratan los datos para hacer la extrapolación de la ecuación del modelo del gelificación (v. ec. 10.26). Los valores usuales de C_G están entre el 20 y el 30% en peso.

Tabla 10.6
Concentración de gelificación de proteínas determinada por UF

Soluto	Concentración de gel, C_G, % en peso
Leche	20-25 %
Suero ácido	30 %
Suero dulce	20-28 %
Gelatina	22-30 %
Clara de huevo	40 %
Extracto de soja sin grasa	20-25 %
Leche cruda (3,5 % de grasa)	9-11 %

Fuente: Cheryan (1998)

Fig. 10.8
Cálculo de la C_G por extrapolación en J = *0 vs*. log C, de caseína y dextrano para UF. Los valores del C_G están entre el 15 y el 30% en peso para muchos coloides. Adaptado de Harrison *et al.* (2003)

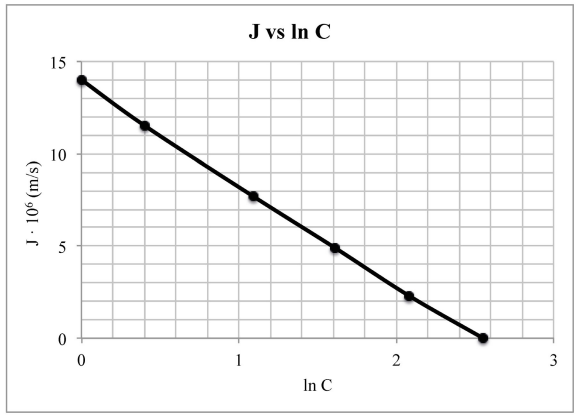


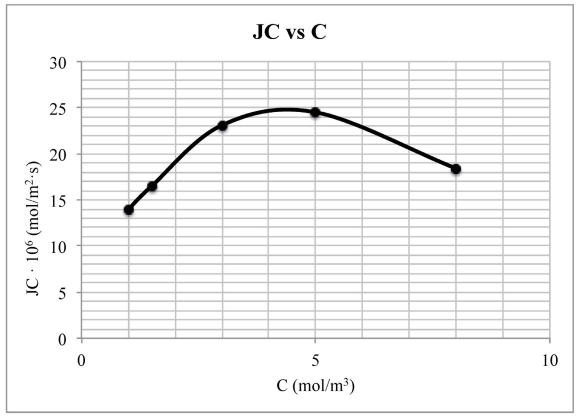
Ejemplo 10.2. Flujo en función de la concentración: concentración óptima

Una disolución de una enzima se concentra por ultrafiltración. El flujo a través de la membrana en función de la concentración de enzima a cada momento es el siguiente:

C, mol/m^3	1,0	1,5	3,0	5,0	8,0
Flujo J × 10^6, m/s	14	11,5	7,7	4,9	2,3

Suponiendo el modelo de gelificación cerca de la membrana, hacemos la representación siguiente:





Ejemplo 10.2
Gráficos: *a*) J *vs. ln C* y extrapolación de C_W y C_G, *b*) determinación aproximada del óptimo representante *JC vs. C*. La producción máxima está en C ~ 4,8 kg/m^3

Calcúlese:

a) El coeficiente de transferencia de masa.

b) La concentración C_G de esta enzima.

c) El valor máximo del flujo expresado en L/m^{2}h, y observa si está dentro de los valores normales.

d) La concentración óptima que hace la producción máxima y compárala con el óptimo dado por Coulson y Richardson (2002).

a) Según el modelo de gelificación, el flujo viene dado por la ecuación 10.26, donde C_w y k_c son los parámetros del modelo. Si reordenamos la ecuación 10.26, podemos escribirla como una recta:

$$J = k_c \ln C_w - k_c \ln C$$

que indica que, para parejas de puntos J *y* ln C, se obtiene una recta de pendiente -k_c y ordenada al origen, $J_{máx}$ correspondiente a ln C = 0. Calculamos las parejas de puntos y tendremos los flujos en función de ln C:

Flujo × 10^6, m/s	14	11,5	7,7	4,9	2,3
ln C	0	0,405	1,09	1,61	2,08

que se representan en la figura del ejemplo 10.2, que nos permite trazar la recta de regresión de pendiente negativa, -k_c, de donde $k_c = 5{,}27 \times 10^{-6}$ m/s. Extrapolando a J = 0 (eje de las abscisas), tenemos, por una parte, ln C_W = ln C_G = 2,55, es decir, C_G = 12,8 mol/m^3. Por tanto, el flujo expresado en unidades del SI sería:

$$J = 5{,}27 \times 10^{-6} \ln \frac{12{,}8}{C}$$

con J en m/s y C en mol/m^3.

b) El valor máximo de J vale 14×10^{-6} m/s y está en C = 1 mol/m^3, que, expresado en las unidades habituales, es:

$$J = 14 \times 10^{-6}\ m/s = 0{,}05\ m/h = 50{,}4\ L/m^2\ h$$

el cual que es un valor normal para la UF (v. tabla 10.2).

c) El flujo máximo corresponde a una C mínima. Por otra parte, el flujo se hace cero a una C máxima. Por tanto, tiene que haber un máximo del producto JC a una concentración intermedia. Este representa el valor máximo del flujo del componente que se transporta. Para ver qué representa JC, véase la parte izquierda de la figura 10.6. Así pues, representaremos JC *vs*. C y encontraremos el óptimo,

C_{enzima}, mol/m^3	1	1,5	3	5	8
J × 10^6, m/s	14	11,5	7,7	4,9	2,3
JC × 10^6 mol/m^{2}s	14	16,5	23,1	24,5	18,4

que se representa en la figura anterior (fig. ejercicio 10.2.2). Como se observa, el máximo corresponde a C = 4-5 mol/m^3, a falta de valores experimentales más próximos. Según Coulson i Richardson (2002), el valor óptimo vale $C_{opt} = C_G/e = 4{,}7$ mol/m^3, dentro del intervalo de valores encontrad con nuestra solución.

10.3.4 Coeficientes de transferencia de masa

Para el régimen laminar, no se dispone de otra referencia que el problema de Graetz-Nusselt, para régimen laminar en conductos circulares con disolución de soluto de la pared, que evidentemente no es el caso de la UF, pero tiene una geometría similar. Los trabajos clásicos establecen que

$$Sh = 1{,}62\left(\mathrm{Re}\,Sc\frac{d_h}{L}\right)^{1/3} \tag{10.28}$$

donde Sh, Re y Sc son los números de Sherwood, Reynolds y Schmidt, respectivamente, definidos como:

$$Sh = \frac{k_c d_h}{D_{12}} \qquad \mathrm{Re} = \frac{v d_h \rho}{\mu} \qquad Sc = \frac{\mu}{\rho D_{12}} \tag{10.29}$$

en que d_h es el diámetro hidráulico y v es la velocidad del fluido dentro del tubo. Así, tenemos, para el *régimen laminar*, Re < 2.000-4.000, encontramos:

$$k_C = 1{,}62\left(\frac{vD_{12}^2}{d_h L}\right) \tag{10.30}$$

Para el régimen laminar, autores más modernos (Van den Berg, *et al*. 1989) han estudiado el transporte de masa en conductos de ultrafiltración específicamente y corrigen los coeficientes de ósmosis inversa. Para el régimen laminar, hoy en día se aceptan las correlaciones de Graetz-Lévêque, similares a las ecuaciones (10.28) por los exponentes, con un coeficiente ligeramente diferente:

$$Sh = 1{,}86\,\mathrm{Re}^{0{,}33}\,Sc^{0{,}33}\left(d_h/L\right)^{0{,}33} \tag{10.31}$$

Para el *régimen turbulento*, Re > 2.000-4.000, con Sh dado por la correlación de Dittus-Boelter (McCabe, *et al*. 1993) u otros, $Sh = 0{,}023\ \mathrm{Re}^{0{,}8}\,\mathrm{Sc}^{0{,}33}$, de la cual se obtiene, para sistemas tubulares circulares:

$$k_c = 0{,}023\frac{v^{0{,}8}D_{12}^{0{,}67}}{d_h^{0{,}2}}\left(\frac{\rho}{\mu}\right)^{0{,}47} \tag{10.32}$$

y, para tubos de sección cuadrada, b = lado del tubo sustituye el diámetro hidráulico en la ecuación anterior. El ejemplo 10.3 ilustra cómo se aplican las correlaciones. Para las proteínas, los números de Sc son muy superiores a los de ósmosis inversa; entonces, caben dos opciones: 1 < Sc < 1.000 (Deissler) y Sc > 1.000 (Harriott-Hamilton), siendo las correlaciones, respectivamente:

$$Sh = 0{,}023\,\mathrm{Re}^{0{,}875}\,Sc^{0{,}33} \qquad Sh = 0{,}0096\,\mathrm{Re}^{0{,}91}\,Sc^{0{,}35} \tag{10.33}$$

Ejemplo 10.3. Coeficientes de transporte de masa de correlaciones

La concentración del líquido es de 1,2 % de sólidos y la de gelificación del polímero, de 2,5 % en peso. La densidad del líquido es de 1.000 kg/m^3; la viscosidad, de 1,5 mPa·s, y la difusividad del soluto es de $5{,}6\times10^{-11}$ m^2/s. Queremos estimar el coeficiente de transferencia de masa para una instalación de membranas tubulares. La velocidad transversal del fluido es de 2,0 m/s. Los módulos son de haz de tubos de membrana de 2,4 cm de diámetro interior y 2 m de longitud. *a*) Calcúlense el coeficiente k_c que podemos tener para correlaciones con Sc > 1.000 y el flujo de solvente que tendremos. *b*) Compárese el valor obtenido con correlaciones específicas para tubos circulares. *c*) Compárense los resultados con la regla empírica de Ottens *et al*. (2011), que sugiere que k_c/v vale 10^{-5}.

Los datos del problema son $C_G = 25$ kg/m^3, $\rho = 10^3$ kg/m^3, $\mu = 1{,}5$ mPa·s, $C = 12$ kg/m^3, $D_{12} = 5{,}6 \times 10^{-11}$ m^2/s. Veamos primero si el régimen es turbulento:

$$\mathrm{Re} = \frac{v d_h \rho}{\mu} = \frac{2\left(2{,}4\times10^{-2}\right)10^3}{1{,}5\times10^{-3}} = 32.000 \text{ (turbulento)}$$

Para saber qué correlación aplicar, calculamos Sc:

$$Sc = \frac{\mu}{\rho D} = \frac{1{,}5\times10^3}{10^3 5{,}6\times10^{-11}} = 26.780 > 1.000$$

Para Sc muy grande, aplicamos la correlación de Harriott-Hamilton:

$$Sh = \frac{k_c d_h}{D_{12}} = 0{,}0096\,\mathrm{Re}^{0{,}91}\,Sc^{0{,}35}$$

$$Sh = \frac{k_c d_n}{D_{12}} = 0{,}0096\times\left(32\times10^3\right)^{0{,}91}(26.780)^{0{,}35} = 4.282$$

Así pues, despejando $k_c = 9{,}99\times10^{-6}$ m/s $\sim10^{-5}$ m/s.

b) Veamos cuánto vale k_c/v:

$$\frac{k_c}{v} = \frac{10^{-5}}{2} = 0{,}5\times10^{-5}$$

que se aproxima al valor recomendado por estos autores (Ottens *et al*., 2011).

c) El valor de J, con el valor calculado de k_c, valdrá:

$$J = 10^{-5}\ln\frac{25}{12} = 0{,}73\times10^{-5}\ m/s = 26{,}2\ L/m^2\ h$$

Para los valores de las correlaciones en tubos (v. ec. 10.32), k_c da, para el régimen turbulento:

$$k_c = 0{,}023\frac{v^{0{,}8}D_{12}^{0{,}67}}{d_h^{0{,}2}}\left(\frac{\rho}{\mu}\right)^{0{,}47}$$

$$k_c = 0,023\frac{2^{0,8}\left(5,6\times10^{-11}\right)^{0,67}}{\left(2,4\times10^{-2}\right)^{0,2}}\left(\frac{10^3}{1,5\times10^{-3}}\right)^{0,47} = 0,66\times10^{-5}\ m/s = 16,3\ L/m^2\ h$$

que representa un flujo un 40 % inferior al anterior. Ello demuestra que no podemos confiar mucho en los valores calculados mediante correlaciones. Por tanto, es necesario experimentar en la planta piloto.

Ejemplo 10.4. Ultrafiltración del suero de queso: predicción del flujo *vs.* Δp

Queremos predecir el flujo de la UF para cada Δp, para una disolución de proteínas que tiene una cierta influencia de la presión osmótica. Tenemos una membrana tubular (diámetro interior, d_h= 2 cm), para la cual el flujo viene dado por el coeficiente de permeabilidad de la membrana (*vid. infra* valor de L_m). Las proteínas del suero tienen una difusividad de 4×10^{-11} m^2/s. La presión osmótica viene dada por la ecuación 10.9 del texto, donde C es la concentración sobre la membrana C_w, en kg/m^3. Calcúlese la curva de flujo *vs.* Δp para una concentración de proteína de 10 kg/m^3. Supóngase una concentración de gelificación del 40 % de peso y que, para las proteínas del suero, el coeficiente de rechazo sea del 100 %. Empléese la teoría de polarización de la membrana y la ecuación de Hagen-Poiseuille para la membrana limpia, con L_m = 250 L/(m h^2 bar). Tómese una velocidad de circulación del fluido de 1,5 m/s, con la densidad y la viscosidad del agua. En estas condiciones, Re es turbulento y Sh vale 4.000.

Las ecuaciones del flujo que necesitamos son la ecuación 10.9, que da Π (C_W); la ecuación (10.21), en términos de Lm, y la ecuación (10.26). Por esta, necesitamos evaluar k_c, que encontraremos a partir de la definición del número de Sh cuyo valor conocemos (Sh = 4.000):

1) Determinaremos k_c a partir de Sh:

$$k_c = \frac{ShD_{12}}{d_h} = \frac{4.000\times4\times10^{-11}}{0,02} = 0,8\times10^{-5}\ m/s$$

2) Tomamos ahora un valor de J cualquiera entre 10 y 100 L/m^2h, por ejemplo J = 36 L/m^2h, del cual queremos encontrar la Δp. Para este valor, el flujo valdrá:

$$J = 36\times10^{-3}\ /\ 3.600 = 10^{-5}\ m/s$$

3) Calculamos el parámetro C_w de la ecuación integrada del modelo de gelificación:

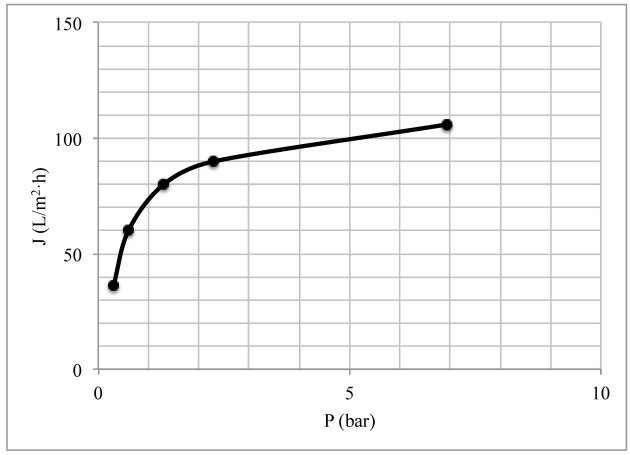
$$k_c \ln\frac{C_w}{C} = 10^{-5} \qquad \ln\frac{C_w}{C} = \frac{10^{-5}}{0,8\times10^{-5}} = 1,25$$

de donde, para C = 10 kg/m^3, C_w valdrá ~36 kg/m^3.

4) Con este valor de la concentración de polarización, podemos calcular la presión osmótica correspondiente a C_w:

$$\Pi = 4,4\times10-3\times36-1,7\times10-6\times36^2+7,9\times10-8\times36^3 = 0,162bar$$

Ejemplo 10.4
Ultrafiltración de suero de queso. Flujo *vs*. Δp. El modelo tiene en cuenta la permeabilidad, el modelo de gelificación y la presión osmótica. Véase en el texto la secuencia de cálculos



Tomando ΔΠ =Π, tendremos:

$$L_m = 250\, L/m^2\, hbar = 6{,}94\times10^{-5}\, m^3/m^2 sbar$$

que, junto con la ecuación del flujo:

$$J = L_m\left(\Delta p - \Pi\right)$$

y la L_m de diseño, permite calcular ahora Δp, es decir:

$$\Delta p - \Pi = \frac{J}{L_m} = \frac{10^{-5}}{6{,}94\times10^{-5}} = 0{,}144 bar$$
$$\Delta p = 0{,}144 + 0{,}162 = 0{,}306 bar$$

Repitiendo los cálculos para otros valores de J, tenemos la tabla siguiente, en que C = 10 kg/m^3.

C_w, kg/m^3	J, L/m^{2}h	ΔΠ, bar	Δp, bar
36	36	0,162	0,306
159	60	0,60	
	80	0,95	1,30
226	90	1,84	2,30
400	106		6,95

Representando gráficamente el flujo *vs*. la caída de presión, Δp, se obtiene la figura del ejemplo 10.4. La tabla anterior indica que hay una presión osmótica apreciable y que a partir de una Δp superior a 6-7 bar, el flujo no aumenta mucho más. Entonces, habría que aumentar k_c disminuyendo la viscosidad del fluido, aumentando la temperatura, aumentando la velocidad, etc., con el fin de mejorar el coeficiente de TM.

10.4 Microfiltración

La microfiltración (MF) es el proceso más antiguo de separación por membrana. Se utilizaba décadas antes que la ósmosis inversa. Originariamente, sin embargo, se hacía perpendicularmente al medio. Actualmente, es un proceso de filtración tangencial. Se aplica a partículas de entre 0,02 μm y 10 μm de tamaño en los siguientes sectores:

- Alimentación y bebidas,
- Cultivo de células y residuos celulares,
- Tratamiento de agua residual (polímeros en emulsión y dispersiones).

En biotecnología, se aplica a la recuperación de cultivos celulares concentrándolos hasta el 10 % en peso (a veces, hasta el 60-70 %, si las partículas son rígidas). La recuperación es próxima al 100 % y, por tanto, a veces el filtrado es completamente transparente. Los procesos alternativos son la centrifugación y la filtración convencional. Una ventaja de la MF es que se puede hacer en condiciones estériles.

Los flujos iniciales son muy elevados (de 150 a 600 L/m^2h) a una presión modesta Δp = 0,5-1 bar. Un inconveniente es la deposición de partículas, que hay que eliminar de vez en cuando durante una operación. Para ello, se utiliza el enjuagado a contrapresión con el mismo filtrado (v. fig. 10.9).

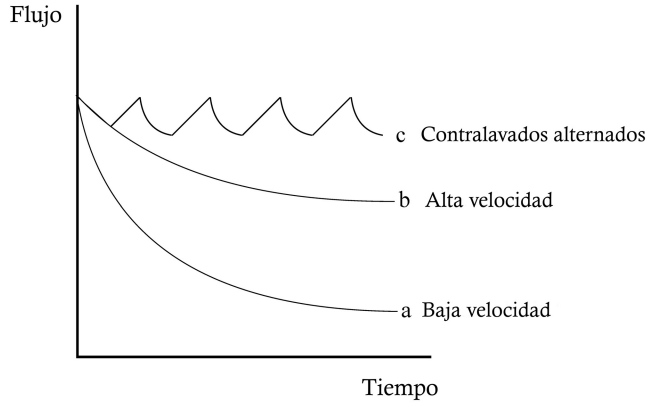


Fig. 10.9
Operación de una unidad de microfiltración sometida a ensuciamiento de la membrana: *a*) a baja velocidad tangencial, *b*) a alta velocidad tangencial y *c*) con contralavado con filtrado

10.4.1 Flujo de permeación en MF

El flujo de permeación de MF con la membrana limpia se puede analizar con la teoría de la filtración, sin tener en cuenta la presión osmótica, ya que estamos filtrando partículas insolubles. El flujo puede calcularse teniendo en cuenta dos resistencias. Véase la ecuación 10.15, donde R_m es la resistencia de la propia membrana, m^{-1}; R_c, la resistencia de la torta, m^{-1}; μ, la viscosidad del filtrado, y Δp, la caída de presión a través de la membrana.

La R_m se determina filtrando agua pura a la misma caída de presión y determinando el flujo. Así, podemos obtener R_m aplicando la ecuación 10.10 a este caso.

La resistencia de la torta se determina mediante dos ecuaciones. La primera es la ecuación de Ergun en régimen laminar para esferas iguales (v. cap. 8):

$$-\frac{\Delta p}{L} = 150\frac{(1-\varepsilon)^2}{\varepsilon^3}\frac{\mu u}{d_p^2} \tag{10.34a}$$

$$-\Delta p = 150\frac{(1-\varepsilon)}{\varepsilon^3}\frac{\mu J}{d_p^2}\frac{V_p}{A} \tag{10.34b}$$

Obsérvese que la velocidad superficial es igual, en realidad, al flujo de filtración, J, y d_p es el tamaño de la partícula. La segunda ecuación que utilizamos es la del volumen de partículas en la torta, que nos indica que la masa de partículas en ella equivale a la masa de partículas capturadas de un volumen de filtrado V_f, es decir:

$$m_p = V_f X_\rho = AL(1-\varepsilon)\rho_p \tag{10.35}$$

donde X_p es la fracción de partículas en el caldo a filtrar y AL es el volumen de la torta. En la ecuación anterior, suponemos que las densidades del caldo y de las partículas son iguales. Sustituyendo L de la ecuación 10.35 en la ecuación 10.34, con la hipótesis de densidades iguales, obtenemos la expresión siguiente de Δp:

$$-\Delta p = 150\frac{(1-\varepsilon)}{\varepsilon^3}\frac{\mu J}{d_p^2}\frac{V_p}{A} \tag{10.36}$$

de donde podemos despejar J y hallar la resistencia de la torta en función de su volumen. Definimos la resistencia específica de la torta como:

$$\mathbf{r} = 150\frac{1-\varepsilon}{\varepsilon^3 d_p^2}\frac{\rho}{\rho_p} \tag{10.37}$$

Entonces, con esta definición de **r**, el flujo J valdrá:

$$J = \frac{\Delta p}{\mathbf{r}\mu V_p / A} \tag{10.38}$$

en que la resistencia total de la torta se puede escribir como:

$$R_c = \mathbf{r}\frac{V_p}{A} = \mathbf{r}\lambda \tag{10.39}$$

Así pues, tenemos las resistencias R_{am} y R_{CP} para poder calcular el flujo en función del espesor de la torta, que vale: $\lambda = V_p/A$.

A continuación, veamos el ejemplo debido a Ghosh (2006), que pone de manifiesto la importancia de cada resistencia.

Ejemplo 10.5. Microfiltración tangencial, estimación de las resistencias

Queremos recuperar células libres de E. *coli* recombinantes, que tienen un tamaño de 1 μm, utilizando una membrana de 100 cm^2. Durante la filtración tangencial, la capa estacionaria sobre la membrana se estima que tiene un espesor de 10 μm y una fracción vacía de 0,4. A fin de determinar el flujo en operación, se hace una prueba con agua pura para calcular la resistencia de la membrana, R_m, midiendo J_{H2O} con una Δp de 0,5 bar, y el flujo obtenido vale 10^{-4} m/s.

Calcúlese la resistencia de la torta (que se sumaría a la de la membrana) y el flujo de microfiltración que se obtendrá en este filtro de 100 cm^2 utilizando la suspensión de células.

Nota: Para agua pura, la viscosidad es de 1,0 mPa·s y, para el filtrado, de 2,0 mPa·s. En todos los casos, Δp = 0,5 bar. La densidad de los microorganismos se puede suponer igual a la del agua.

a) Calculemos la R_m a partir de la MF de agua pura (v. ec. 10.38). En unidades SI, tendremos:

$$J_{H_2O} = \frac{\Delta p}{R_m \mu} = \frac{50.000}{10^{-3} R_m} = 10^{-4}$$

de donde se obtiene $R_m = 5\times10^{11}\ m^{-1}$

b) Calculemos ahora la resistencia de la torta para A= 100 cm^2, λ = 10 μm y ε = 0,4, d_p = 1 μm, con densidades iguales (v. ec. 10.37), resulta:

$$\mathbf{r} = \frac{150(1-\varepsilon)}{d_p^2 \varepsilon^3}\frac{\rho}{\rho_p} = \frac{150}{(10^{-6})^2}\frac{1-0,4}{0,4^3} = 1,406\times10^{15}\, m^{-2}$$

Para un espesor de la torta de 10 μm, tendremos:

$$R_c = 1,406\times10^{15}\times10\times10^{-6} = 1,406\times10^{10}\, m^{-1}$$

El flujo que tendremos para una viscosidad de 2,0 mPa·s valdrá:

$$J = \frac{50.000}{(1,406\times10^{10} + 5\times10^{11})\,2\times10^{-3}} = 4,86\times10^{-5}\, m/s$$

que, en unidades habituales, equivale a 175 L/m^2h, bastante superior a los flujos de ultrafiltración (v. tabla 10.1).

10.5 Operaciones y procesos de filtración tangencial en biotecnología

Hay tres operaciones habituales en biotecnología, que son:

- Concentración del zumo que contiene la molécula o partícula de interés. Se hace en discontinuo, con recirculación de la corriente de rechazo al tanque de mezcla. La UF opera en condiciones no estacionarias.

- Concentración en operación continua en una etapa única o multietapa. Opera en estado estacionario.

- Diafiltración (DF) en semicontinuo, con el fin de eliminar las sales de un zumo o cambiarlas por agua pura, o cambiar de tampón. La DF opera en condiciones no estacionarias.

A continuación, estudiamos estos tres casos.

10.5.1 Proceso de concentración: operación por cargas con recirculación

Consideraremos que el flujo de filtración viene dado por el modelo de gelificación o bien por una ecuación basada en la presión osmótica, si esta es muy importante.

Nos referimos a la figura 10.10, en que se muestra la recirculación de concentrado al tanque y al flujo de filtrado a través de la membrana, con una disminución de volumen de la solución y la consiguiente concentración de soluto. Supondremos que la membrana tiene un área A (m^2). Las condiciones iniciales son V (t = 0) = V_0 y C (t = 0) = C_0. En t = t, serán V(t) y C(t), ambos función de t. En el filtrado, tendremos una concentración, C_p= C_0(1-R). Suponemos que el tanque de alimentación está bien mezclado y que la retención de líquido en la membrana es despreciable.

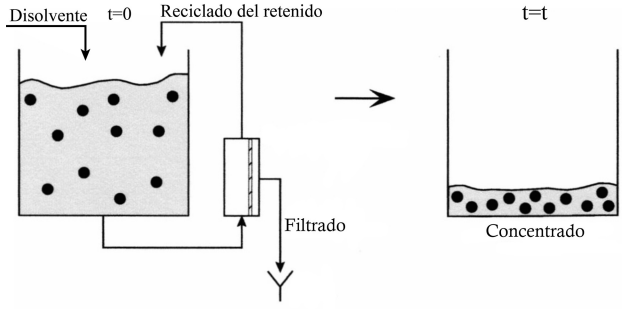


Fig. 10.10 Diafiltración (DF) con reposición de fluido en el tanque. Se puede adicionar un tampón o agua. Las macromoléculas y/o células quedan retenidas en el tanque

Recordemos que los valores de f y de η están definidos como:

$$f = \frac{V_0}{V} \qquad \eta = \frac{CV}{C_0 V_0} \tag{10.40}$$

luego, serán variables con t durante la operación. En la práctica, sin embargo, interesan los valores finales, que determinan las prestaciones del proceso.

Ecuación de conservación del líquido total. El volumen líquido total disminuye en el tanque como consecuencia de la salida de filtrado en la membrana. Así pues, la ecuación de conservación de solvente es:

$$\frac{dV}{dt} = -AJ \tag{10.41}$$

donde el flujo J viene dado por el modelo de gelificación como:

$$J = k_c \ln \frac{C_G}{C} \tag{10.42}$$

en que C es la concentración de trabajo de la membrana igual a la concentración de soluto que reina en el tanque a t = t. Por tanto, J es función de C.

Ecuación de conservación del soluto. Como, en general, hay una concentración de soluto C_p, en la corriente de filtrado, el balance de soluto será:

$$\frac{d(VC)}{dt} = -JAC_p \tag{10.43}$$

que indica que la disminución total de soluto es debida a la salida de filtrado. C_p se puede expresar en función de R como C_p= C (1-R). La derivada de VC con respecto a t es debida a dos conceptos: al cambio de flujo del soluto y al cambio de volumen debido a la salida de solvente. Por tanto, se tendrá que diferenciar en la ecuación 10.43 como un producto. Así pues, quedará:

$$V\frac{dC}{dt} + C\frac{dV}{dt} = -JAC(1-R) \tag{10.44}$$

La derivada dV/dt vale -AJ. Insertando este valor en el miembro de la izquierda de la ecuación 10.44 y despejando dC/dt, esta queda como:

$$\frac{dC}{dt} = \frac{AJCR}{V} \tag{10.45}$$

en que C y V dependen de t, C(t) y V(t), y el flujo J también depende de t, a través de C; por tanto, la ec (10.45) no admite integración analítica. Veamos cómo implementamos una solución numérica. Hay diversas maneras de hacerlo. Pero Doran (2012) ha resuelto numéricamente el sistema de las dos ecuaciones diferenciales no lineales de primer orden (ec. 10.41 y 10.45), junto con la ecuación explícita (ec. 10.45), que da J(C), evaluada a cada paso de integración. Las condiciones iniciales son C = C_0 y V = V_0 para t = 0. La representación del gráfico obtenida por Doran se ilustra en la figura 10.11. Las variables representadas son la función V/V_0 (= 1/f), como ordenada, y el tiempo adimensional, Ak_ct/V_0, como abscisa, y con C_G/C_0 como único parámetro inicial para una proteína dada. Véase el problema siguiente para la aplicación del gràfico de la Fig 10.11.

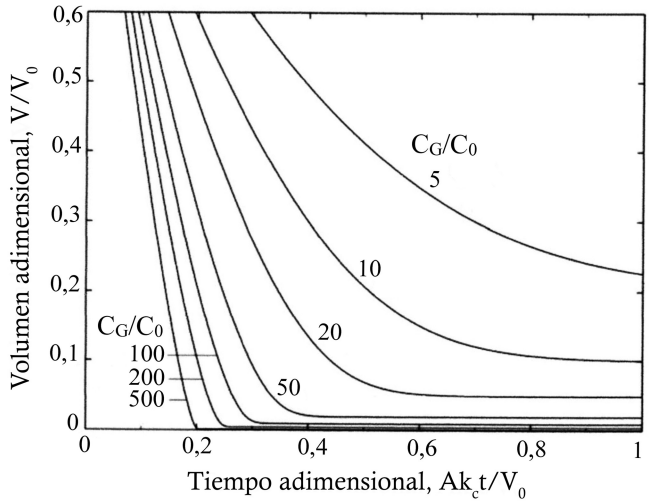


Fig. 10.11 Diagrama para calcular una operación de concentración por cargas. V_0 y V son los volúmenes iniciales y finales en el tanque. C_G/C_0 son las concentraciones de gelificación de la proteína e inicial, respectivamente. El tiempo adimensional es Ak_ct/V_0. Fuente: adaptado de Doran (2012)

Ejemplo 10.6. Comparación de un proceso de concentración discontinuo con un proceso continuo

Un volumen de cerveza de 10 m^3 contiene una concentración de una enzima de 0,6 kg/m^3, que queremos concentrar por ultrafiltración con un coeficiente f = 5, hasta C = 3,0 kg/m^3. Para la proteína de interés, la concentración de gelificación vale 25 kg/m^3. El proceso se lleva a cabo en un módulo de UF enrollado en espiral (v. apartado 10.6), para el cual se estima que $k_c = 0,4 \times 10^{-5}$ m/s. La proteína tiene un rechazo del 100 %. No hay ensuciamiento.

a) Utilizando una operación en discontinuo con recirculación, calcúlese la superficie de membrana necesaria alimentando 10 m^3 en una hora.

b) ¿Si llevamos el proceso en continuo en una unidad que trabaje en estado estacionario, al mismo caudal (10 m^3/h), ¿qué superficie de UF necesitaríamos?

a) El proceso de concentración sería el de la figura 10.9. Los parámetros necesarios para el gráfico de la figura 10.10 son:

$$\frac{C_G}{C_0} = \frac{25}{0,6} = 42 \qquad \frac{V}{V_0} = \frac{0,6}{3,0} = 0,2$$

Las lecturas de las abscisas para $C_G/C0 = 50$ y 20 dan unos tiempos adimensionales de 0,25 y 0,37, respectivamente. Interpolando entre estos valores, para $C_G/C_0 = 42$, de modo que el tiempo adimensional valdrá $\frac{Ak_ct}{V_0} = 0,27$, de donde el área para una hora de trabajo será:

$$A = \frac{0,27 \times 10}{0,4 \times 10^{-5} \times 3.600} = 187 m^2$$

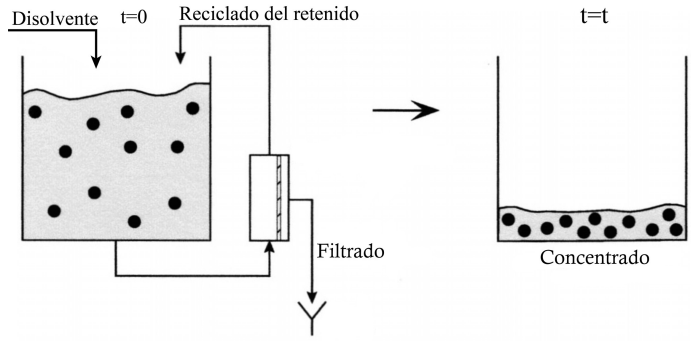


Fig. 10.12
Proceso de concentración de una carga de zumo que contiene macromoléculas

b) Si queremos operar en continuo, utilizaremos el diagrama de flujo de la figura 10.12. Consideremos solo el primer filtro. Las ecuaciones que tendremos serán:

$$C_p = 0 \qquad F_1/F_0 = 0,2$$

$$F_p = F_0 - F_1 = JA$$

$$J = 0,4\times10^{-5} \ln\frac{25}{3,0} = 0,8\times10^{-5}\ m/s$$

y, por tanto, el área ha de ser A = 280 m^2, bastante mayor que en discontinuo. El ejemplo 10.7 que se da más adelante demuestra que esta área se puede reducir sensiblemente empleando dos o más unidades continuas en serie.

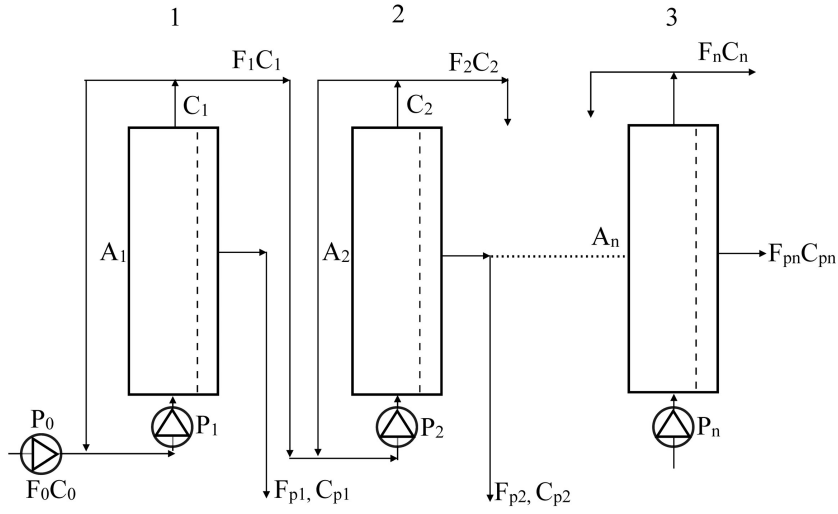


Fig. 10.12
Filtración en continuo en estado estacionario, con n filtros en serie, de áreas A_1, A_2... A_n

P_0 bomba de alimentación
$P_1, P_2 ... P_n$ bombas de recirculación

10.5.2 Operación de concentración: proceso por cargas (con recirculación). Caso de polarización β = 1

Consideremos el caso con recirculación de la figura 10.10 anterior y que tenemos una membrana de superficie A. Supongamos ahora que la polarización es pequeña, es decir, que en cualquier instante se verifica Cw ≈ C. Entonces, el modelo de gelificación no permite aplicar la ecuación 10.26. Alternativamente, podemos aplicar la ecuación general, en que el flujo J viene dado por:

$$J = L_m\left(\Delta p - \Delta\Pi\right) \tag{10.46}$$

En nuestro problema para t = 0, V = V_0. Queremos calcular el tiempo de operación cuando la presión de trabajo está fijada, Δp = constante, pero admitiendo que la presión osmótica varía con el tiempo al variar V. Planteemos el balance de volumen total. Utilizando el flujo anterior y expresando la presión osmótica (ec. de Van 't Hoff) en función del volumen, tendremos:

$$\frac{dV}{dt} = -AJ = -AL_m\Delta p\left(1 - \frac{R_g Tn}{V\Delta p}\right) \tag{10.47}$$

donde n = CV = constante, masa de soluto en el volumen V a concentración C. Separando variables en la ecuación 10.47, e integrando, tendremos:

$$\int_{V_0}^{V} \frac{VdV}{V - \dfrac{R_g Tn}{\Delta p}} = -AL_m\Delta p\int_0^t dt \tag{10.48}$$

que admite integración analítica. Resolviendo, el tiempo de operación obtenido vale:

$$t = \frac{1}{AL_m\Delta p}\left(V_0 - V + a\ln\frac{V_0 - a}{V - a}\right) \tag{10.49}$$

donde:

$$a = \frac{R_g Tn}{\Delta p} \tag{10.50}$$

10.5.3 Proceso de concentración en continuo: una etapa o varias etapas en serie

Cuando necesitemos concentrar grandes volúmenes, utilizaremos una disposición de aparatos en continuo operando en estado estacionario, como se muestra en la figura 10.12. Consideremos la operación de la primera unidad de la serie con reciclado externo (v. fig. 10.12). Este tipo de operación se denomina en inglés *feed-and-bleed* ("alimentación y purga"). Este reciclado efectuado por la bomba P_1, provoca una alta velocidad del fluido que circula paralelamente a la superficie de la membrana y, por tanto, un elevado coeficiente de transporte de masa k_c. La velocidad en la UF es de 1 a 5 m/s y el valor de k_c, del orden de 10^{-5} m/s.

Operemos con una unidad en estado estacionario. Podemos establecer las ecuaciones básicas para este caso suponiendo que la membrana trabaja en flujo bien mezclado.

En el supuesto de que las densidades de las corrientes son iguales, consideremos el primer filtro de la figura 10.12. Los símbolos tienen subíndice 1. Las ecuaciones de conservación de volumen total y de componente (soluto) son, respectivamente:

$$F_0 = F_1 + F_{p_1}$$
$$F_0 C_0 = F_1 C_1 + F_{p_1} C_{p_1} \qquad (10.51, 10.52)$$

donde F_0 y C_0 son el caudal de alimentación y la concentración de soluto; F_1 es el caudal y C_1 es la concentración del concentrado, y F_{p1} y C_{p1} son el caudal y la concentración del filtrado, respectivamente. Gracias al gran caudal de reciclado provocado por la bomba de recirculación a través del módulo, las condiciones de la membrana serán de flujo bien mezclado. Así pues, en toda el área prevalecerá una sola velocidad de filtración. La ecuación que nos da el flujo de filtrado en la membrana será:

$$F_{p_1} = JA_1 \qquad (10.53)$$

en que el flujo de filtración vale:

$$J = k_c \ln \frac{C_G}{C_1} \qquad (10.54)$$

En estado estacionario y para flujo de mezcla perfecta, los valores de J y F_p permanecen constantes.

Como las condiciones de operación hacen que la membrana opere a la concentración de salida, C_1, ya se ve que, comparando el sistema continuo con el sistema por cargas, con un mismo valor final C_1, la producción de un sistema continuo con un elemento con recirculación será menor que la de uno discontinuo. Para alcanzar la producción del discontinuo, tendremos que instalar más unidades en serie (v. fig. 10.12). En el ejemplo 10.7, se muestra cómo se calculan una o varias unidades en serie, y el valor del área de filtración en cada caso.

Ejemplo 10.7. Ultrafiltración en continuo: una unidad o varias unidades en serie

Una planta de ultrafiltración ha de tratar 50 m^3 cada día de una solución de proteína que trabajará durante 20 h/día a un caudal de 2,5 m^3/h. La disolución que se tiene que tratar contiene 0,5 kg/m^3 de proteína, que se debe concentrar hasta 20 kg/m^3 y permitir reciclar a la corriente principal del proceso. Estudios preliminares en la planta piloto indican que el flujo sobre la membrana está bien descrito por el modelo de gelificación, con una ecuación de flujo como:

$$J = 0,02 \ln \frac{30}{C}$$

en que J es el flujo, en m/h, y C es la concentración de trabajo del módulo, en kg/m^3. Para evitar el ensuciamiento de la membrana, el flujo no deberá exceder los 0,04 m/h.

a) Estudiése la posibilidad de utilizar una sola unidad de UF con alimentación y purga continuas.

b) Estudiése la posibilidad de reducir los requisitos de área utilizando dos etapas en serie, con alimentación y purga (v. fig. 10.12).

Notas: Considérese flujo bien mezclado en los módulos. Los módulos de UF son de tipo espiral y están disponibles con un área de 30 m^2/módulo. Considérese la disposición de unidades en serie como en la figura 10.12. Los módulos comerciales se describen en el apartado 10.6.

a) Consideremos la primera etapa de la figura 10.12. Tendremos los valores siguientes:

$$F_0 = 2,5\, m^3/h \qquad C_0 = 0,5\, kg/m^3 \qquad C_1 = 20\, kg/m^3$$

Como el flujo máximo tiene que ser 0,04 m/h, la concentración mínima, C_{min}, de un filtro deberá cumplir:

$$0,04 = 0,02 \ln \frac{30}{C_{\min}}$$

de donde C_{min}= 4,06 kg/m^3. Para el primer filtro, no hay ningún problema, ya que opera con C_1 = 20 kg/m^3. Veamos cómo trabaja el primer filtro:

$$JA = F_p = F_0 - F_1 = 2,50 \times (1 - F_1/F_0) = 2,437\, m^3/h$$

así que ya podemos calcular su área A como:

$$A = \frac{F_p}{J} = \frac{2,437}{0,02 \ln \frac{30}{20}} \approx 300 m^2$$

Así pues, utilizaremos una unidad formada por 10 módulos espirales de 30 m^2 cada uno, conectados convenientemente, dando en conjunto 300 m^2

b) Ahora calculemos las dos unidades en serie de la figura 10.12. La segunda unidad trabaja a una concentración C_2 = 20 kg/m^3. Para la primera unidad, sin embargo, nos queda la duda de qué concentración C_1 se deberá utilizar. El modelo de gelificación indica que, cuanto más pequeña sea C_1, mayor será el flujo. Sin embargo, como hemos visto, la concentración mínima permitida debe ser C_{min} = 4 kg/m^3 para asegurar que el flujo no sea superior a 0,04 m/h. Así pues, escogeremos un valor próximo a C_{min}, que minimice el área, por ejemplo, cerca del mínimo. Tomemos, C_1 = 4,5 kg/m^3.

Ecuaciones que tenemos:

1) Conservación de soluto:

$$F_0 C_0 = F_1 C_1 = F_2 C_2$$

2) Conservación de caudales:

$$F_0 = F_1 + F_{p_1}$$
$$F_1 = F_2 + F_{p_2}$$

Resolviendo estas ecuaciones, obtenemos los caudales siguientes, en m^3/h:

$$F_0 = 2,5 \qquad F_2 = 0,062 \qquad F_1 = 1,24/C_1$$

Sustituyendo los flujos en las ecuaciones anteriores, tenemos el sistema siguiente de ecuaciones para los dos filtros en serie:

$$F_0 = 2,5 = \frac{1,24}{C_1} + A_1 \times 0,02 \ln \frac{30}{C_1}$$

$$F_1 = \frac{1,24}{C_1} = 0,062 + A_2 \times 0,02 \ln \frac{30}{20}$$

que es un sistema de dos ecuaciones y tres incógnitas, que tiene solución de A_1 y A_2 para cada valor escogido de C_1. Se debería optimizar C_1, minimizando las áreas. Ya sabemos que el óptimo de C_1 para que A_1+A_2 sea mínimo debe estar cerca de C_1, o sea, alrededor de 4-5 kg/m^3, concentración a la cual el flujo de la primera unidad es máximo. Por tanto, tomamos como valor óptimo de $C_1 \sim 4,5$ kg/m^3. Con este valor, las áreas obtenidas son A_1= 59 m^2 y A_2 = 27 m^2, de donde $A_1 + A_2$ = 86 m^2.

En resumen, para dos unidades en serie, una solución apropiada consistirá en tomar dos módulos en espiral, de 30 m^2 cada uno (A_1= 60 m^2), conectados en serie, seguidos por una segunda etapa de un solo módulo, de 30 m^2 (A_2 = 30 m^2). En total, pues, 90 m^2, bastante menos que en el caso *a*.

10.5.4 Proceso de diafiltración (DF): operaciones de lavado o de cambio de tampón

Esta operación es de las más importantes en la separación o purificación de macromoléculas. En la diafiltración, utilizamos la misma instalación de UF para sustituir el medio disolvente de las proteínas por agua pura o bien por un tampón conveniente para operaciones posteriores. La instalación a emplear es la de la figura 10.11. Vamos extrayendo el solvente inicial por la membrana, a un caudal F_p, y alimentamos agua en el tanque de mezcla a un caudal igual, o sea, $F_0 = F_p$; así se mantiene constante el volumen del tanque ($V = V_0$), de modo que la concentración del componente irá disminuyendo en el tanque. Para todos los componentes de bajo PM, R vale R= 0; para los componentes de alto PM, R valdrá R = 1; por tanto, quedan retenidos en el tanque.

Queremos calcular el perfil C(t) para un componente de interés, por ejemplo $(NH_4)_2SO_4$, u otra sal o tampón, que queremos eliminar del tanque manteniendo el volumen de líquido en este. Durante el proceso, F_p será constante e igual al caudal de alimentación en el tanque. Las condiciones iniciales son $V(t = 0) = V_0$ = constante, y $C(t=0) = C_0$. Sea R el rechazo de un componente; por tanto, $C_p = C(1-R)$. El balance de sal en t = t será:

$$V_0 \frac{dC}{dt} = -F_p C_p = -F_p C(1-R) \qquad (10.55)$$

que se puede integrar directamente entre 0 y t, y entre C_0 y C. La concentración de la sal en el tanque a t = t valdrá, pues:

$$C = C_0 \exp\left[-\frac{F_p t}{V_0}(1-R) \right] \qquad (10.56)$$

donde $F_p t = V_w$ será el volumen total de agua o de tampón alimentado hasta t = t. La ecuación 10.56 indica que el proceso de eliminación de la sal es exponencial. Si hay diversos componentes en el tanque, cada uno cumple una ecuación como la 10.56, con el valor de R de cada uno. En general, para las sales, $R_{sales} \sim 0,05$, y, para las macromoléculas, R_{macro} = 0,95-1,0.

Ejemplo 10.8. Diafiltración

Una instalación de ultrafiltración, que tiene una membrana que a la presión de trabajo produce un flujo de 36 L/m^{2}h, se va a utilizar para lavar $(NH_4)_2SO_4$, que está a una concentración $C_0 = 2$ kg/m^3. El tanque de alimentación tiene un volumen de 0,1 m^3 y una superficie de membrana de A = 1 m^2. La solución contiene una proteína que queremos retener durante el proceso de lavado. Se lava con agua de proceso, de modo que se mantenga el volumen del tanque a un nivel constante, adicionando agua hasta que la concentración de sal sea C = 0,2 kg/m^3.

a) Calcúlese el tiempo necesario para lavar el 90 % de la sal por diafiltración.

b) Calcúlese el porcentaje de proteína perdida durante este tiempo.

Nota: La operación corresponde al diagrama de la figura 10.11. La sal pasa libremente por la membrana, pero la proteína tiene una retención del 98 %.

a) El balance de sal conduce a la ecuación 10.56 para la sal, que con R = 0, $F_0 = F_p = JA$ = 36 L/h = 10^{-5} m^3/s, dará:

$$\frac{C}{C_0} = \exp\left(-\frac{F_0 t}{V_0}(1-0)\right) = \exp\left(-\frac{10^{-5} t}{0{,}1}\right) = e^{-10^{-4} t}$$

de donde, imponiendo que $C/C_0 = 0{,}2/2 = 0{,}1$, se obtiene t = 23.000 s (= 6,3 h). Con este tiempo tan grande, podemos haber perdido mucha proteína.

b) Para la proteína, $R_p = 0{,}98$. La ecuación 10.56 para la proteína será:

$$\frac{C_p}{C_{p_0}} = \exp\left[-10^{-4} t(1-R_{p)}\right] = \exp\left[-10^{-4} \times 23.000 \times (1-0{,}98)\right] = 0{,}955$$

es decir, se perderá un 4,5 %.

10.6. Módulos comerciales premontados para la filtración tangencial

Para las operaciones de OI, UF y MF, las membranas se comercializan instaladas en paquetes o módulos aptos para el funcionamiento. Las membranas se disponen en paralelo y/o en serie formando un conjunto premontado. La superficie por módulo es de 0,1 a 3 m^2, para aplicaciones de planta piloto o de laboratorio, y de 1 a 30 m^2, para aplicaciones industriales. Hay cuatro tipos básicos de módulos:

1. Tubulares
2. De membrana plana
3. Arrollados en espiral
4. De fibras huecas

Se representan esquemáticamente en la figura 10.13. En cada módulo, interesa introducir el área máxima de superficie de membrana por unidad de volumen que ocupa la instalación. En la tabla 10.7, se especifican las características y la composición de las membranas actuales.

Tabla 10.7
Membranas comerciales: módulos y características

Módulo*	**Área instalada, en m^2/m^3**	**Coste relativo**	**Control de la polarización**	**Aplicaciones****
Cartucho	800-1.000	bajo	malo	MF
Plato-marco	400-800	medio	bien	MF, UF, OI, D, ED
Espiral	800-1.200	bajo	bien	UF, OI, GS
Tubular	20-100	muy grande	muy bueno	MF, UF, OI
Capilar	600-1.200	bajo	muy bueno	UF, MF, D
Fibras vacías	2.000-5.000	muy bajo	muy malo	OI, GS

* Véase la figura 10.14.

** D = diálisis, ED = electrodiálisis, GS = separación de gases, MF = microfiltración, OI = ósmosis inversa, UF = ultrafiltración

Módulos tubulares. Los tubos son de 10 a 25 mm de diámetro interior y de 1 a 6 m de largo. El fluido se bombea con Re >10.000. Pueden limpiarse fácilmente y disponemos de muchos datos sobre su funcionamiento.

Módulos de membrana plana. Se instalan como en un filtro-prensa (plato y marco). premontadas en cassetes, que se pueden apilar y conectar entre sí. En caso de avería, se pueden desconectar y sustituir rápidamente. Se pueden reunir en conjuntos de hasta 3 m^2. Actualmente, se utilizan en operaciones a pequeña escala. Se trata de membranas.

Módulos arrollados en espiral. Se disponen en módulos que tienen una superficie plana arrollada sobre un tubo colector que recoge el filtrado. El rollo está separado por láminas de malla que inducen turbulencia. Se fabrican con diámetros de entre 6 y 25 cm y longitudes de hasta 1 m, y pueden contener unos 5 m^2 por módulo. La limpieza mecánica es difícil, pero resisten los reactivos químicos de la limpieza. Se utilizan a gran escala en OI y UF.

Módulos de fibras huecas. Están formados por haces de fibras muy finas, de 0,1 a 2 mm, selladas con adhesivo al tubo contenedor, y pueden operar hasta 2 bar. Para aplicaciones de OI y UF, pueden contener hasta 3.000 fibras y alcanzar 1 m de longitud. Pueden trabajar con presión positiva o negativa.

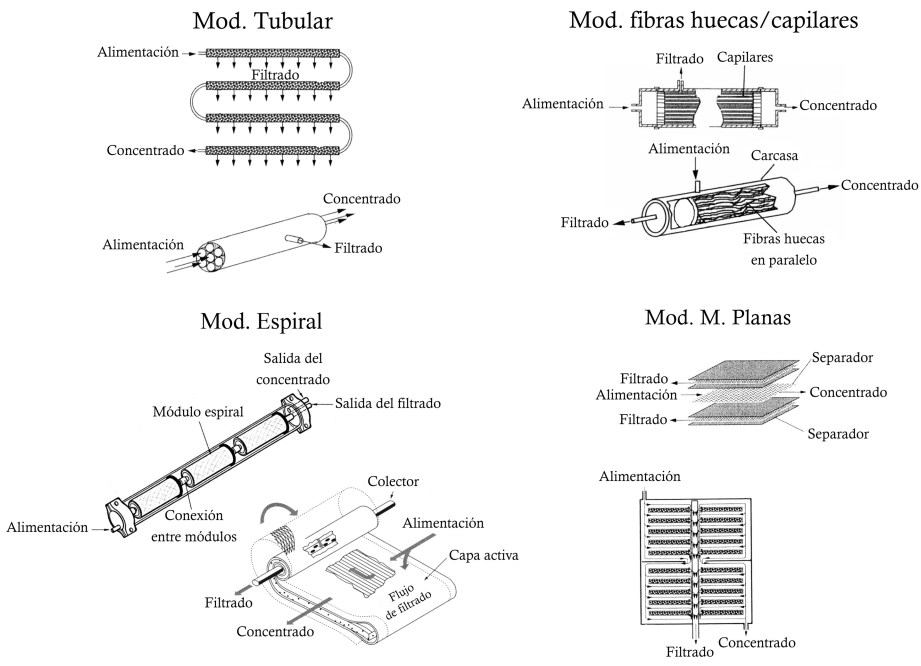


Fig. 10.13
Esquema de los tipos más corrientes de membranas montadas en módulos. Véase su descripción en el texto

10.7. Cambio de escala de la filtración tangencial

En los ejemplos 10.3 y 10.4, hemos visto cómo evaluar los coeficientes de transporte de masa y cómo determinar el flujo en función de Δp, combinando el modelo de resistencias con el modelo de gelificación. Estos modelos de transporte permiten calcular, en teoría, el flujo con el fin de diseñar el aparato de ultrafiltración. Sin embargo, habrá que experimentar para caracterizar los valores del diseño y ver qué flujos podemos alcanzar realmente. Y, después, hacer un cálculo del cambio de escala, que es directo.

Un aspecto muy importante que requiere pruebas experimentales es el ensuciamiento de la membrana, que, en la práctica, indica cuánto tiempo y a qué ritmo decrece el flujo a través de ella. En este caso, hay que tener muy claros los protocolos de limpieza antes de ponerla en funcionamiento y después de la operación. Para la OI, estos procedimientos están muy probados (Fariña, 1999) y, para la UF y la DF, están desarrollados para la filtración tangencial en el caso de las proteínas (Millipore, 2003).

Para el cambio de escala, primero hay que disponer de una unidad piloto de geometría igual a la final. Para los filtros tubulares o las fibras huecas o capilares, la regla del cambio de escala más fiable es aumentar el número de elementos en paralelo o poner módulos idénticos en paralelo, sin modificar el diámetro de los tubos ni su longitud. Simplemente, hay que añadir unidades en paralelo para acomodar el mayor caudal. En las membranas planas, los sistemas de plato-marco permiten añadir casetas manteniendo las velocidades específicas.

Para el caso de los módulos en espiral, podemos hacer cambios de escala manteniendo la geometría del sistema, teniendo en cuenta los factores siguientes. El flujo de solvente depende de unos cuantos factores que tenemos que controlar. Estos factores son: Δp; los valores de Reynolds y de Schmidt del fluido, y los inductores de turbulencia del módulo. Así pues, habrá que mantener constantes los factores que afectan el transporte de masa, que son Sh; la velocidad de circulación del fluido, v; el diámetro hidráulico, d_h, y los valores de los parámetros moleculares, como C, μ y ρ, que determinan Sc. Por tanto, es fundamental controlar la temperatura. En general, es importante mantener el caudal de trabajo por unidad de área de membrana como criterio de extrapolación.

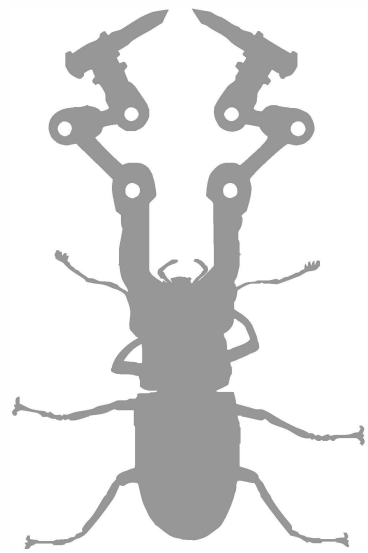
10.8 Consideraciones finales y conclusiones

En este capítulo, se ha tratado de la ultrafiltración, la microfiltración y la diafiltración. Se han considerado dos teorías de la filtración tangencial, la basada en la ecuación de Hagen-Poiseuille (de las resistencias) y la basada en la polarización de la membrana y la gelificación. La primera predice un flujo proporcional a la caída de presión. La segunda está determinada por la transferencia de masa al lado de la membrana donde hay polarización. Se han proporcionado diversos ejemplos de cálculo, que permiten predecir estos flujos en caso de presión osmótica adversa, y los coeficientes de transporte a partir de correlaciones. Se ha tratado también de la diafiltración y de los procesos en discontinuo y en continuo en estado estacionario, y como proceso de concentración, y se han resuelto unos cuantos problemas numéricos. También se ha hablado de la microfiltración, que es útil en biotecnología para la filtración de microorganismos y otras dispersiones.

Se ha hablado brevemente del ensuciamiento de la membrana, un tema de gran importancia práctica, aunque los modelos existentes ofrecen una capacidad predictiva limitada (v. Cheryan, 1998). No se ha tratado de la diálisis, de gran utilidad práctica para la eliminación de sales y sustancias de bajo PM a pequeña escala en el laboratorio. Los textos de ingeniería bioquímica (por ejemplo, Katoh-Yoshida, 2009), abordan la diálisis en términos de velocidad de transferencia de masa. El equivalente industrial de la separación por diálisis de laboratorio es la diafiltración, que ha sido objeto de un tratamiento cuantitativo preciso, con ejemplos.

10.9 Notación

C	Concentración de soluto, en kg/m^3
C_G	Concentración de gel, en kg/m^3, o % de peso
C_p	Concentración de soluto en el filtrado, en kg/m^3
C_w	Concentración de polarización, en kg/m^3
D	Difusividad, en m^2/s
d_h	Diámetro hidráulico, en m
f	Factor de concentración
J	Flujo de filtración, en m^3/m^2s
k_c	Coeficiente de transporte de masa, en m/s
L_m	Permeabilidad o inverso de la resistencia, en m/s bar
M_1	PM peso molecular del componente 1 , en kg/kmol
p	Presión, en bar
PM_{90}	PM de corte para el cual R > 0,90
r	Resistencia específica de la torta, m-2
R	Factor de retención
R_c	Resistencia de la torta, en m/bar
Re	Número de Reynolds, ec. 10.29
R_g	Constante de los gases, 0,083 bar $m^3/(kmol \cdot K)$
R_T	Resistencia total de la membrana, m
Sc	Número de Schmidt, ec. 10.29
Sh	Número de Sherwood, ec. 10.29
T	Temperatura, en K
t	Tiempo, en s
V	Volumen, en m^3
v	Velocidad del fluido paralelo a la membrana, en m/s
V_2	Volumen molar parcial del solvente, en $m^3/kmol$
V_p	Volumen de la torta, en m^3
x	Coordenada normal a la membrana, m
x_2	Fracción molar de soluto
γ	Coeficiente de actividad
$\Delta\Pi$	Presión osmótica, en bar



Cristalización

La cristalización se utiliza como operación de acabado o purificación final de muchos productos de fermentación, como aminoácidos, péptidos, proteínas, metabolitos, antibióticos, etc., que se comercializan en forma de cristales. Los cristales húmedos obtenidos se filtran o se centrifugan, y después se secan. El secado se estudia en el capítulo siguiente. Estas dos operaciones –cristalización y secado– son comunes también, a gran escala, en las industrias de proceso. Cabe distinguir entre la cristalización desde disoluciones líquidas y mezclas fundidas o desde gases. En biotecnología, nos interesa la cristalización desde disoluciones líquidas como proceso económico de purificación para evitar contaminantes. La ventaja principal del proceso de cristalización es que produce un soluto de gran pureza. En resumen, es especialmente adecuada:

- por su pureza, próxima al 100 %, una vez secados los cristales;
- porque facilita la eliminación de humedad por filtración o centrifugación de los cristales, y
- por el aspecto excelente que presentan los cristales para su comercialización.

La cristalización consiste en el enfriamiento, seguido de la evaporación del solvente o de la adición de un agente diluyente miscible con el solvente, pero no solvente del soluto. En biotecnología, interesa principalmente la primera opción (la cristalización de una disolución saturada, generalmente acuosa) y la tercera (la cristalización por adición de diluyente no solvente a una disolución saturada).

Fases. En la cristalización industrial a partir de una disolución, el *magma* es la suspensión bifásica de líquido (aguas madres) y sólido (cristales de todos los tamaños) que ocupa el volumen del cristalizador y que se retira de este como producto.

Unidades. La solubilidad se expresa en masa de soluto por unidad de masa (o volumen) *de agua* a una temperatura dada (v. fig. 11.1 derecha). Por ejemplo, en el caso del ácido oxálico, su solubilidad a 80ºC en agua vale 84,4 g/100 g de agua. Sin embargo, en ocasiones, la solubilidad se expresa en términos de la fracción en masa de soluto en la suspensión frente a la temperatura (v. fig. 11.1, izquierda, y ec. 11.2).

En la tabla 11.1, se anotan algunas diferencias entre la cristalización y la precipitación. Esta última operación se ha la tratado en el capítulo 6, en relación con la precipitación de proteínas. La precipitación da lugar a un sólido de morfología heterogénea; en cambio, la cristalización produce cristales de estructura extremamente regular y ordenada, ya que los cristales son los objetos no vivientes más altamente ordenados en estructuras tridimensionales regulares.

Tabla 11.1
Diferencias entre la cristalización y la precipitación (Harrison, *et al*. 2003)

Característica	Cristalización	Precipitación
Solubilidad	Media-alta	Alta
Sobresaturación	Pequeña	Alta
Morfología del producto	Muy bien definida	Mal definida
Tamaño de partícula	Cristal grande	Partícula pequeña
Velocidad de nucleación	Baja	Alta
Controlabilidad	Buena	Difícil

Aparte de cristalizar para la producción, la cristalización también se emplea para los estudios cristalográficos en sí mismos, a fin de producir estructuras y partículas de medidas de 0,1 a 0,5 mm, que luego se estudian por difracción de rayos X en la investigación científica. Los sólidos para la investigación son cristales propiamente dichos, o bien fibras obtenidas con técnicas de alargamiento durante la eliminación del agua. Sin embargo, este capítulo se centra en los procesos de cristalización que se puedan aplicar en la producción biofarmacéutica a plena escala. En las operaciones de la industria de proceso, las operaciones de cristalización se han dedicado, sobre todo, a sustancias inorgánicas, generalmente sales. Así, pues, hay una gran cantidad de datos relativos a dichas sustancias, como:

- diagramas de fases
- solubilidad
- diagramas de entalpía-composición

En cambio, en las operaciones con biomoléculas, no se dispone, en general, de datos sobre equilibrios de fase o termofísicos, que son difíciles de estimar. En la literatura sobre la cristalización de sustancias inorgánicas, orgánicas y de biotecnología, se han acumulado numerosos datos cinéticos de nucleación y de crecimiento de cristales, útiles para calcular cristalizadores, como veremos a continuación.

En este capítulo, primero presentamos los fundamentos del proceso, que incluyen los conceptos de velocidad de nucleación y de crecimiento de cristales, y la sobresaturación como fuerza impulsora de la deposición de moléculas o de transferencia de masa del proceso. A continuación, tratamos de la distribución estadística de medidas o tamaños de los cristales (DMC), la cual depende de la velocidad de iniciación y crecimiento de los cristales. Hablaremos de la predicción de la DMC en un cristalizador continuo. Y también de la cristalización discontinua o por cargas, que se utiliza para purificar antibióticos y péptidos. Finalmente, presentaremos los aparatos industriales de cristalización y cómo se debe efectuar el cambio de escala.

En el anexo B, reproducimos la tabla de tamices normalizados de Tyler, que se utilizan para caracterizar la granulometría de sólidos en forma de partículas.

11.1 Fundamentos de la cristalización

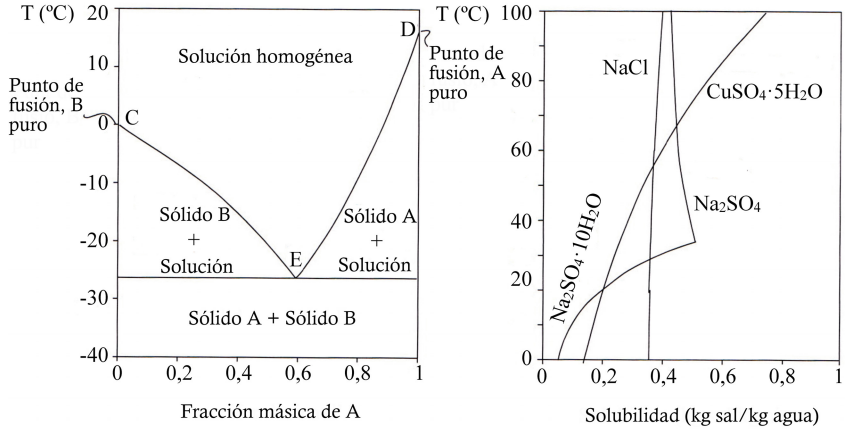


Fig. 11.1
Solubilidad de equilibrio en función de la temperatura. A la izquierda, diagrama de fases de dos solutos, A y B (B es agua), y el punto eutéctico E. A la derecha, solubilidad de diversas sales en agua.
Fuente: Smith (2005)

Sustancia	Temperatura, en ºC	Sobresaturación, en C/Cs	Velocidad de crecimiento G, en m/s
s-Carboximetil-L-cisteína	26	2,0	$8{,}3\times10^{-9}$
Ácido cítrico · H_2O	30	1,01	$1{,}0\times10^{-8}$
	30	1,05	$4{,}0\times10^{-8}$
Glicina	24	1,1	$1{,}7\times10^{-8}$
L-Histidina, forma B	20	1,13	$4{,}2\times10^{-8}$
Lipasa	28	2,0	$5{,}1\times10^{-9}$
Lisozima, cara (110)	22	10	$7{,}4\times10^{-8}$
Ovoalbúmina	30	3,0	$2{,}8\times10^{-10}$
Sacarosa	30	1,27	$2{,}1\times10^{-8}$*
	70	1,09	$9{,}5\times10^{-8}$

*Probablemente, dependiente del tamaño.

Tabla 11.2
Velocidades de crecimiento lineal de algunos cristales (Doran, 2012)

En la figura 11.1, se muestran el equilibrio de solubilidad de dos solutos y la solubilidad de varias sales en agua. A la derecha, se observa que algunas sales forman hidratos. En general, la solubilidad aumenta con la temperatura, pero a veces el aumento es pequeño, como es el caso del NaCl en agua. En ocasiones, la tendencia es la inversa, como en el caso del Na_2SO_4, pero ello no es normal. La solubilidad en agua normalmente se expresa mediante la ecuación siguiente, denominada *ecuación de la solubilidad ideal* (Prausnitz *et al.*, 1998):

$$\ln x_s = \frac{\Delta H_f}{RT}\left(\frac{T}{T_m}-1\right) \qquad (11.1)$$

donde ΔH_f es la entalpía de fusión; T_m es la temperatura de fusión, siendo T la temperatura actual (en K), y x_s es la fracción molar de soluto de la disolución saturada. Es interesante observar que la solubilidad ideal no depende del solvente; además, al ser la entalpía de fusión positiva, la ecuación predice que la disolución de un soluto aumentará con la temperatura. La expresión empírica para diversos solutos adopta la forma siguiente:

$$\ln x_s = A + B/T \tag{11.2}$$

Teóricamente, x_s también depende de la presión, pero su efecto se puede despreciar. Para una serie de moléculas orgánicas, se ve que x_s sigue la tendencia de la ecuación anterior. En la tabla 11.2, se indican las características de algunos cristales de interés. En los simuladores, la solubilidad se estima a través de los coeficientes de actividad por el método UNIFAC, o bien aplicando la teoría de las soluciones regulares (Prausnitz *et al*., 1998).

11.1.1 Cristales

Cuando se dejan formar los cristales libremente, se forman poliedros, es decir, sólidos regulares de caras planas y vértices puntiagudos. Aunque las medidas de las caras de una misma sustancia pueden diferir considerablemente, los ángulos formados por caras correspondientes no varían, y esta es una característica fundamental de una sustancia. Así, pues, las formas cristalinas se clasifican según estos ángulos. Ello da lugar a los siete *sistemas cristalográficos*, que se obtienen combinando los ángulos y las longitudes de los ejes (v. Shakelford, 1988, para un estudio básico).

El tamaño relativo de las caras de un cristal en un sistema cristalográfico determinado puede variar ampliamente y dar lugar a una gran variedad de formas de los cristales. Esta variedad se denomina *hábito cristalino*. Por ejemplo, si los cristales crecen más rápidamente en una dimensión, se forman agujas. Estos hábitos se muestran en la figura 11.2 (derecha) para cristales hexagonales. El hábito cristalino aparece cuando se cumplen determinadas condiciones de cristalización, sobre todo cuando se producen algunos efectos (impurezas, disolventes, temperatura, pH, etc.) que afectan la velocidad de crecimiento del cristal. En la figura 11.2, se muestran agujas, cuerpos y pastillas. Se sabe, por ejemplo, que algunas impurezas favorecen el crecimiento en determinadas direcciones, o que algunos condicionantes mecánicos aplicados durante la cristalización hacen desarrollar el cristal de una manera determinada. Para el caso de los aminoácidos y los antibióticos, generalmente se deben producir cristales con un hábito determinado, por razones farmacológicas.

Geometría del crecimiento. El crecimiento del cristal se produce por difusión y por deposición, que son dos procesos diferentes en serie. Una vez transportados una molécula o un ion hasta el lugar de deposición, hace falta que sea aceptado por adsorción o etapa interfacial del proceso. Durante el crecimiento, se mantiene la semejanza geométrica. Un cristal que mantiene esta semejanza es un *cristal invariante*. En la figura 11.2 (izquierda), se muestra la vista transversal de un cristal en crecimiento invariante. Cada polígono de la figura representa tiempos de cristalización crecientes. Como los polígonos son semejantes, las líneas de puntos que unen los vértices son rectas. El punto central es el origen o núcleo inicial. La velocidad de crecimiento de una cara se mide en dirección perpendicular a esa cara. Así pues, excepto que se trate de un poliedro regular, las velocidades de crecimiento de las caras de un cristal invariante no tienen por qué ser iguales. En el resto del capítulo, se consideran cristales invariantes. En este capítulo, utilizamos también una

única dimensión L para designar el tamaño de un cristal invariante de cualquier forma, de modo que, si una partícula cristalina tiene una superficie S_p y un volumen V_p, la longitud característica L se define como:

$$L = \frac{6V_p}{S_p} \tag{11.3}$$

Para cubos y esferas, el valor de L coincide con d, siendo d el diámetro de la esfera o la arista del cubo, respectivamente. Esta elección simplifica el análisis de la cristalización, como se verá más adelante.

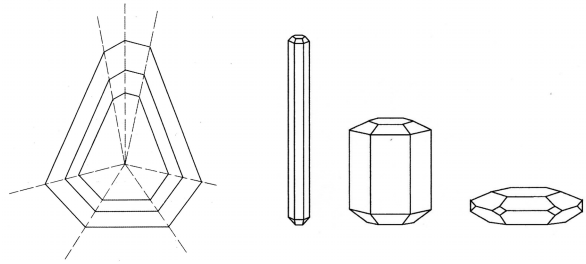


Fig. 11.2
A la izquierda, cristal invariante (McCabe-Smith, 1968). A la derecha, diferentes hábitos cristalinos de cristales hexagonales: agujas, tacos, pastillas (Doran, 2012)

Aplicación final y propiedades del sólido	**Propiedad durante el procesado**
Densidad a granel	Velocidad de filtración
Flujo de sólidos	Velocidad de centrifugación
Humedad residual	Arrastre por el líquido después del filtrado
Tendencia a formar terrones	
Tiempo de disolución	
Aspecto	
Facilidad de fluidización	
Facilidad de transporte neumático	
Facilidad de formar polvo	

Tabla 11.3
Propiedades de bioproductos sólidos que dependen de la medida, la forma y la DMC de los cristales (Doran, 2012)

La forma y el tamaño de los cristales tienen mucha importancia, porque afectan las propiedades del procesado de un lote de cristales. En la tabla 11.3, se ilustra la influencia de diferentes propiedades de los cristales sobre el procesado de los sólidos.

11.1.2 Sobresaturación

La figura 11.3 ilustra la curva de saturación de una sustancia cristalina disuelta en un solvente (por ejemplo, agua) frente a la temperatura (v. curva AB). Cuando se supera la curva de solubilidad, hay una zona denominada *región metaestable*, que es termodinámicamente inestable (es la región entre las curvas AB y CD), pero que puede ser estable si procuramos que no entren partículas sólidas que actúen como semillas o núcleos de cristalización, remolinos violentos, cuerpos extraños (partículas de metal o de polvo, vidrio, etc.). Hablamos de *nucleación primaria* cuando se produce la cristalización espontánea, o sea, sin núcleos o semillas añadidos. Si se supera la zona de sobresaturación, se

pasa a la *zona lábil*, se inicia la nucleación y el crecimiento consiguiente de los cristales. La curva CD de la figura se denomina *curva de supersolubilidad*.

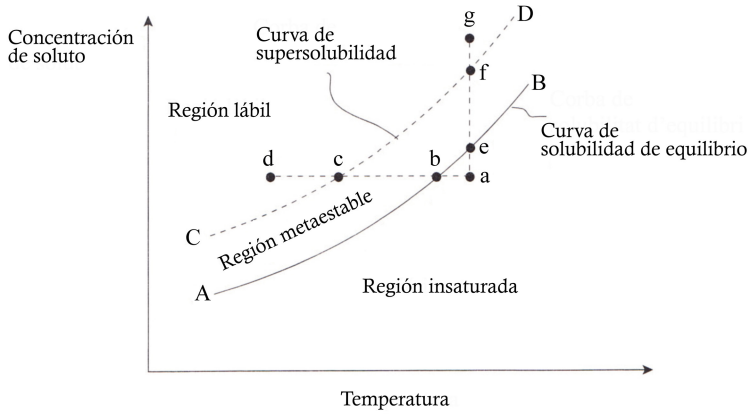


Fig. 11.3 Curva de solubilidad de equilibrio de una sustancia pura vs. temperatura (curva AB). Se indica la región de sobresaturación (metaestable, región comprendida entre CD y AB). Por debajo de AB, hay las regiones de soluciones insaturadas. Y, por encima, la curva de supersolubilidad y la región lábil

Supongamos que estamos en el punto a y que enfriamos la disolución hasta el punto b. En este punto, la solución está saturada. Hasta que no llegamos al punto c (sobre la curva de supersolubilidad, curva CD), la cristalización no empieza. Así pues, hay una zona CD que rodea la curva de solubilidad, que es muy sensible. Además de lo que acabamos de describir, que es un fenómeno natural, si se depositan pequeñas impurezas de polvo, cristalitos añadidos a propósito, etc., se provoca el inicio de la nucleación y la subsiguiente cristalización. En la literatura técnica (Coulson-Richardson, 2003), se describe la forma de realizar las pruebas experimentales de nucleación en la zona metaestable.

En la figura 11.4, se indica la evolución C vs. T (línea de puntos) dentro de la zona metaestable para un proceso de enfriamiento por cargas. Es conveniente no salir de esta zona y evitar entrar en la zona lábil superior, con el fin de no provocar una nucleación incontrolada.

Otra manera diferente de crear la sobresaturación desde el punto a es iniciar, a T constante, la evaporación del solvente desplazando la disolución verticalmente hasta el punto *f* y después hacia el punto *g*, que ya está claramente en la zona lábil. Ello se consigue evaporando solvente y sobresaturando la disolución hasta dejarla a punto para cristalizar.

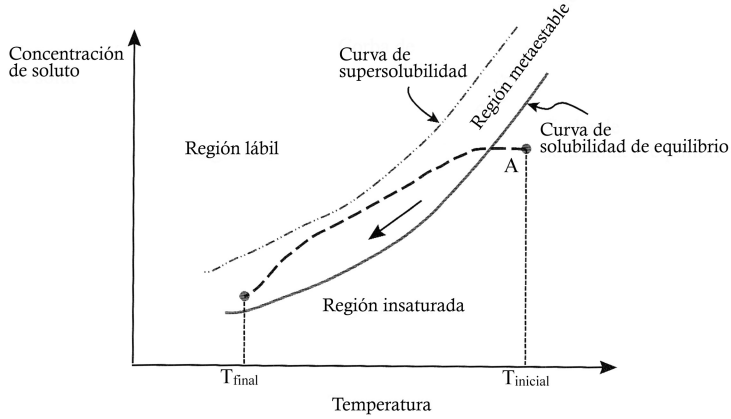


Fig. 11.4 Evolución de una operación de cristalización por dentro de la zona metaestable.

Procesos de cristalización. Volvamos a la figura 11.1. A la vista de la curva de solubilidad (v. fig. 11.1, derecha), queremos saber qué proceso se escogerá para obtener los cristales del soluto:

– Cristalización por enfriamiento

– Cristalización por evaporación

– Cristalización por dilución con un no solvente

Para elegir entre los dos primeros procesos, hay que examinar la curva de solubilidad respecto de la T. En la figura 11.1, se observa que el NaCl tiene una solubilidad en agua prácticamente constante e independiente de la T. En cambio, en el caso de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, la solubilidad aumenta sensiblemente con la T. Cabe esperar, pues, que la cantidad de cristales obtenidos por enfriamiento de soluciones acuosas saturadas de $CuSO_4$ será mayor que para NaCl. Para ésta, debe cristalizarse por evaporación si se quieren obtener cantidades apreciables de cristales.

Definimos *el rendimiento en cristales* en una cristalización por enfriamiento, como el cambio de concentración del soluto, $\Delta C/C_0 = (C_0\text{-}C_{final})/C_{0,}$ expresado en porcentaje, donde C_0 es la concentración inicial de saturación a T = T y C_{final} es la concentración de soluto disuelto a la temperatura final*, enfriando desde T hasta* T_{final} *a volumen constante* (v. ejemplo 11.4). A menudo, este es el tipo de cristalización de las biomoléculas.

En biotecnología, se utiliza un tercer proceso de cristalización, que es una combinación de los otros dos, para reducir la solubilidad. Se trata de la cristalización por dilución con un solvente miscible con el agua que es no solvente de la biomolécula. Por ejemplo, para cristalizar una solución que contiene L-serina en agua, provocamos la cristalización con una dilución con metanol, miscible en agua, pero no solvente de la L-serina. Véanse los ejemplos 11.7, 11.8 y 11.9 para ver el efecto del diluyente en la cristalización.

Medida de la sobresaturación. Se define de forma sencilla en función de las concentraciones, como:

$$\Delta C = C - Cs \tag{11.4}$$

donde C es la concentración actual a T = T y Cs es la concentración de saturación a T, Cs(T). Además, se definen otras medidas de la sobresaturación, tales como S:

$$S = \frac{C}{Cs} \tag{11.5}$$

o bien σ:

$$\sigma = \frac{C - Cs}{Cs} = S - 1 \tag{11.6}$$

Es muy importante señalar que *la fuerza impulsora que causa la difusión de moléculas de la disolución hasta el cristal es la sobresaturación ΔC.* En la tabla 11.2, se dan los valores típicos de algunas operaciones de cristalización; en general, el valor de S no se aparta mucho de 1,01 a 1,05 y, en casos extremos, llega a 1,10.

Más adelante, veremos la cristalización por adición de un no solvente o diluyente, D. Algunos autores utilizan el hecho de que el efecto del diluyente es la modificación del valor de S. Como veremos, a falta de solvente, el valor de S se puede escribir como:

$$\ln \frac{C}{Cs} = a \tag{11.7}$$

que, con los valores de S habituales (= 1,01-1,05), daría un valor de a = 0,045-0,095. El *efecto del diluyente* es pasar, de ln C/Cs = a, a un valor más pequeño, que disminuye el valor de la sobresaturación, es decir:

$$\left(\ln \frac{C}{Cs} \right)_D = a - bD \tag{11.8}$$

donde D es la concentración del diluyente no solvente y b es un valor empírico. El efecto de D es disminuir la sobresaturación, valor a. La ecuación anterior es análoga a la ecuación de Cohn (v. cap. 6) para la precipitación de proteínas. Más adelante, veremos cómo se aplica.

11.1.3 Pureza

El primer concepto básico que hemos visto es la solubilidad. El segundo más importante es la pureza. Otros conceptos básicos son:

- la velocidad de nucleación de cristales
- la velocidad de crecimiento de un cristal
- la ley de delta L o de McCabe

Veamos qué entendemos por pureza. La pureza se refiere a un reparto favorable del producto deseado en la fase de cristales frente a otros componentes no deseados o impurezas. Para definir la pureza, utilizamos el concepto de reparto. Para la separación de dos componentes A y B, se define el coeficiente de reparto E de cada uno de ellos, en los cristales y en las aguas madres, de la forma siguiente:

$$E_A = \frac{\text{Peso A en torta de cristales}}{\text{Peso A en el filtrado}}$$

Y, para la impureza B, hacemos también:

$$E_B = \frac{\text{Peso B en torta de cristales}}{\text{Peso B en el filtrado}}$$

El factor de separación β, después de un contacto ideal, valdrá (King, 1981):

$$\beta = \frac{E_A}{E_B}$$

Si β es grande (por ejemplo, > 5-10), el enriquecimiento después de una etapa de cristalización es grande. Veamos un ejemplo.

Ejemplo 11.1. Separación de esteroles de la soja. Incremento de la pureza durante la cristalización

Una mezcla de 2.040 kg de estigmasterol (A) y sitosterol (B) se separa por cristalización en fracciones. Los cristales (fracción 1, que pesa 1.137 kg) contienen, en un 96,6 % de su peso, estigmasterol (A). Las aguas madres de la cristalización (o fracción 2), una vez evaporadas a sequedad, contienen un 74,6 % de estigmasterol (A). Calcúlese la pureza de A de la fracción 1 o fracción de cristales; hállese E_B, y calcúlese también el factor de separación β del estigmasterol (A) y el sitosterol (B).

El magma consiste físicamente en cristales y aguas madres, cuyos pesos son:

Cristales o fracción cristalizada = 1.137 kg

Aguas madres = 2.040 - 1.137 = 903 kg

$$\text{Peso A en cristales} = 1.137 \times 0,966 = 1.098 \text{kgA}$$
$$\text{Peso A en aguas madres} = 903 \times 0,746 = 673 \text{kgA}$$

de donde

$$E_A = \frac{1.137 \times 0,966}{(2040 - 1.137) \times 0,746} = 1,63 \qquad E_B = \frac{1.137 \times (1 - 0,966)}{(2040 - 1.137) \times 0,746} = 0,17$$

Luego,

$$\beta = \frac{1,63}{0,17} = 9,6$$

Ejemplo 11.2. Balance de masa en la cristalización del ácido adípico (AA)

Se dispersan 10 kg de AA en 13,1 kg de agua y se calientan a 90ºC con el fin de solubilizar el ácido. Para eliminar impurezas, se filtra y, durante la filtración y el calentamiento, se evapora un 10 % de agua. La disolución clarificada se enfría a 35ºC y se filtra. La solubilidad a 35ºC es de 0,05 kg AA/kg de agua.

Calcúlese el peso de los cristales recuperados en esta operación. No hay agua de cristalización.

Veamos primero el balance de agua en kg:

$$\text{Agua inicial} = \text{agua en aguas madres} + \text{agua evaporada}$$
$$13,1 \text{ kg} = \text{agua en aguas madres} + 0,1 \times 13,1$$
$$\text{A en aguas madres} = 11,79 \text{ kg}$$

Balance de ácido adípico:

$$\text{Cristales iniciales} = \text{cristales finales} + \text{AA en aguas madres}$$
$$10 \text{ kg} = \text{Peso cristales} + 0,05 \times 11,79$$
$$\text{Peso de los cristales} = 9,41 \text{ kg}$$

Si los cristales tuvieran agua de cristalización, esta debería incluirse en los balances.

Ejemplo 11.3. Cristalización por enfriamiento

En un proceso, se tiene que cristalizar ácido oxálico (ácido dietanoico, PM de 90 g/mol) de una disolución acuosa saturada a 80ºC.

1. Calcúlese la temperatura a que se debe enfriar la disolución para recuperar el 95 % del ácido por cristalización. Cuando cristaliza, se forman cristales de dihidrato $Ox \cdot 2H_2O$.

2. Calcúlese el rendimiento en cristales.

Se conoce la curva de solubilidad del ácido oxálico en agua, C_S en g/100 g de agua, en función de T:

T, en ºC	0	10	20	40	60	80
Cs, en g/100 g	3,5	6,0	9,5	21,5	44,3	84,4

El porcentaje en peso de agua en el Ox hidratado valdrá = 2 × 18/90 = 0,4 (40 %)

1. Consideremos el enfriamiento de 100 kg de solución saturada a 80ºC. Los kg de Ox que se han de obtener son 84,4 × 0,95 = 80,18 kg, es decir, tendremos que retirar 84,4 - 80,18 = 4,2 kg de Ox anhidro, que contendrán 80,18 × 0,4 = 32,1 kg de agua de hidratación.

El líquido restante será 100 - 32,1 = 67,9 kg; por tanto, la solubilidad a la temperatura final del proceso de enfriamiento, T, valdrá:

$$C_s\ (T) = (4{,}2\ kg/67{,}9\ kg) \times 100 = 6{,}19\ kg/100\ kg\ de\ agua$$

Calculemos ahora la temperatura a la cual la solubilidad toma este valor (6,19 g/100 g). Interpolando las solubilidades de la tabla anterior entre 10 y 20ºC, se tiene:

$$\Delta T = (6{,}19\text{-}6)\ /(9{,}5\text{-}6)/10 = 0{,}54ºC$$

de donde:

$$T = 10 + 0{,}54 = 10{,}54\ ºC$$

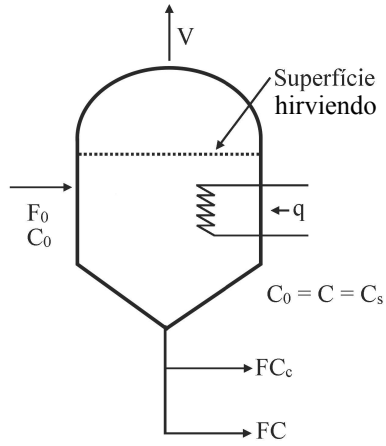
2. El rendimiento en cristales enfriando desde 80ºC hasta 10,54ºC valdrá:

Rendimiento en cristales = (84,4-6,19)/84,4 = 0,92 (92 %)

Ejemplo 11.4. Cristalización por evaporación

En una planta de fermentación, se quiere recuperar azúcar cristalizando en continuo una disolución de sacarosa (S) saturada a 60ºC y que tiene una concentración C_s = 2,867 kg de S/kg de agua. Para el evaporador-cristalizador, se quiere calcular el rendimiento teórico en cristales que se obtendrá y el requisito de energía en función del rendimiento.

Nota: Como simplificación, supondremos que la concentración de soluto de la corriente de salida del evaporador es igual a la concentración de saturación de equilibrio a 60ºC.



1. Calcúlese el rendimiento en cristales en función de la producción de vapor, para una evaporación del 20 % del agua de la alimentación.

2. Calcúlese el calor que se debe aportar por kg de alimentación.

1. El sistema del evaporador es el de la figura, donde F_0 es el caudal de alimentación de agua; F es el caudal de salida de agua, ambos en kg de agua/h, y V es el caudal de agua retirada por evaporación, en kg de vapor/h. Planteamos dos balances, uno de solvente (agua) y otro de soluto (sacarosa).

El balance de masa *de agua* será:

$$V = F_0 - F$$

El balance de masa *de soluto* (sacarosa) nos dice que el soluto que entra, sale disuelto en forma de cristales sólidos. Así:

$$F_0\, C_0 = F\, C + F\, C_c$$

donde C_0 es la concentración de sacarosa en la corriente de entrada, en kg S/kg de agua; C es la concentración de sacarosa en la corriente de salida, en kg S/ kg de agua, y C_c es la concentración de cristales sólidos en la corriente de salida F, en kg de cristales/kg de agua. El rendimiento de los cristales se define como:

$$\text{Rendimiento de los cristales} = F\, Cc/ F_0\, C_0$$

Utilizando las ecuaciones de balance, podemos expresar el rendimiento como:

$$\text{Rendimiento} = (F_0\, C_0 - F\, C)/F\, C = 1- (C/C_0)\, (1 + V/F_0)$$

Introduciendo ahora la simplificación, $C = C_0 = C_s$, se obtiene:

$$\text{Rendimiento en cristales} = V/F_0$$

Este resultado nos dice que el rendimiento de cristales es igual a la fracción de la alimentación evaporada. Así, si evaporamos un 20 % de F_0, obtenemos un rendimiento de los cristales del 20 %; si evaporamos un 30 %, el rendimiento valdrá el 30 %, etc.

El requisito de energía se calcula suponiendo que el calor latente de vaporización del agua a 60ºC es el que se tiene que aportar para vaporizar V kg/h en las condiciones del evaporador. Si el calor latente de vaporización se toma como $\lambda = 2.359$ kJ/kg, la energía que habrá que aportar valdrá, para una evaporación del 20 % de F_0:

$$\text{Energía a aportar} = 2.359 \times V/F_0 = 2.359 \times 0{,}2 = 472 \text{ kJ/kg de alimentación}$$

donde V/F_0 son los kg de agua a evaporar/kg de alimentación.

11.1.4 Velocidad de nucleación

La velocidad de nucleación depende de su mecanismo. Podemos distinguir los tipos siguientes:

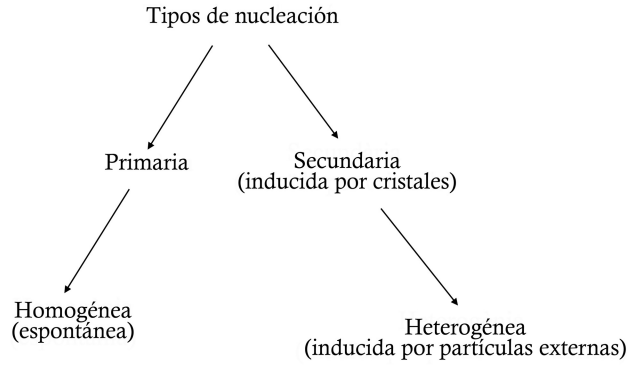
Nucleación homogénea. Es la debida únicamente a sobresaturación.

Nucleación heterogénea. Es la debida a una partícula extraña o a una semilla.

Nucleación secundaria. Puede ser homogénea o heterogénea, y se produce por contacto con diferentes cristales.

Atrición. Es la generación de partículas por fricción entre los cristales, que entonces se convierten en pequeños núcleos de cristalización.

Fig. 11.5
Tipos de nucleación



Doran (2012) representa esquemáticamente los procesos de nucleación tal como se indica en la figura 11.5. Como se ve, hay diversos mecanismos de nucleación, pero se desconoce su cinética. Con ecuaciones, utilizaremos la expresión más sencilla, que es la siguiente:

$$\frac{1}{V}\frac{dN}{dt} = k_N \left(C - Cs\right)^i = B \qquad (11.9)$$

donde C es la concentración de soluto, kg/m^3; Cs es la concentración de saturación a T = T; $\Delta C = C - Cs$ es la sobresaturación, y B es la velocidad de nucleación, en núcleos/(m^3 s). Las constantes k_N e i son valores empíricos que dependen del soluto y de la agitación. N/V es la concentración de núcleos. Cuando interesa combinar ecuaciones, se toma $i = 1$.

11.1.5 Velocidad de crecimiento de un cristal

Un cristal crece por el transporte de masa desde la disolución hasta el sólido donde se deposita. La velocidad de crecimiento es proporcional al área A, como magnitud extensiva (cuanto mayor es el área, más rápidamente avanza el crecimiento). El crecimiento unitario de la masa de cristales será:

$$\frac{1}{A}\frac{dM}{dt} = k\left(C - Cs\right) \tag{11.10}$$

donde A es el área de los cristales; k es un coeficiente de transferencia de masa, y C-Cs es la fuerza impulsora para la deposición de moléculas. Considerando k_o la constante de velocidad química del proceso (que depende de la temperatura) y k la de velocidad de transferencia de masa, tenemos la relación siguiente, que tiene en cuenta los dos procesos en serie (transporte por difusión y reacción de deposición):

$$\frac{dM}{dt} = \frac{A}{\left(\frac{1}{k} + \frac{1}{ko}\right)}\left(C - Cs\right) \tag{11.11}$$

donde k_o es la velocidad intrínseca y que generalmente está relacionada con la velocidad de adsorción sobre el sólido en un defecto cristalino. Veamos ahora la relación entre el área de cristales, el volumen y su dimensión lineal característica.

Longitud característica de un cristal. Definimos la longitud característica L como el cociente siguiente:

$$L = \frac{6M}{\rho A} \tag{11.12}$$

donde M es la masa del cristal, en kg; A es el área externa, en m^2, y ρ es su densidad, en kg/m^3. Así pues, para un cristal cúbico de arista s, tenemos:

$$\begin{aligned} M &= \rho s^3 \\ A &= 6s^2 \\ L &= s \end{aligned} \tag{11.13 a, b, c}$$

Y, para una esfera de diámetro d:

$$\begin{aligned} M &= \rho \phi_V L^3 \\ A &= 6\phi_A L^2 \\ d &= L \end{aligned} \tag{11.14 a, b, c}$$

donde las ϕ son *factores de forma* de volumen o de área que, para la esfera, valen:

$$\phi_A = \phi_V = \frac{\pi}{6} \tag{11.15}$$

y, para el cubo:

$$\phi_A = \phi_V = 1 \tag{11.16}$$

Tomando los valores de M y A de las ecuaciones de velocidad anteriores y sustituyendo M y A en la ecuación 11.11, se tiene:

$$\frac{d}{dt}\left(\rho\phi_v L^3\right) = \frac{\left(6\phi_A L^2\right)}{\frac{1}{k}+\frac{1}{k_o}}\left(C - Cs\right) \qquad (11.17\text{ a})$$

$$\frac{dL}{dt} = \left(\frac{\frac{2\phi_A}{\phi_v \rho}}{\frac{1}{k}+\frac{1}{k_o}}\right)\left(C - Cs\right) = G \qquad (11.17\text{ b})$$

de donde definimos la velocidad de crecimiento lineal de un cristal, G, como:

$$\frac{dL}{dt} = k_g\left(C - Cs\right) = G \quad \text{con} \quad k_g = \frac{\frac{2\phi_A}{\phi_v \rho}}{\frac{1}{k}+\frac{1}{k_o}} \qquad (11.18)$$

con B es la velocidad de nucleación dada por la ec. 11.9, ambas expresadas de forma sencilla. Estas dos ecuaciones son la base para calcular cristalizadores en estado estacionario. La primera nos da, B, la velocidad de *formación de nuevos núcleos*, mientras que la ecuación de dL/dt nos da la velocidad de *crecimiento de los núcleos ya formados.* Ambas ecuaciones dependen de la sobresaturación, pero la segunda ecuación nos dice que la velocidad de crecimiento es independiente del tamaño de los cristales ya formados y, por tanto, la podemos aplicar a cualquier cristal presente. Esta observación da lugar a la llamada *ley de ΔL o de McCabe*, que nos permite tratar todos los cristales con el mismo valor de G con el fin de evaluar ΔL. Es decir:

$$\Delta L = G\Delta t \qquad (11.19)$$

donde G es la velocidad de crecimiento lineal (m/s). En la tabla 11.2, se dan algunos valores de G para diferentes cristales de interés en biotecnología. Obsérvese que son de orden de magnitud similar. En adelante, utilizamos la ley de McCabe, aunque a veces acaso no se cumpla.

11.2 Cristalización de bioproductos. Operaciones por cargas y continuas

Antes de hablar de los tipos de cristalizadores, veamos los bioproductos que se cristalizan hoy día en biotecnología. Generalmente, en el caso de los aminoácidos, los péptidos y las proteínas, se utilizan procesos en discontinuo. El pH se ajusta al punto isoeléctrico, bajando al mismo tiempo la temperatura y añadiendo sales y/o polímeros no iónicos o solventes orgánicos de forma simultánea.

Un ejemplo de estos procesos es la producción de estatinas (inhibidores de la síntesis de colesterol en los humanos). Las estatinas se cristalizan enfriando a -40ºC el extracto de acetato de butilo de la fermentación de *Aspergillus terreus*.

Otros ejemplos son la fabricación de alcohol oxidasa, que se cristaliza tras la diafiltración para eliminar la sal. Un tercer ejemplo es la cristalización de ovoalbúmina por adición de polvo de cristales de ovoalbúmina como semillas a una disolución impura.

Algunos detalles más de estos procesos de cristalización se pueden consultar en Harrison *et al*. (2003), que proporciona datos de referencia y de la literatura de patentes.

La cristalización se lleva a cabo en continuo para procesos a mayor escala (ácido cítrico, aminoácidos, etc.) o en discontinuo, como se ha explicado para las estatinas, en que los fermentadores no son de más de 200 L. Con el fin de aplicar la teoría de la cristalización, explicamos primero la cristalización en un cristalizador continuo.

11.3 Distribución de las medidas de los cristales (DMC), número de cristales y densidad de la población

Nuestro objetivo es estimar la distribución de las medidas de los cristales, a partir de la cinética de la nucleación y crecimiento, que hemos desarrollado. El modelo ideal considerado es el de un cristalizador continuo de mezcla perfecta, que es el que interesa más en la cristalización continua, ya que tiene una fiabilidad adecuada para realizar determinadas predicciones.

11.3.1 Operaciones de cristalización: proceso continuo

Consideramos el recipiente bien mezclado de la figura 11.6 (izquierda), donde tiene lugar una cristalización en régimen permanente, a temperatura constante, con sobresaturación constante y en condiciones estacionarias en el tiempo. Se alimenta un caudal volumétrico de Q, m^3/s, de disolución homogénea saturada, que no contiene cristales, pero sí soluto disuelto a una concentración inicial C_0.

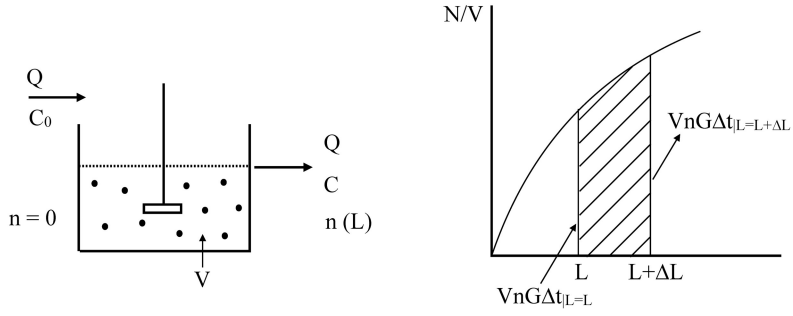


Fig. 11.6
A la izquierda, esquema de un cristalizador continuo bien mezclado en estado estacionario. A la derecha, curva de concentración de cristales (N/V, número/m^3). Zona rayada = número de cristales de tamaño comprendido entre L y L+ΔL

En un instante determinado, en el intervalo L y L+ΔL, entran un número de cristales que eran más pequeños y sale un número de cristales que sobrepasa este tamaño. (Véase el balance de población en el texto.)

Se hacen las hipótesis siguientes:

1. Régimen estacionario.

2. En todo momento, el tanque contiene suspensión (o *magma*).

3. En todo momento, se tiene un magma que está sobresaturado para mantener la velocidad de cristalización.

4. Se cumple la ley de delta L.

5. No se hace ninguna extracción de cristales.

6. En la alimentación, no entran cristales.

7. El producto o magma de salida abandona el cristalizador en equilibrio, de modo que las aguas madres están saturadas.

8. No hay atrición de cristales.

Se extrae una corriente de salida del mismo caudal que el que entra, Q, y que tiene la misma composición que el fluido del tanque. Esta propiedad de igualdad de composición es debida a que en todo el tanque reinan condiciones de mezcla perfecta. En la salida, hay una concentración de cristales que vale N (L)/V, siendo N/V la concentración en número de cristales de tamaño L por m^3 igual que la que hay en el tanque.

Veamos las consecuencias de estas hipótesis:

1. La velocidad de nucleación, el número de núcleos generados por unidad de tiempo y por unidad de volumen de las aguas madres o el licor son constantes en toda la suspensión o magma.

2. La velocidad de crecimiento de los cristales es constante e independiente del tiempo, la localización y el tamaño de cada cristal.

3. Todos los elementos de las aguas madres son iguales en todos los puntos, gracias a la mezcla perfecta.

4. La DMC es independiente de su localización en el tanque y en la salida.

Estas hipótesis se aplican a cristalizadores continuos en transitorio, en la extracción de una corriente de cristales (de tamaño pequeño, pleno) y en otras muchas condiciones de trabajo, haciendo balances de población generalizados.

En los apartados siguientes, tan solo consideramos la operación continua más sencilla (sin clasificación).

11.3.2 Función de densidad de la población

Como en cualquier estadística de una variable, se distinguen dos funciones de probabilidad: 1) la *función de probabilidad acumulada*, N(L), y 2) la *función de densidad de probabilidad*, n(L). Aquí el tamaño o medida es la variable distribuida y es unidimensional,

siendo L el tamaño lineal del cristal. Hay una distribución estadística puesto que los cristales no se forman todos en el mismo instante, sino en diferentes instantes de tiempo y, por tanto, crecen a velocidad constante, partiendo de medidas diferentes, que corresponden al tiempo en que se han nucleado.

N(L) nos da el número de cristales por unidad de volumen que tienen un tamaño comprendido entre 0 y L. Por tanto, N/V es la concentración de estos cristales en el magma (v. fig. 11.6, derecha) y N(L) representa la suma de todos estos cristales hasta L. N/V se expresa en cristales/m^3.

La densidad de probabilidad, n(L), se define como la derivada de la función N en L = L (v. fig. 11.7, izquierda), o sea:

$$n(L) = \frac{d(N/V)}{dL} = \frac{1}{V}\frac{dN}{dL} \tag{11.20}$$

e, inversamente, la función de densidad acumulada será, pues, la integral siguiente:

$$N(L) = V\int_0^L n(L)dL \tag{11.21}$$

y la relación entre ellas, es:

$$dN = n(L)VdL \tag{11.22}$$

Las relaciones entre N y n se ilustran en la figura 11.7. Obsérvese que las unidades de N/V son cristales/m^3. Y las unidades de n(L) son cristales/m^4. Con estas relaciones, si tenemos la función N(L), obtenemos por diferenciación n(L). E inversamente, por integración de n(L), obtenemos N, como resulta evidente de las relaciones anteriores.

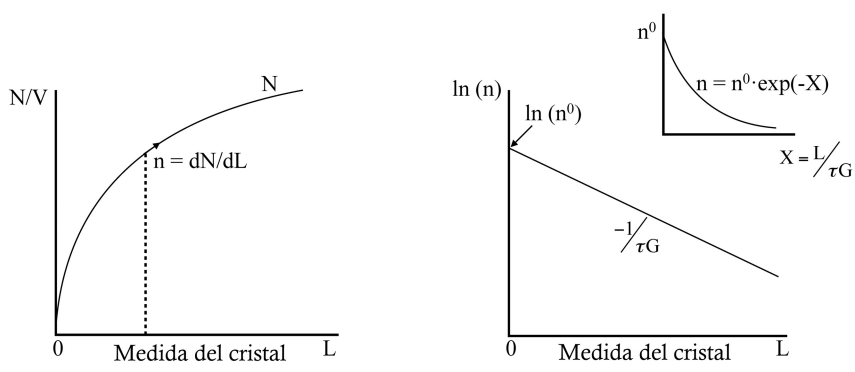


Fig. 11.7
A la izquierda, relación entre la densidad de probabilidad, n, y el número de cristales, N. A la derecha, en un CSTC, el ln (n/n^0) *vs.* L es una recta en un gráfico *semi-log* inserto. La distribución de las medidas de los cristales es la ley exponencial $n = n^0 \exp(-X)$

Veamos ahora la relación entre n(L) y el tiempo de retención en un cristalizador continuo de mezcla perfecta (o CSTC). Calculamos estas funciones de distribución a partir de las velocidades de cristalización en el tanque. Considérese la figura 11.6 (derecha) y obsérvese la zona rayada de anchura ΔL. En un tanque en estado estacionario, se produce una generación continua de partículas que tienen un tamaño *inferior a L = L*. Este grupo de partículas crece como indica la flecha de la izquierda de la figura 11.6 y pasan a engrosar la población de tamaño L + ΔL. Por otra parte, obsérvese la flecha de la derecha del grupo de partículas de L+ ΔL. Estas partículas crecerán y se harán *más grandes* que L

+ΔL, con lo cual empobrecerán la población. En estado estacionario, el grupo de partículas de la zona rayada tiene que ser constante. La diferencia de la población de las partículas comprendidas entre L = L y L + ΔL tiene que ser constante; por tanto, en la corriente de salida del tanque, tiene que haber el grupo de partículas en exceso. Ello se representa en la figura 11.6. Hacemos ahora este balance con ecuaciones.

Cristales por unidad de tiempo que alcanzan un tamaño L = L:

$$\left.\frac{dN}{dt}\right|_L = n(L)V\frac{dL}{dt} = (VGn)\Big|_L \tag{11.23}$$

Cristales que desaparecen por crecimiento fuera del intervalo L, L + dL:

$$\left.\frac{dN}{dt}\right|_{L=L+dL} = n(L+dL)V\frac{dL}{dt} = (n+dn)VG\Big|_{L+dL} \tag{11.24}$$

que, en estado estacionario, se tiene que igualar al caudal de salida de partículas de tamaño L, es decir:

$$(VGn)\Big|_L - (n+dn)VG\Big|_{L+dL} = QndL \tag{11.25}$$

siendo Q el caudal volumétrico de salida (igual a de entrada). Reordenando esta ecuación, tendremos:

$$-\frac{d(nG)}{dL} = \frac{n}{\tau} \tag{11.26}$$

donde τ = V/Q es el tiempo medio de residencia del fluido en el tanque. Como G se toma independiente de L, dividiendo la ecuación anterior por G queda:

$$\frac{dn}{dL} + \frac{n}{G\tau} = 0 \tag{11.27}$$

que es el balance en estado estacionario de un cristalizador continuo de mezcla perfecta, que tiene solución fácil. Primero, hacemos el cambio de variables de L a X, en que X es la nueva variable que globaliza el tamaño L; τ es el tiempo de residencia en el CSTC, y G es la velocidad de crecimiento de los cristales. Es decir:

$$X = \frac{LQ}{GV} = \frac{t}{\tau} \tag{11.28}$$

La ecuación de balance con la variable X se transforma, separando variables, en:

$$\frac{dn}{n} = -\frac{dL}{G\tau} \tag{11.29}$$

que, integrada entre los límites siguientes:

$$\begin{aligned} L &= 0 \qquad n = n^0 \\ L &= L \qquad n = n \end{aligned} \tag{11.30 a, b}$$

da:

$$n = n^0 \exp(-X) \tag{11.31}$$

o, lo que es lo mismo:

$$\ln \frac{n}{n^0} = -X = \frac{-L}{G\tau} \tag{11.32}$$

donde n^0 representa los núcleos de cristalización/m^3 presentes inicialmente. La ecuación 11.32 es la función de densidad de probabilidad, o número de cristales de cada medida, L.

La ecuación, n(X), es el punto de partida para calcular las curvas de distribución de la población de cristales, las medidas de los cristales, el área y el volumen o la masa de los cristales. Nótese que, con este modelo, la distribución obtenida debe dar una función tal que el ln (n/n^0) respecto de X o L sea una recta de pendiente -1 /Gτ. Ello ocurre así, lo cual demuestra experimentalmente la validez del modelo teórico.

11.3.3 Momentos

Para calcular la concentración de cristales de tamaño L o inferior por unidad de volumen de aguas madres, basta con hacer la integral siguiente:

$$N/V = \int_0^L n dL \tag{11.33}$$

y el número total de cristales por unidad de volumen en las aguas madres valdrá:

$$N/V = \int_0^\infty n dL \tag{11.34}$$

Entonces, la fracción de cristales *de tamaño L o inferior* del total de cristales es el momento de orden cero, o sea:

$$\mu_0 = \frac{\int_0^L n dL}{\int_0^\infty n dL} = 1 - \exp(-X) \tag{11.35}$$

y su derivada respecto a X, valdrá:

$$\frac{d\mu_0}{dX} = \exp(-X) \tag{11.36}$$

en que la expresión 1-exp(-X) se obtiene de insertar $n = n^0 \exp(-X)$ en las integrales anteriores e integrar.

La expresión de μ de la figura 11.8 *a* (superior) es la distribución acumulada de la población de cristales. De la ecuación anterior, podemos obtener fácilmente la derivada. En la figura 11.8 *a* y *b*, se dan las curvas de distribución acumulada y diferencial, respectivamente, correspondientes a los momentos de la distribución dados por la expresión general siguiente. Así, por definición el momento de orden k de la variable X vale:

donde k es entero. Para k = 0, se obtiene la ecuación del momento de orden 0, que vale 1- exp(-X). Los valores de los momentos de orden 0 hasta el 3º se indican en la tabla 11.4 y en la figura 11.8. Para k = 1, el momento de 1º orden, es el tamaño medio de la distribución, o L media, y, para k = 3, corresponde al volumen o masa de la distribución. Los valores fraccionarios de los momentos acumulados corresponden a la retención sobre los tamices normalizados correspondientes a la X, calculada a partir de las aberturas de los distintos tamices.

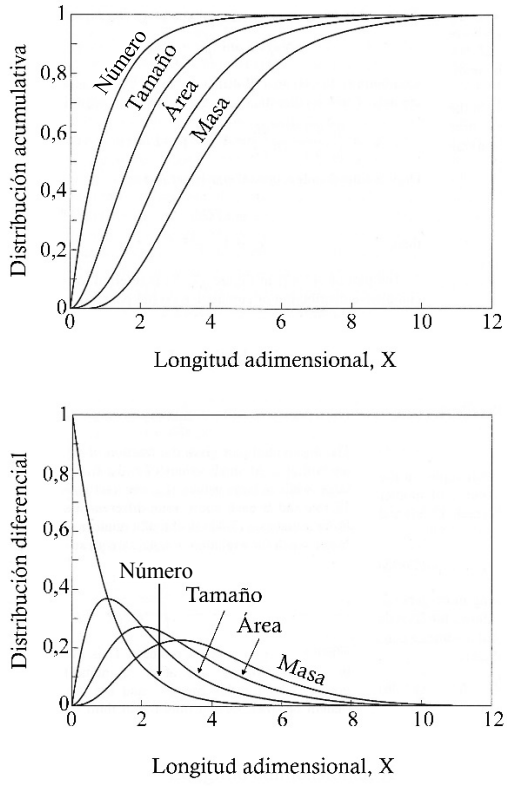


Fig. 11.8 Arriba, distribución acumulada del número, la medida, el área y la masa de cristales en un CSTC. Abajo, distribución diferencial

Tabla 11.4 Expresiones de los momentos de la DMC en un cristalizador bien mezclado ideal, X = L/G τ

Orden del momento, k	Variable	Distribución acumulada	Distribución diferencial
Cero	Número, n	$\mu_0 = 1-e^{-X}$	$d\mu_0/dX = e^{-X}$
Primero	Tamaño, L	$\mu_1 = 1-(1-X)\,e^{-X}$	$d\mu_1/dX = Xe^{-X}$
Segundo	Área, a	$\mu_2 = 1-(1+X+X^2/2)\,e^{-X}$	$d\mu_2/dX = X^2e^{-X}/2$
Tercero	Masa, m	$\mu_3 = 1-(1+X+X^2/2+X^3/6)e^{-X}$	$d\mu_3/dX = X^3e^{-X}/6$

Según la ecuación que define X, las cuatro funciones lineales y derivadas que nos dan las μ y sus derivadas se representan a escala en la figura 11.9, debida a McCabe-Smith

(1968). Para facilitar la comparación con los datos de los tamices normalizados, véase el ejemplo 11.3.

Las curvas de los momentos y las derivadas de la figura 11.9 tienen carácter universal, ya que corresponden a un cristalizador continuo de mezcla perfecta ideal (Mullen, 2007). Los subíndices m y n designan la masa y el número, respectivamente.

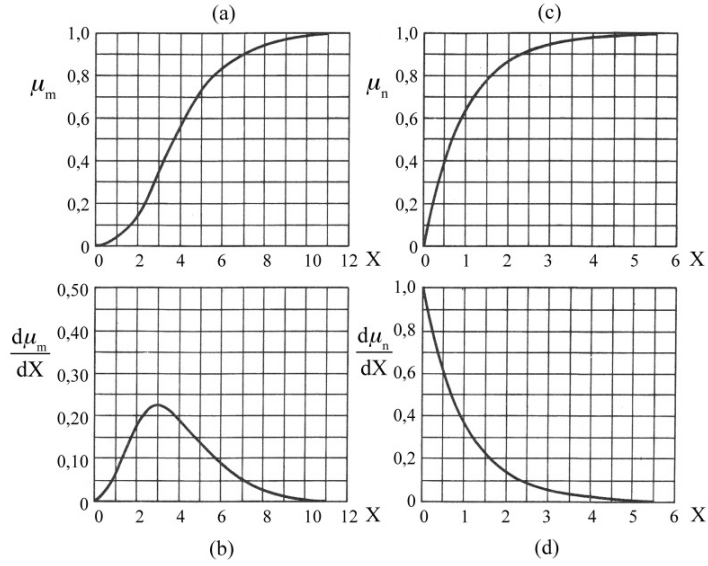


Fig. 11.9
Los momentos y sus derivadas: *a*) y *b*) distribuciones en masa; *c*) y *d*) distribuciones en número; *a*) y *c*) distribuciones acumuladas, y *b*) y *d*) distribuciones diferenciales de población. Estas curvas son universales para el flujo bien mezclado en un cristalizador continuo. Fuente: figura adaptada de McCabe-Smith (1968)

11.3.4 Tamaño de cristal predominante, más frecuente o de diseño

En la figura anterior (casos a y b), se ve que la distribución diferencial da un valor máximo cercano a X = 3, que corresponde al máximo de $d\mu_m/dX$ (fig. 11.9b). El valor que ello produce es el que da la máxima probabilidad. El tamaño de este cristal se denomina *tamaño predominante* y, estadísticamente, es la de máxima frecuencia, que para X= 3, vale:

$$L_p = 3G\tau \tag{11.38}$$

Este valor es el que se especifica cuando se quiere diseñar el cristalizador en términos de un tamaño específico de cristal. Podemos denominarlo *tamaño nominal* o *de diseño*.

11.3.5 Coeficientes cinéticos

Para utilizar la n de la distribución de población, $n = n^0 \exp(-X)$, el valor de τ lo fija el diseñador, pero los valores de G y n^0 dependen de la cinética de la cristalización. Las relaciones que se tienen que utilizar son B y n^0, que calculamos a continuación. En general, podemos escribir:

$$\lim_{L\to 0}\frac{dN}{dt} = \lim_{L\to 0}\frac{dL}{dt}\frac{dN}{dL} \tag{11.39}$$

en que la relación útil será la relación entre las tres derivadas cuando L = 0, que se puede escribir como:

$$B^0 = Gn^0 \tag{11.40}$$

que nos da la velocidad de nucleación inicial en función del valor inicial de n y de G.

11.3.6 Número de cristales por kg de producto

Sea V el volumen del magma. El número total de cristales por unidad de volumen valdrá:

$$\frac{n_c}{V} = \int_0^\infty ndL = \int_0^\infty n^0 e^{-x} \tau G dX = n^0 \tau G \tag{11.41}$$

entonces, la masa total de cristales por unidad de volumen de líquido será:

$$\frac{m_c}{V} = \int_0^\infty mndL \tag{11.42}$$

con las relaciones siguientes para esferas (v. ec. 11.14):

$$\begin{aligned} V_p &= \phi_v L^3 \\ m &= 6\phi_v \rho L^3 \\ L^3 &= X^3 (\tau G)^3 \end{aligned} \tag{11.43 a, b, c}$$

Luego, la integral anterior valdrá:

$$\frac{m_c}{V} = 6\phi_v \rho n^0 (G\tau)^3 \int_0^\infty X^3 e^{-x} dX = 6\phi_v \rho n^0 (G\tau)^4 \tag{11.44}$$

que representa la masa de cristales por unidad de volumen. Si utilizamos el tamaño L_p (tamaño predominante) como tamaño de diseño, podemos escribir la relación siguiente:

$$\frac{n_c}{m_c} = \frac{9}{2\phi_v \rho L_p^3} \tag{11.45}$$

11.3.7 Relación velocidad de nucleación *vs.* velocidad de producción

La velocidad de nucleación ha de ser suficiente para generar al menos un núcleo por cristal. Si denominamos C la producción de cristales, en kg /h, el requisito de nucleación por hora tiene ha de ser el siguiente:

$$B^0 = \frac{C' n_c}{m_c V} \tag{11.46}$$

donde n_c/m_c viene dado por la ecuación 11.45. Por tanto, la nucleación en función del tamaño predominante valdrá:

$$B^0 = \frac{9C'}{2\phi_v \rho V L_p^3} \tag{11.47}$$

Ejemplo 11.5. Cristalización continua de Mg SO_4: diseño del cristalizador y granulometría calculada

Queremos dimensionar un cristalizador continuo de tipo CSTC, que opera con una disolución saturada a 30ºC, en el cual se quiere obtener un producto de 20 mallas Tyler (v. anexo B, apertura: 0,833 mm). La producción será de 4.500 kg/h. El caudal volumétrico de suspensión previsto es de 14,58 m^3/h. Calcúlese el volumen del cristalizador y la velocidad de nucleación B^o necesaria, y estímese el análisis granulométrico previsto, suponiendo que el cristalizador opera en mezcla perfecta ideal. La tabla 11.2 indica que G a 30ºC vale $5,5\times10^{-4}$ m/h, independientemente del tamaño de las partículas.

Tomaremos un tamaño de 20 mallas Tyler como el tamaño predominante. De aquí, L_p = 0,833 mm, con un factor $\phi_v = 1$. El caudal volumétrico será Q = 143,58 m/h, con G = $5,5\times10^{-4}$ m/h, de manera que el tiempo medio de residencia en el cristalizador será:

$$\tau = \frac{L_p}{3G} = \frac{0,833\times10^{-3}}{3\times5,5\times10^{-4}} = 0,505h$$

El volumen del cristalizador para un tiempo de residencia de 0,505 h valdrá:

$$V = Q\tau = 14,58\times0,505 = 7,36m^3$$

La velocidad de nucleación necesaria será:

$$B^0 = \frac{9C'}{2\phi_v\rho VL^3} = \frac{9\times4.500}{2\times1\times1.750\times7,36\times\left(0,833\times10^{-3}\right)^3} = 2,72\times10^9 \text{ núcleos/m}^3\text{h}$$

El cálculo de los cristales será $n = n^0 \exp(-X)$, con X dado por la ecuación 11.32, y $B^o = G^0 n^0$:

$$\ln\frac{n}{n^0} = -X = -\frac{L}{G\tau}$$

Calculemos n^0:

$$n^0 = B^0/G = 2,72\times10^9/5,5\times10^{-4} = 4,945\times10^{12} \;\; nuc/m^4$$

de donde la DMC vendrá dada por la exponencial siguiente:

$$\ln n = \ln\left(4,945\times10^{12}\right) - \frac{L}{0,505\times5,5\times10^{-4}} = 29,23 - 3.600L$$

con L expresado en metros. La ecuación exponencial indica que ln n es una recta de pendiente $-1/G\tau = -3.600$, tal como sugiere la teoría. A partir de esta ecuación, podemos calcular la distribución granulométrica de los cristales calculando la fracción retenida en los tamices normalizados en función de X, tal como se expresa en la tabla siguiente del ejemplo 11.3 (v. anexo B):

Ejemplo 11.5
Granulometría prevista de los cristales *μ de la tabla 11.4

Mallas Tyler	Abertura del tamiz L (mm)	X	Acumulado* (fracción)	Diferencial (fracción)
6	3,36	12,1	1,00	0,00
8	2,37	8,5	0,97	0,03
9	1,98	7,1	0,92	0,05
10	1,65	5,9	0,84	0,08
12	1,41	5,1	0,75	0,09
14	1,19	4,3	0,62	0,13
16	1,00	3,6	0,48	0,16
20	0,84	3,0	0,36	0,12
28	0,58	2,1	0,16	0,10
35	0,49	1,8	0,10	0,06
42	0,34	1,2	0,04	0,06

11.4. Cristalización discontinua

En biotecnología, la cristalización continua tiene interés porque proporciona una base racional para entender qué ocurre en un cristalizador en que hay nucleación y crecimiento. Sin embargo, la cristalización de algunos bioproductos importantes se hace por cargas en discontinuo. Dos tipos operaciones son especialmente importantes:

- La cristalización en discontinuo, con una progresión de temperatura decreciente a fin de mantener constante la sobresaturación.

- La cristalización en discontinuo adicionando un no solvente (por ejemplo, etanol o metanol), que provoque la cristalización por disminución de la sobresaturación (v. *supra* 11.1.2).

Las dos modalidades se utilizan en la cristalización de antibióticos.

¿Por qué se hacen estas operaciones? En la figura 11.10, se muestran las tres opciones de disminución de la temperatura durante la cristalización que se realizan en la práctica. En el primer caso (fig. 11.10, a), es similar a lo que se hace en el laboratorio. Se deja que haya un enfriamiento natural del cristalizador al aire, que se traduce en una suave caída exponencial de la temperatura con el tiempo. Este enfriamiento es incontrolado y conduce a una morfología de cristales irregular y de calidad un tanto deficiente. En el segundo caso, se hace un enfriamiento lineal (b), basado en el control de la temperatura manipulando el caudal de refrigerante. Ello constituye una ligera mejora con respecto a la calidad de los cristales. La tercera opción consiste en imponer un perfil controlado de T *vs*. t; primero el enfriamiento es pequeño y, al final, más fuerte.

Este tipo de operación se practica, por ejemplo, en la cristalización de las tetraciclinas y en antibióticos similares. La variable optimizada es la temperatura de operación durante

el proceso y la variable manipulada es el caudal de refrigerante, de acuerdo con un programa establecido. Veamos, a continuación, un tratamiento sencillo del diseño de la operación cuando imponemos la condición de sobresaturación constante.

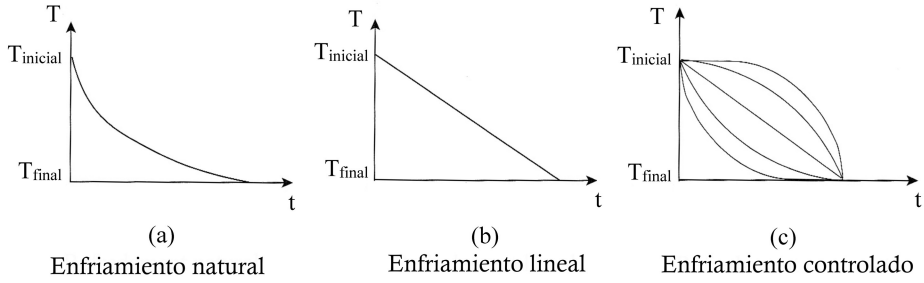


Fig. 11.10
Diferentes perfiles de temperatura-tiempo posibles en un cristalizador por cargas: *a*) enfriamiento natural; *b*) lineal variando el caudal de refrigerante, y *c*) perfiles impuestos variando el caudal de refrigerante

11.4.1 Enfriamiento: Perfil Temperatura-Tiempo a sobresaturación constante

Al principio del proceso en discontinuo, con unas altas velocidades de enfriamiento, se produce una gran nucleación, que da lugar a cristales pequeños, no uniformes, que ensucian las superficies de transmisión de calor. Una estrategia adecuada es mantener constante la sobresaturación durante el enfriamiento.

Puesto que hemos estudiado el balance de población de los cristales con las funciones n (L) y N (L), seguiremos utilizando esta aproximación de forma sencilla.

Durante el proceso, mantendremos la derivada dT/dt o la curva de enfriamiento, de modo que el cambio de T *vs*. t sea proporcional a la velocidad de cristalización; es decir, impondremos que:

$$\frac{dT}{dt} = -\frac{1}{k_T}\frac{dC}{dt} \tag{11.48}$$

siendo C la concentración de soluto disuelto que cristaliza y k_T una constante empírica fácilmente calculable en la práctica. La ecuación de balance en una operación discontinúa, basada en la ecuación de continuidad, tendrá *en discontinuo* la forma siguiente:

$$\frac{dn}{dt} + \frac{d\left(nG\right)}{dL} = 0 \tag{11.49}$$

El miembro de la derecha de esta ecuación es ahora 0 porque, en discontinuo, los caudales de entrada y de salida son nulos (solo dejamos cristalizar, sin adicionar ni extraer nada). La ecuación de continuidad (11.49) indica que la variación de n(L) con el tiempo es igual al aumento del número de cristales (para el caso en que los volúmenes de líquido y de cristales sean iguales). La ecuación 11.49 anterior tiene una solución analítica, utilizando la transformada de Laplace, que ha sido publicada por diversos autores (Belter *et al*., 1988).

En t = 0, son posibles dos condiciones iniciales: 1) que haya cristales de siembra puestos expresamente y 2) que se produzca nucleación homogénea en curso. Ello determina el valor inicial n^o.

Para al caso de la adición de semillas de siembra, la solución de n (t) es (García *et al*., 2003):

$$n(t) = n^0 \delta(t - L/G) \tag{11.50}$$

donde δ es la función impulso de Dirac, en t = L/G.

Para la nucleación homogénea, sin siembra de cristales, se tiene:

$$n(t) = n^0 G u(t - L/G) \tag{11.51}$$

donde *u* es el escalón unitario en t = L/G. En ambos casos, la n(t) que resulta tiene una expresión sencilla.

Por otra parte, la masa de cristales se puede calcular en función de L resolviendo la siguiente integral:

$$M = \rho \phi_v \int_0^L n L^3 dL \qquad L \to \infty \tag{11.52}$$

insertando n(t) bajo la integral, haciendo el cambio, dL = G dt, e integrando con respecto al tiempo t. Así, se obtiene:

$$M = \frac{\phi_v \rho}{4} B^0 G^3 t^4 \quad \text{o bien} \quad \frac{dM}{dt} = \phi_v \rho B^0 G^3 t^3 \tag{11.53}$$

Sobresaturación constante. Para calcular el perfil T *vs*. t, utilizamos ahora la última derivada, la ecuación de dT/dt anterior y un balance global. La ecuación que relaciona el balance global con la masa de cristales presentes en la fase de cristales es:

$$\frac{dM}{dt} = -\frac{dC}{dt} \tag{11.54}$$

de donde, utilizando la dM/dt encontrada, ec.(11.53), la variación de T con t será:

$$\frac{dT}{dt} = -\phi_v \rho B^0 G^3 t^3 \tag{11.55}$$

que se puede integrar entre los límites siguientes: para t = 0, T = T_0, y para t = t_f, T = T_f, siendo T_f la temperatura final y t_f, el tiempo final. En la práctica, estos valores estarán especificados. La integral T-t se obtiene separando variabnles en la última ecuación, es decir:

$$\int_{T0}^{T} dT = -\frac{\phi_v \rho B^0 G^3}{k_T} \int_0^t t^3 dt \tag{11.56}$$

que, integrando, da la expresión del perfil de T (t), siguiente:

$$T = T_0 - \frac{\phi_v \rho B^0 G^3}{4k_T} t^4 \qquad (11.57)$$

que es *el perfil de enfriamiento* T-t durante la operación de cristalización por cargas, a sobresaturación constante. En esta ecuación, T_0 es la temperatura inicial en que se empieza a enfriar y T, la temperatura de consigna del control automático del cristalizador a t = t, el cual permite manipular el caudal de refrigerante. Su integración nos da el perfil T-t.

Muy a menudo, no disponemos de los valores numéricos precisos de todos los parámetros que aparecen a la ecuación 11.57. Solo sabemos que son constantes durante el enfriamiento. Sin embargo, podemos calcular el perfil realizando los cambios siguientes, con el razonamiento que se expone a continuación. Sean T_0 la temperatura inicial a t = 0 y T_f la temperatura final correspondiente al tiempo final t_f. La diferencia $T-_0T$ es el descenso de temperatura durante el cual se realiza la cristalización. Reordenando la ecuación anterior, podemos escribir la relación siguiente, que se cumple durante el enfriamiento:

$$\frac{T_0 - T}{T_0 - T_f} = \left(\frac{t}{t_f}\right)^4 = \theta^4 \qquad (11.58)$$

donde θ es la relación t/t_f, que es la fracción del tiempo de operación con respecto al tiempo final. Es decir, es la fracción de tiempo de la operación hasta el final. En la práctica, t_f es del orden de unas pocas horas. La expresión anterior nos proporciona la curva de enfriamiento. En el ejemplo 11.6, se explica cómo calcularla para la cristalización de tetraciclina.

Ejemplo 11.6. Cristalización de tetraciclina por cargas: curva de enfriamiento

Diversos autores (Belter *et al*., 1988) han publicado los parámetros cinéticos de esta cristalización. La tetraciclina se sabe que cristaliza en el sistema cúbico y la densidad de los cristales es de 1,06 g/cm^3. El proceso se inicia en 20ºC y la temperatura se disminuye hasta 0ºC, manteniendo constante la sobresaturación, que se estima que vale 0,01 g/cm^3. Se conocen los datos siguientes: velocidad de nucleación = 0,1 núcleos/cm^3/s y coeficiente de transferencia de masa hacia el cristal = 6,5 × 10^{-5} cm/s.

Se desconoce la constante de proporcionalidad k_T, pero se sabe que, para un volumen de disolución de V = 1 L y una concentración inicial de C_0 = 100 g/l de tetraciclina y C final, el tiempo de cristalización es de unas 2 horas, así pues, bajando la T a una velocidad de unos 10ºC/h. La C final se supone 0.

Tomando la hipótesis de sobresaturación constante y nucleación propia:

a) Calculese k_T.

b) Calcúlese la curva de enfriamiento T-t.

a) Recuérdese que la expresión del tiempo de enfriamiento es:

$$t_f = \left(\frac{4k_T \left(T_0 - T_f \right)}{\phi_v \rho n^0 G^3} \right)^{1/4}$$

que nos proporciona el tiempo necesario para enfriar de T_0 a T_f a sobresaturación constante.

Tenemos todos los parámetros, excepto k_T. Si, de un volumen V = 1 L, cristalizan 100 g de tetraciclina hasta prácticamente 0 en las aguas madres en unas 1-3 horas (~2 horas), tendremos que la constante k_T ha de valer, aproximadamente:

$$\frac{\Delta C}{\Delta t} = \frac{100/1}{2} = 50 g/L/h = k_T \times 10^{\circ}\text{C/h} \quad \Rightarrow \quad k_T = 5 \times 10^{-3}\ \text{g/cm}^3\,^{\circ}\text{C}$$

Entonces, el valor de t_f se obtiene de la ecuación anterior como:

$$t_f = \left(\frac{4k_T \left(T_0 - T_f \right)}{\phi_v \rho n^0 G^3} \right)^{1/4} = \left(\frac{4 \times 5 \times 10^{-3} \times 20}{1,06 \times \left(\frac{0,100}{1,2 \times 10^{-6}} \right) \left(1,2 \times 10^{-6} \right)^3} \right)^{1/4} = 7.140 s = 1,98 h$$

Es decir, imponemos 1,98 h para bajar de 20 a 0ºC manteniendo la sobresaturación constante. Con este valor, podemos calcular la curva de enfriamiento siguiente, T *vs*. t:

$$\frac{T_0 - T}{T_0 - T_f} = \left(t/t_f \right)^4$$

$$\frac{20 - T}{20} = \left(t/1,98 \right)^4$$

con T_f = 0ºC y t_f = 1,98 h. La curva T *vs*. t del cristalizador se obtendrá a partir de la ecuación anterior. Calculando a cada t, tendremos los valores de T:

t/t_f	$(t/t_f)^4$	T, en ºC
0	0	20
0,2	0,0016	19,9
0,6	0,129	17,4
0,7	0,240	15,2
0,8	0,41	11,8
0,9	0,65	6,8
0,95	0,81	3,7
0,98	0,92	1,55
1,00	1,00	0

que se representa en la figura del ejemplo 11.4.

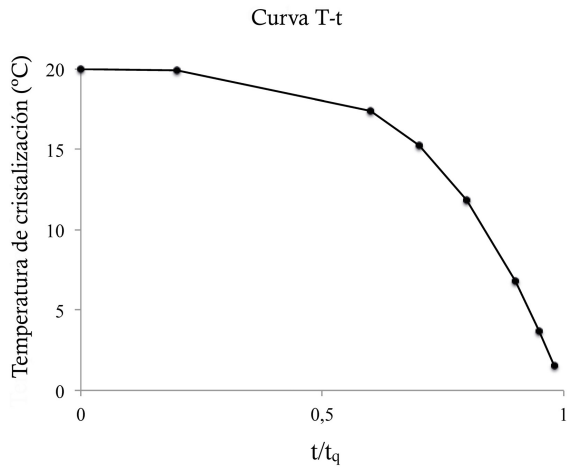


Fig. 11.11
Cristalización de tetraciclina por cargas. Perfil T-t calculado

11.4.2 Cristalización discontinua con dilución

Del mismo modo que la sobresaturación es fácilmente alcanzable con enfriamiento, la solubilidad de una molécula biorgánica se puede disminuir con la adición de un diluyente no solvente miscible en agua; por ejemplo, etanol u otro alcohol. Cuando se ha estudiado la sobresaturación, hemos visto que el efecto de un no solvente D sobre la sobresaturación se puede escribir como:

$$\ln \frac{C}{Cs} = a - bD \tag{11.59}$$

donde C/Cs = S es la sobresaturación expresada como cociente, y las constantes *a* y *b* son valores experimentales que correlacionan el cambio de sobresaturación con la concentración del diluyente, D. La ecuación anterior se puede escribir como:

$$C = Cs \exp(a - bD) \tag{11.60}$$

cuya derivada con respecto a t valdrá:

$$\frac{dC}{dt} = Cse^{a-bD}(-b)\frac{dD}{dt} \tag{11.61}$$

donde Cs es la concentración de saturación y dD/dt es el cambio que hemos de realizar durante el proceso de adición del no solvente. Operamos igual como hemos hecho la operación de cambio de temperatura. Imponemos que la velocidad de adición de D sea proporcional al cambio del grado de sobresaturación. Como antes, tenemos:

$$\frac{dC}{dt} = \phi_v \rho B^0 G^3 t^3 \tag{11.62}$$

Entonces, hacemos:

$$\frac{dC}{dt} = \frac{dC}{dD} \times \frac{dD}{dt} \tag{11.63}$$

y, sustituyendo las derivadas, obtenemos:

$$-Csb\exp(a-bD)\frac{dD}{dt}=-\phi_v\rho B^0G^3t^3 \tag{11.64}$$

Separando variables, podemos integrar la expresión resultante, que da:

$$\exp(a-bD)dD=\frac{\phi_v\rho B^0G^3t^3dt}{Csb} \tag{11.65}$$

de donde se obtiene el valor de D (t) de forma explícita, como:

$$D(t)=-\frac{1}{b}\ln\left(1-\frac{\phi_v\rho B^0G^3}{4Cs}t^4e^{-a}\right) \tag{11.66}$$

D (t) es la evolución necesaria de la concentración de solvente a cada tiempo t, para Cs = constante.

Para ver las magnitudes que intervienen en un sistema con dilución, véase el ejemplo siguiente.

Ejemplo 11.7. Cristalización con un no solvente

Calcúlese cuánta proteína precipita cuando 2 L de solución acuosa que contiene 50 g/L de proteína se añaden a 5 L de etanol puro, y ello da una concentración de 0,5 g/L relativos al solvente final de etanol más agua.

Proteína inicial en los 2 L:

$$2\times 50=100g$$

$$100-0,5\times(5+2)=100-3,5=96,5g$$

La proteína precipitada será 96,5 g y quedarán en disolución 3,5 g.

11.4.3 Cálculo del proceso de cristalización con dilución

En el apartado 11.4.2, se han dado las expresiones de la cristalización en *semicontinuo* en función de unos parámetros cinéticos. Así, las ecuaciones 11.62 a 11.66 son exactas y se pueden aplicar si se conocen los parámetros cinéticos, pero en general no se dispone de estos datos. En el ejemplo 11.7, se verá que los parámetros de la expresión de la ecuación 11.59 se pueden obtener con un mínimo de datos experimentales. Así pues, en los ejemplos 11.8 y 11.9, se estudia la solubilidad relativa (con respecto al agua pura, a igual T) de la L-serina en soluciones de MeO+H_2O, a una temperatura determinada. Así, se puede obtener una expresión del tipo de la ecuación 11.59 por regresión.

A continuación, avanzamos un modelo cuantitativo de la cristalización con dilución en semicontinuo. Nos referimos al proceso de la figura 11.12, en que se muestra la adición del diluyente.

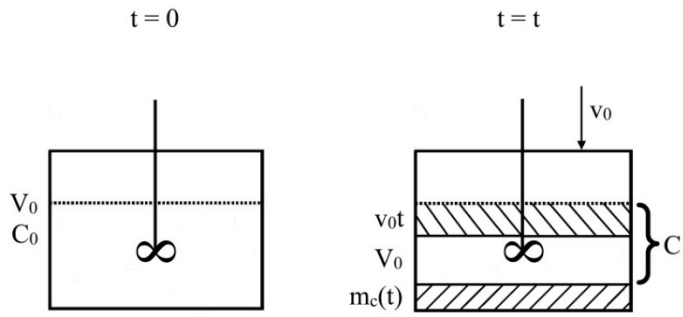


Fig. 11.12 Cristalización por cargas para al caso de adición de no solvente. v_0 = caudal de alimentación de diluyente; V_0 = volumen de solución inicial; $m_c(t)$= masas de cristales producidos a tiempo t=t; C_0= concentración inicial de soluto disuelto

En t = 0, tenemos un volumen V_0 de solución acuosa saturada a la temperatura T = T y, por tanto, la concentración C_0 es igual a la concentración de saturación en T = T, es decir, $C_0 = C_s$ (T). En t = 0, el caudal de adición de MeOH es 0, es decir, $v_0 = 0$. Hay una determinada agitación constante que asegura la buena mezcla del MeOH añadido al tanque. Empezamos la adición de MeOH; el volumen total de líquido en t = t > 0 cumplirá:

$$\frac{dV(t)}{dt} = v_0 \quad \text{o bien} \quad V(t) = V_0 + v_0 t \tag{11.67}$$

Con la adición de MeOH en t > 0, se empiezan a formar cristales, que precipitan como fase sólida. El valor de D definido en 11.4.2, expresado en % en volumen de no solvente, en t = t valdrá:

$$D(t) = \frac{100 v_0 t}{V_0 + v_0 t} = \frac{100}{\dfrac{V_0}{v_0 t} + 1} \tag{11.68}$$

y la masa de cristales formados en t = t valdrá:

$$m_c(t) = V_0 C_0 - V(t) C \tag{11.69}$$

donde V(t) viene dado por la ecuación integrada 11.67 . Utilizando la ecuación 11.59 para expresar la concentración de soluto cuando D = D(t), la masa de cristales formados en t = t será:

$$m_c(t) = V_0 C_0 - (V_0 + v_0 t) C_s \exp[a - bD(t)] \tag{11.70}$$

donde D(t) viene dado por la ecuación (11.68). Para ver cómo se aplican las ecuaciones en la práctica, véanse los ejemplos 11.8 y 11.9.

En la figura 11.13, se representa la solubilidad relativa de la L-serina en disoluciones acuosas de MeOH, con respecto al agua pura, a 10ºC y a 30ºC, en función del % de volumen de MeOH. La información de la figura 11.13 es fundamental para poder calcular la cristalización por dilución (v. ejemplos 11.8 y 11.9).

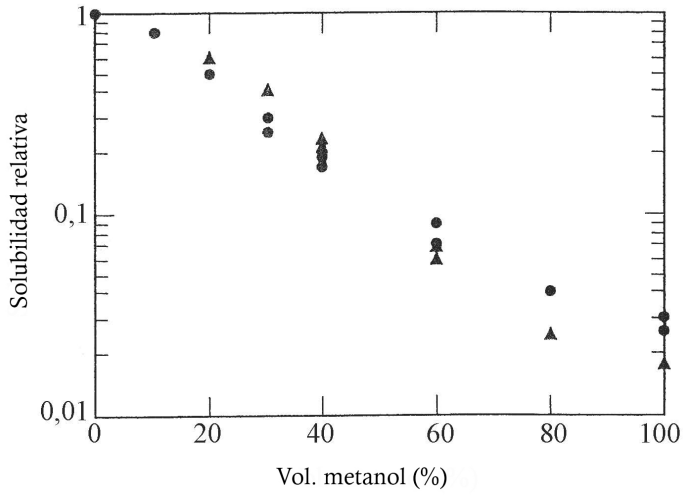


Fig. 11.13 Solubilidad de L-serina en mezclas agua-metanol; solubilidad de L-serina en agua, a la misma temperatura (solubilidad relativa), en función del % de volumen de metanol en el medio. Los triángulos equivalen a 30ºC, los círculos, a 10ºC. Véanse los ejemplos 11.8 y 11.9

Ejemplo 11.8. Cristalización por adición de diluyente

La solubilidad relativa (con respecto al agua pura, a igual T) de la L-serina en mezclas acuosas de metanol y agua fue estudiada por Charmoleu y Rousseau. En agua pura, a una temperatura T (en ºC), la solubilidad se puede expresar como:

$$Cs\ (g/1.000\ mL\ de\ agua) = 146{,}13 + 8{,}0834\ T\ (para\ T = 3{,}5ºC\ a\ 50ºC)$$

Las solubilidades en soluciones acuosas de metanol valen, en función de D = %vol. de MeOH, los valores de la tabla siguiente (columnas 1ª y 2ª) y representan las solubilidades relativas, en este caso, a 10ºC:

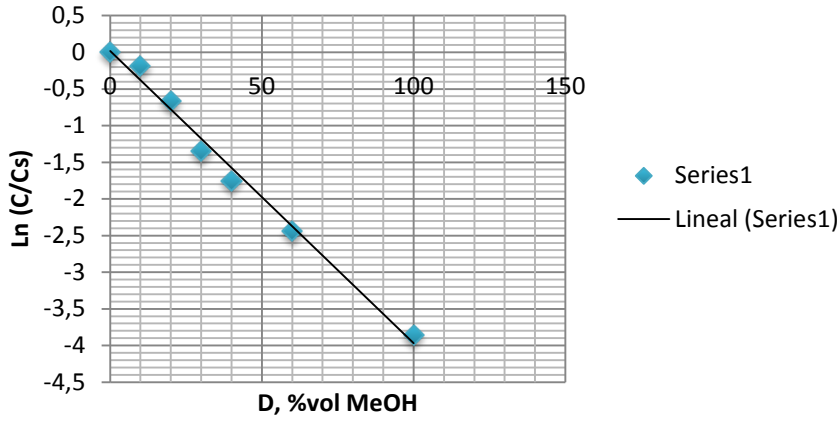
D % vol.	C (g/100 mL)	Sol. relativa $(C/Cs)_D$	ln $(C/Cs)_D$
0 (en agua pura)	22,69	1	0
10	19,	0,83	-0,186
20	11,576	0,51	-0,67
30	5,951	0,26	-1,35
40	3,957	0,171	-1,75
60	1,97	0,087	-2,44
80	0,037	0,037	-3,29
100	0,592	0,026	-3,85

Valores de C *vs*. D a T = 10ºC (v. Charmoleu y Rousseau, *AIChE J*, 1991, 37, 1121)

En las columnas 3ª y 4ª, se produce la disminución calculada de la solubilidad de la L-serina a concentraciones crecientes del % D, de acuerdo con las ecuaciones 11.8 y 11.59, con respecto a la solubilidad en agua pura a la misma temperatura. Los valores de C y D son experimentales.

1. Calcúlense los coeficientes a y b de la ecuación 11.59, ln (C/Cs) = a - b D, donde D es el % vol. de MeOH.

1. Para calcular la expresión teórica de la ecuación 11.59, hacemos la regresión de ln C/Cs *vs.* D dado de la 4ª columna respecto de la 1ª columna, *sin obligar* que la recta de regresión pase por el origen.



La expresión que se obtiene es la siguiente:

$\ln (C/Cs)_D = a - bD$, con a = 0,016 y b = 0,0398, y con D expresado en % vol. de MeOH (R^2 = 0,988), con un valor de la ordenada en el origen próximo a 0, pero que es significativo y que refleja el valor de la sobresaturación.

Esta expresión es útil para calcular el proceso de cristalización de la L-serina por dilución, como se muestra en el ejemplo 11.9.

Ejemplo 11.9. Cristalización de la L-serina por adición de un no solvente: cálculo del proceso en la práctica

Se quiere purificar L-serina obtenida como metabolito en un proceso de fermentación. Se disuelven 22,5 kg en 50 L de agua destilada a 50ºC a fin de asegurar la disolución completa, en un tanque de cristalización con buena agitación. Entonces, se enfría a 10ºC para saturar la solución a esta temperatura. Acto seguido, se empieza a añadir MeOH a razón de 6 L/min, durante un tiempo total de adición de 12,5 min. Previamente, en el laboratorio se ha demostrado que este caudal de adición da una pureza correcta del soluto.

1) Calcúlese la concentración de L-serina al principio del proceso a T = 10ºC y la sobresaturación que se tendrá a t = 0.

2) Calcúlese el % vol.de MeOH en la solución acuosa, *a la mitad del período de adición*; la concentración de soluto en el líquido del tanque, y la masa de cristales precipitados hasta ese momento.

3) Calcúlese la masa de cristales formados durante toda la dosificación.

Nota**:** Utilice la expresión numérica de ln C/Cs = a - bD del ejemplo anterior para calcular C a cada tiempo t, con a = 0,016.

1) Para D = 0, tenemos V_0 = 50 L, C_0 = 22,5/50 = 0,45 kg/L = 45 kg/100 kg H_2O, de donde VC_0 = 22,5 kg de serina. Podemos suponer que la sobresaturación inicial, C/Cs, vale: $(C/Cs)_{D=0}$ = exp(a) = exp (0,016) = 1,016 (en agua pura), que es un valor habitual en la cristalización.

2) A la mitad del período de adición, para t = 6 min, aplicando la ecuación 11.68 para un caudal de v_0 = 6 L/min, tendremos:

$$\%D = \frac{100 \times 6t}{50 + 6t} = \frac{100 \times 6 \times 6}{50 + 6 \times 6} = 42\%$$

Aplicando ahora la ecuación 11.69, la masa de cristales formados en t = 6 min valdrá:

$$V_0 C_0 - (50 + 6 \times 6) \times 0,45 \times \exp(0,016 - 0,0398 \times 42) = 15 \text{ kg}$$

de donde m_c (t = 6) = 15 kg de cristales.

3) La resolución de la ecuación 11.69 a diversos tiempos da la masa de cristales a lo largo del proceso de cristalización. Así pues:

Tiempo, t, en min	**V_0+v_0t, en L**	**D(t), en % vol.**	**C, en kg/L**	**Cristales, en m_c(t), kg**
0	50	0	0,45	0
4	74	32,4	0,13	13,2
6	86	41,9	0,09	15,1
8	98	49	0,07	16,1
12,5	125	60	0,04	17,3

Los resultados del ejemplo 11.9 serán correctos si el caudal de adición, v_0 = 6 L/min es *suficientemente lento* para asegurar que solo cristalice L-serina. Si es demasiado rápido, la pureza se verá afectada. Charmoleu y Rousseau señalan la influencia de diversas variables que afectan la pureza de la L-serina obtenida.

Las variables de operación que influyen más son la intensidad de agitación y la velocidad de enfriamiento, que en este ejemplo no se han considerado. La optimización de las tres variables (velocidad de adición, velocidad de enfriamiento y agitación) se debe hacer en la planta piloto.

11.5 Cristalizadores industriales

Como ya hemos visto, los dos métodos de producir la sobresaturación de la disolución inicial son el enfriamiento y la evaporación. Hay cuatro tipos de cristalizadores, que resumimos a continuación y que se relacionan en la tabla 11.5, junto con sus campos de utilidad. En la tabla 11.6, se indican las diferencias entre los cristalizadores por cargas y las unidades continuas.

En primer lugar, conviene saber si la operación se hará por cargas o en continuo. El método por cargas generalmente es casero, pero requiere controlar más variables. Por el contrario, el diseño continuo genera una mayor producción y, por tanto, puede no ser adecuado en biotecnología, en que se tienen producciones pequeñas. En continuo, es usual más de una tonelada de cristales por hora, y caudales de 20 m^3 por hora.

Tabla 11.5
Tipo y selección de cristalizadores

Tipo de cristalizador	Aplicaciones	Ejemplos por producto
Tanque	Por cargas, escala pequeña	Ácidos grasos, aceites vegetales, azúcares, productos farmacéuticos
Superficie rascada	Ensuciamiento importante, viscosidad alta. Por cargas	Cloro-benceno, ácidos orgánicos, ceras, urea, naftalenos, productos farmacéuticos
Magma circulante	Cristales grandes, gran capacidad	Sales inorgánicas, KCl, etc.
Licor circulante	Cristales uniformes, gran capacidad	Sales inorgánicas, KNO_3 y Na, y Ag, cte.

Tabla 11.6
Comparación entre un cristalizador por cargas y un aparato continuo

Por cargas	Aparato continuo
Flexible	No flexible
Inversión pequeña	Elevado coste de inversión
Poco trabajo de desarrollo	Mucho trabajo de desarrollo
Mala reproducibilidad	Buena reproducibilidad

Podemos hablar de los aparatos siguientes:

Cristalizador de tanque. Es el tipo más simple y es el que utilizamos a pequeña escala. Enfriamos las aguas madres en un tanque equipado con agitador y un serpentín o camisa de doble fondo, por donde se alimenta vapor o agua de enfriamiento o agua glicolada fría. Trabaja por cargas y en el tanque se realizan todas las operaciones, una tras otra.

Cristalizador de superficie rascada. Es similar al de tanque, pero la superficie de transmisión de calor está rascadas para facilitar dicha transmisión . La cristalización en sí se produce fuera del tanque, en un canal agitado, como en los tipos Swenson-Walker o Wulff-Bock, que están provistos de un canal o una cuna oscilante, respectivamente. Las aguas madres se reciclan en el tanque. Producen cristales pequeños.

Cristalizador de magma circulante. Como se puede ver en la figura 11.14, se trata de un aparato de gran capacidad, en el que se produce mezcla perfecta gracias a la recirculación a través del intercambiador de calor y el reciclado en el evaporador que trabaja al vacío. Existen varios diseños en que la sobresaturación se lleva a cabo por evaporación al vacío o por circulación a través de un enfriador para bajar la temperatura y así lograr la sobresaturación (v. fig. 11.14, derecha).

Cristalizador de licor circulante. Puede verse también en la figura 11.14. En este tipo (tipo Oslo), solo circulan las aguas madres a través de la zona de calentamiento o enfriamiento. Los cristales se mantienen en suspensión y se retienen en la zona de cristalización. Este tipo de cristalizadores producen cristales más uniformes.

En biotecnología, o a escala reducida, podemos utilizar cristalizadores discontinuos de tanque o continuos de mezcla con fuerte agitación. No creemos que se utilicen los tipos de mayores dimensiones, teniendo en cuenta la reducida escala de operación propia de la biotecnología.

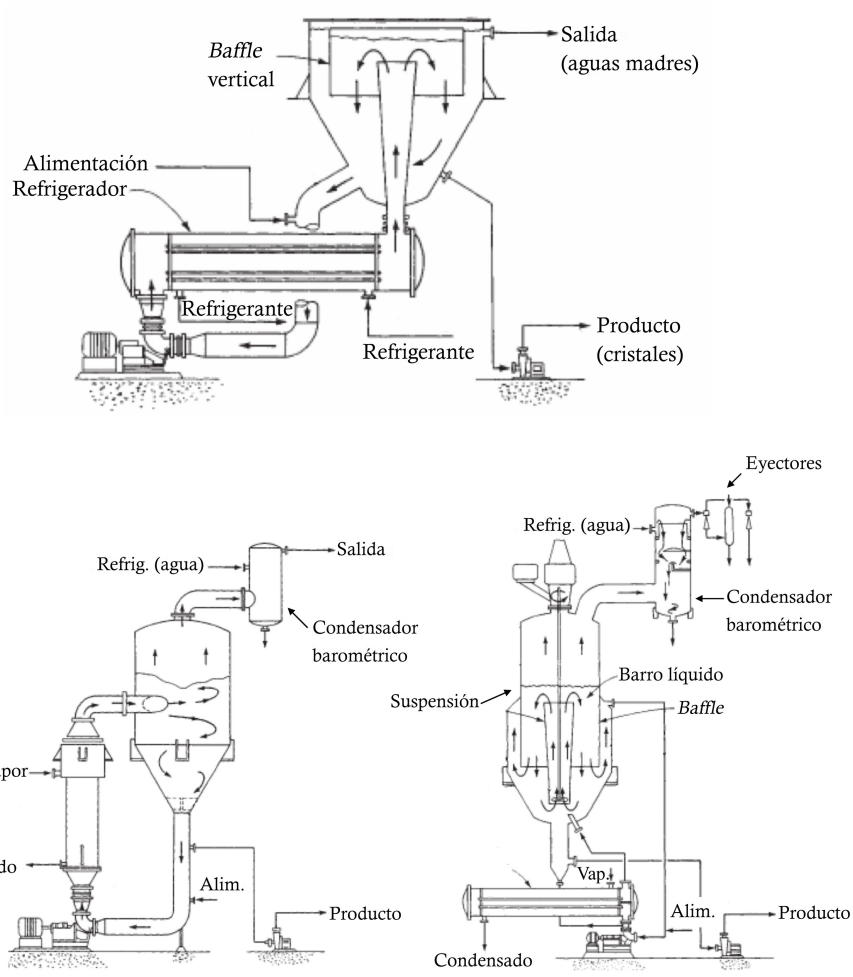


Fig. 11.14 Cristalizador por enfriamiento. El tanque superior actúa de separador de cristales (Perry-Green, 1997). Abajo, a la derecha, cristalizador de recirculación de aguas madres de tipo Oslo. El depósito inferior decanta los cristales

11.6 Cambio de escala de los cristalizadores

Si nuestro departamento de investigación se encarga de realizar las pruebas piloto de un cristalizador agitado, hay que fijar las dimensiones de la unidad piloto para tener datos significativos. Además, es necesario tener presente el problema del aparato.

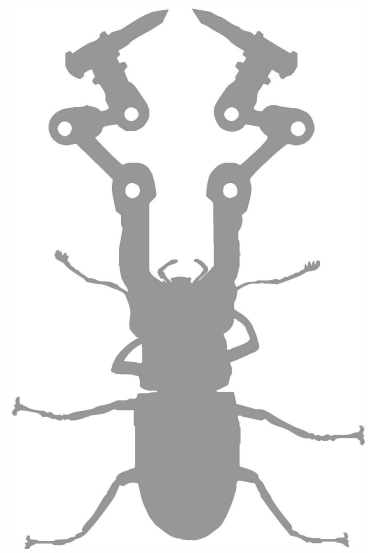
Por ejemplo, si queremos modelar un cristalizador agitado continuo grande (de 10 m^3 o más), habrá que realizar pruebas con un modelo que tenga, al menos, unos 20-30 L de volumen, con una suspensión real de cristales, es decir, con unas partículas de 30 a 500 micras, y observar la influencia de la velocidad del agitador en el nivel de la suspensión de las partículas mayores. El problema será, pues, reproducir la calidad de la suspensión líquido-sólido. En el capítulo 6 (precipitación de sólidos), hemos estudiado con detalle la extrapolación de los agitadores. Se recomienda al lector consultar el apartado 6.5 y los problemas 6.5.1 y 6.5.2, para ver cómo se efectúan los cálculos, que son similares a la cristalización.

Harrison (2003) recomienda estudiar modelos pequeños (1-2 L), pero los recipientes de cristalización pueden ser bastantes mayores. Téngase en cuenta que la densidad de los cristales puede ser grande (1.500 kg/m^3). El cristalizador será crítico con respecto a la agitación y a la suspensión de las partículas que tienden a sedimentar. Para una suspensión de grandes dimensiones, Dikey (Chopey, 1994) recomienda un factor de escala lineal de 10, es decir, con recipientes piloto de 0,5 a 0,8 m de altura o profundidad, y que además tengan semejanza geométrica.

Según algunos autores, tres aspectos son importantes: que el flujo sea turbulento, mantener constante la potencia por unidad de volumen (con n = 2/3) y controlar la velocidad mínima de suspensión de los *cristales mayores*. Sin embargo, para la suspensión de sólidos, Dikey recomienda más bien un criterio de extrapolación basado en un exponente de n = 3/4, en vez de 2/3, para aparatos grandes (de más de 10 m^3). Véase el capítulo 6 para los cálculos de extrapolación y los trabajos clásicos de agitación (Gates *et al*., 1976).

11.7 Nomenclatura

A	Àrea, en m^2
B^o	Velocidad inicial de nucleación, en núcleos/m^3.s
C/Cs	Sobresaturación, ec 11.5
C_0	Concentración inicial, en kg/kg agua
Cs	Concentración de saturación, en kg/kg agua
C´	Producción cristales, kg/s
D	Concentración diluyente, en % vol., ec. 11.68
d	Diámetro de la partícula, en m
ΔC	Sobresaturación
ΔH_f	Calor latente de fusión, en J/kg
ΔL	Aumento de longitud en un Δt, ec. 11.19
E	Coeficiente de reparto
F	Caudal, en m^3/s
G	Velocidad de crecimiento del cristal, en m/s
k_g	Coeficiente de transferencia de masa, en m/s
k_T	Constante empírica, ec. 11.48
L	Variable tamaño de cristal, en m, ec. 11.13
L_p	Tamaño de cristal predominante, m
M	Masa de cristales de tamaño entre 0 y L, en kg
N (L)	Número de cristales de tamaño 0 a L
n (L)	Densidad de probabilidad, cristales/m^4
n^o	Núcleos iniciales, núcleos/m^4
n_c	Número total de cristales
m_c	Masa total de cristales, en kg
Q	Caudal, en m^3/s
R_g	Cte. gas ideal = 0,083 bar·m^3/kmol· K
Sp	Superficie de una partícula, en m^2
S	Sobresaturación, ec. (11.5)
t	Tiempo, en s
T	Temperatura inicial, T_0, y final, T_f
T_m	Temperatura de fusión, en K
u(t)	Escalón unitario en t=0
V	Volumen de magma, en m^3
v_0	Caudal en cristalización con dilución, en m_3/s
Vp	Volumen de una partícula, en m^3
X	Tamaño adimensional de L, X= LQ/GV
x_s	Solubilidad ideal, fracción molar
β	Factor de separación, de dos solutos, A y B
δ (t)	Impulso de Dirac en t=0
σ	S^{-1}
μ_k	Momento de orden k, ec. 11.37
τ	Tiempo medio de residencia, V/Q, en s
ϕ	Factores de forma, ec. 11.15 y 11.16
θ	T/T_f
ρ	Densidad de los cristales,en kg/m^3



Secado

La cristalización y el secado de sólidos son operaciones adicionales de acabado del bioproducto que forman parte de los procesos normales de la planta de producción y no son específicas de la biotecnología –el secado, por ejemplo, es muy común en la industria química, de polímeros y de alimentos. Sin embargo, las condiciones de suavidad del bioproducto en que tiene que llevarse a cabo el secado y las tendencias modernas (con respecto a los tipos de secaderos más frecuentes en biotecnología) hacen que aquí estudiemos este proceso con una cierta amplitud. En la gran industria (p. ej., en la producción de polímeros), se procura eliminar la humedad libre mecánicamente antes de utilizar el secado, que requiere calor. La centrifugación o la filtración convencional de partículas permiten reducir el porcentaje de humedad del sólido más económicamente que el secado. En biotecnología, sin embargo, los costes diferenciales de un proceso u otro no son tan decisivos como en otras industrias. Y son más importantes factores tales como la estabilidad del producto en el secado.

En este capítulo, se presentan primero los aspectos generales de los secaderos, los tipos de aparatos y el tipo de contacto gas-sólido, así como algunos criterios de selección de los secaderos. A continuación, se estudian los fundamentos del secado de sólidos y se define el concepto de humedad de los sólidos. Después, se estudian los secaderos de contacto directo y los regímenes de cinética del secado. Se describen los secaderos industriales, los secaderos discontinuos de contacto indirecto (de bandejas y por liofilización) y los secaderos adiabáticos continuos de lecho fluidizado. Al final del capítulo, se muestra la importancia de la experimentación en la selección de los secaderos industriales.

Recuérdese que parte de la tecnología del secado está relacionada con la teoría del aire húmedo. Así pues, en el anexo C, se ofrece un resumen de psicrometría, junto con algunos cálculos del aire húmedo.

12.1. Los secaderos

Existen numerosos tipos de secaderos, según el principio de funcionamiento del invento. Más adelante, veremos los tipos más usuales.

Desde el punto de vista del contacto aire-sólido, los patrones de contacto entre las partículas húmedas y el aire caliente se muestran en la figura 12.1. Los secaderos pueden ser:

- Secaderos de contacto directo, entre el fluido térmico (aire caliente) y el sólido húmedo. Son adiabáticos y la transmisión de calor aire-sólido tiene lugar por convección.

- Secaderos de contacto indirecto. El calor transmitido al sólido húmedo se produce a través de una pared metálica por conducción o bien por radiación. Son no adiabáticos.

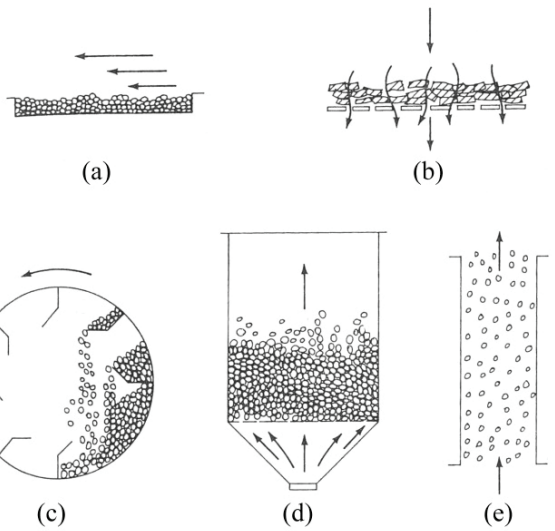


Fig. 12.1
Diferentes tipos de contacto entre las partículas y el aire caliente en los secaderos: *a*) con flujo cruzado; *b*) a través de un lecho fijo; *c*) en un secadero rotativo; *d*) en un lecho fluidificado; *e*) durante un transporte neumático

Otra clasificación es la siguiente:

1. Por cargas o continuos.

2. Según el estado físico de la alimentación: líquido, dispersión o suspensión, sólido granulado húmedo, pasta, polvo.

3. Método de transporte del sólido en el secadero: banda transportadora, rotatorio, fluidizado, atomización.

4. Modo de transmisión de calor: conducción, convección, radiación.

Consideraciones a la hora de escoger un secadero

Hay que tener en cuenta los factores siguientes:

1. La condición de la alimentación (sólido granulado, líquido, pasta, polvo).

2. El porcentaje inicial de agua.

3. La especificación del producto (forma física, sequedad, humedad de equilibrio, temperatura máxima admisible, humedad de equilibrio en un ambiente determinado).

4. La producción.

5. La degradación térmica del producto.

6. La toxicidad y la inflamabilidad de los vapores y del polvo seco.

Secaderos que se utilizan en biotecnología

En la fabricación biofarmacéutica, la selección de un secadero es una decisión crítica, sobre todo a gran escala. Además de secar, hay que preservar la pureza, la estabilidad química y la actividad del producto. Hay que evitar la degradación durante el contacto con el aire a temperaturas elevadas, así como oxidaciones indebidas. Ello puede obligar a secar al vacío (para reducir la T de secado) o con un gas inerte (N_2), en vez de aire, ya que la mayoría de los bioproductos son termolábiles y están sujetos a la destrucción y a la pérdida de propiedades. Un riesgo añadido es la combustión o la explosión del polvo.

Ello conduce a unos tipos de secaderos especiales, como los siguientes:

- De lecho fluidizado (por cargas o continuo).

- De pulverización o de atomización (por aire o gas inerte).

- De liofilización o secado a temperaturas y presiones por debajo del punto triple del agua (~ 6 mbar, 0ºC, es decir, casi vacío absoluto).

La atomización comporta tiempos de contacto muy pequeños (de 10 a 40 s, por término medio) y, por tanto, la alteración de las propiedades del producto se minimiza. El ideal del atomizador es poder trabajar con una temperatura del aire elevada (> 350ºC) y en un tiempo de residencia muy pequeño (< 60 s). El aspecto del producto que sale del atomizador es excelente, pero no siempre se puede trabajar con aire tan caliente, y hay que determinar experimentalmente las condiciones del aire.

Con los secaderos de lecho fluido, también se obtienen buenas propiedades del producto gracias a la buena uniformidad de la temperatura en un lecho fluidificado, por lo cual es un proceso deseable en biotecnología. En este capítulo, veremos un ejemplo de cálculo del balance de calor y del dimensionado de un secadero de lecho fluido.

A veces, el uso de la liofilización es la única posibilidad, ya que trabaja a una temperatura de sublimación inferior a 0ºC, de hasta -50ºC. En este proceso, se provoca la sublimación del hielo a presiones absolutas de casi 0 (1-2 mbar). En estas condiciones, normalmente queda garantizada la estabilidad de los enzimas y de otras proteínas. Los flujos de vapor en la sublimación son de 0,5 a 1 kg/m^2h, muy inferiores a los valores de vaporización (de hasta 15 kg/m^2h, para las partículas suspendidas). En la sublimación, el agua cambia de estado de sólido a vapor, sin pasar por el estado líquido.

En la tabla 12.1, se indican los tipos de secaderos que se utilizan hoy día en biotecnología para determinados bioproductos. Todo parece indicar que, en la mayoría de los casos, se

utilizan los secaderos de lecho fluido, gracias al buen control de la temperatura del sólido durante la fluidización, a causa de la agitación y la mezcla perfecta del sólido. También se utilizan, en bastantes casos, los secaderos por atomización. La liofilización también se utiliza en el 15 % de los casos, pero está relacionada más bien con la tecnología farmacéutica (en el caso de los inyectables).

Tabla 12.1 Secaderos para bioprocesos representativos

Bioproducto	Tipo de secadero	Observaciones
Ácido cítrico	LF	Procedente de filtro rotativo
Ácido pirúvico	LF	Íd.
l-lisina	A	Disolución de un evaporador
Riboflavina (vit. B2)	A	Disolución del decantador
α-ciclodextrina	LF	Torta de filtro
Penicilina V	LF	Torta de centrífuga
SA humana recombinante	Liofilizador	Filtración estéril
IH recombinante	Liofilizador	Torta de centrífuga
Anticuerpo monoclonal	No se utiliza secadero	Solución salina tamponada (P)
a-1-antitripsina	Íd.	Íd.
Plasmidio de ADN	Íd.	Íd.

A, secador de atomización; LF, secador de lecho fluidizado

12.1.1 El contacto gas-sólido

A continuación, nos referimos a la figura 12.1, que ilustra el tipo de contacto aire-sólido en los secaderos adiabáticos. El caso *a* corresponde al flujo de aire paralelo o transversal en un lecho fijo de partículas, como en los secaderos de bandejas o fuentes. Normalmente, se seca por encima y se añade calor desde la bandeja por conducción hacia arriba. El caso *b* corresponde al secado en un lecho fijo.

Los casos *c*, *d* y *e* corresponden al secado de partículas suspendidas (en un secadero rotatorio, en un lecho fluidizado y de transporte neumático, respectivamente).

12.1.2 Perfiles de temperatura en un secadero

En la figura 12.2, se representan los perfiles de temperatura-tiempo dentro de un secadero discontinuo por cargas (izquierda) y un secadero adiabático continuo (derecha).

Consideremos primero un secadero por cargas, con una corriente de aire nuevo constante. La temperatura del aire caliente es siempre T_g, la temperatura del medio de calentamiento. En un secadero discontinuo, la temperatura del sólido aumenta bastante rápido de T_g a T_v, y se mantiene constante en este valor durante el período de secado, denominado *de velocidad constante*. Si la corriente de aire caliente se mantiene en la temperatura T_g, *el sólido adquiere la temperatura* T_v, *que es igual a la temperatura de saturación*

adiabática del aire, T_w, es decir, el sólido se comporta como un *termómetro húmedo.* Así pues, el secado del sólido se produce por debajo de la temperatura del aire, ya que $T_v < T_g$. Al respecto, véase el diagrama psicrométrico y considérese una línea adiabática. El tiempo durante el cual se mantenga así dependerá de la cinética de secado. Una vez eliminada la humedad libre que empapaba el sólido, la temperatura de este empieza a subir y, eventualmente, podría llegar a T_g si el secadero no tuviera pérdidas de calor. Esta secuencia de acontecimientos tiene lugar durante el tiempo de secado, t.

Consideremos ahora el caso de un secadero adiabático continuo a contracorriente a lo largo de la longitud del secador, z. La historia de temperaturas de las partículas del sólido que se seca tiene el mismo perfil que antes. En la figura 12.2, los perfiles de T son estacionarios con la posición. El sólido entra en z = 0 y se pone a la temperatura T_v, que es igual a la temperatura de saturación adiabática del aire en cada punto. Al entrar el aire caliente en z = 1, los sólidos tienden a calentarse a $T < T_w$, porque ya están protegidos por la T_w del aire. Por tanto, es en este punto que se debe controlar la temperatura del aire de calentamiento, en función de la temperatura que adquiere el sólido seco, a fin de evitar su degradación. El aire de entrada entra con una humedad baja (por ejemplo, del 20 % de humedad relativa) y, a medida que adquiere humedad, se va enfriando al ceder calor al sólido.

Obsérvese que, en ambos secaderos (discontinuo y continuo), la historia humedad-temperatura del sólido va cambiando a medida que el mecanismo de retención de la humedad cambia.

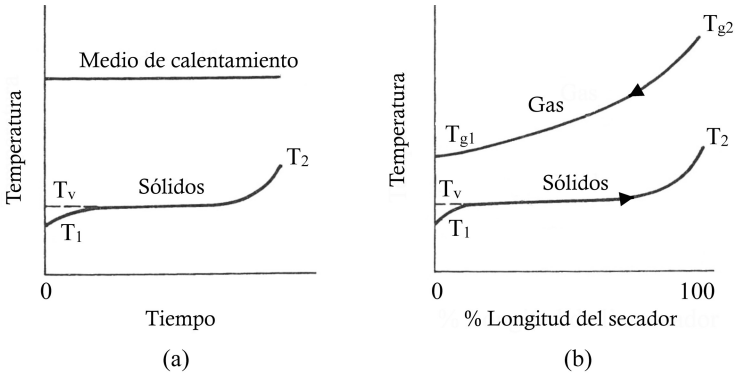


Fig. 12.2
Patrones de temperatura en: *a*) un secadero por cargas en que el medio de calentamiento entra a T constante; *b*) en un secadero continuo a contracorriente, los sólidos experimentan la misma historia de temperatura que en un secadero por cargas. La temperatura del sólido durante mucho tiempo corresponde a la de saturación adiabática del aire

12.2 Fundamentos del secado de sólidos

Como en muchas operaciones de separación (destilación, extracción, absorción), designamos aquí por X la composición de la fase que transfiere materia a la fase ligera. Así pues, en el secado, adoptamos la misma terminología: X representa la humedad del sólido que estamos secando e Y es la humedad del gas que absorbe esta humedad. Tanto la cantidad de sólido seco como la de aire seco se mantienen constantes en un secadero; solo el agua pasa de una fase a otra y, por tanto, X e Y las referiremos a estas cantidades constantes. Las definiciones precisas son las que especifica Treybal (1981).

Así pues, designamos por Y la humedad absoluta del aire, que representa los kg de agua contenidos en kg de aire seco (as). Por tanto, si la fracción molar de vapor de agua en el aire vale y, la fracción molar de aire en ese aire húmedo será 1 - y, y la humedad absoluta del aire, en consecuencia, valdrá:

$$Y = \frac{y}{1-y} \times \frac{18,02}{28,97} = \frac{0,662y}{1-y} \text{ kg agua / kg as} \qquad (12.1)$$

Definimos la humedad de un sólido húmedo sobre base seca, X, como los kg de agua/kg de sólido seco (ss). En la industria, se habla a menudo del porcentaje de sólidos de un material húmedo, que denotamos por s %, y son los kg de materia seca/kg sólido húmedo × 100, es decir, base húmeda. La relación entre X y s es, pues:

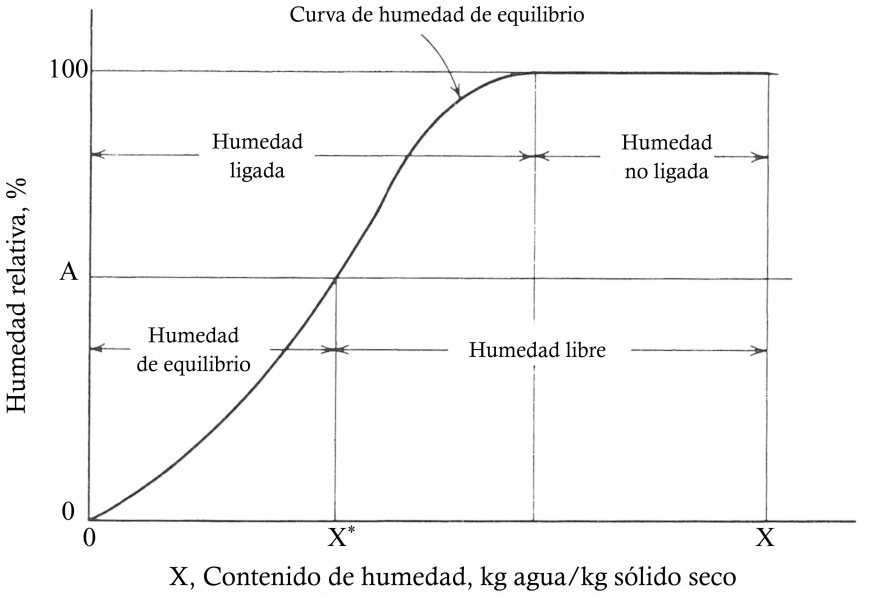
$$X = \frac{100 - s}{s} \qquad (12.2)$$

o bien:

$$s = \frac{100}{1 + X} \qquad (12.3)$$

La humedad de equilibrio de un sólido con respecto al ambiente se designa como X*, y se expresa también en kg/kg ss. En el gráfico de la figura 12.3, se representa la humedad de un sólido frente a la humedad relativa del aire. Se puede observar la humedad no ligada y la ligada. En el secado, es posible extraer hasta la humedad de equilibrio. Podemos sacar todavía más humedad. Sin embargo, al exponer el sólido seco al ambiente, este adsorberá la humedad de equilibrio. En las figuras 12.4, se ilustran las humedades de equilibrio de algunos sólidos típicos (lana, papel, seda, madera, etc.) y de sólidos cristalinos de interés en biotecnología (insulina, penicilina, lisozima).

Fig. 12.3
Contenido de humedad de un sólido en función de la humedad relativa del aire



Para revisar los conceptos de aire húmedo y psicrometría, remitimos el lector al anexo C. Proporcionamos aquí dos ejemplos para revisar los conceptos de humedad de un sólido.

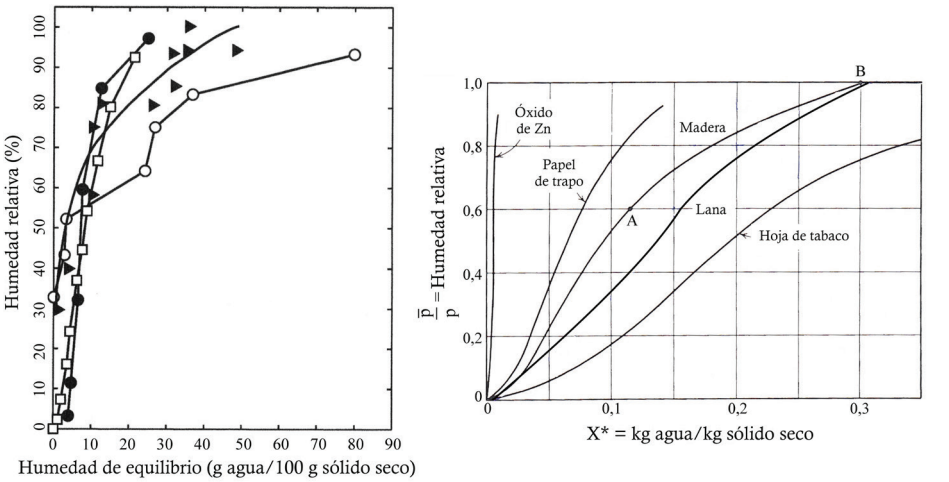


Fig. 12.4
Humedad de sólidos corrientes: *a*) frente a la humedad relativa del aire; *b*) sólidos de interés en biotecnología en función de la humedad relativa. Puntos negros,• *S. cerevisiae* durante el humedecimiento a 30ºC; cuadrados vacíos, □ insulina cristalina a 25ºC; triángulos negros, ◁: cristales de lisozima a 22ºC; puntos abiertos, o benziilpenicilina sódica a 25ºC (Doran, 2013)

Ejemplo 12.1. Concepto de humedad de un sólido, X.

Un sólido húmedo se tiene que secar desde el 80 % de humedad (base húmeda) hasta el 5 % (base húmeda). Calcula la masa de agua que se tiene que evaporar por 1.000 kg de producto final.

Las humedades X inicial y final serán:

$$X_0 = \frac{0,8}{1-0,8} = 4 \text{ kg agua / kg ss} \qquad X_f = \frac{0,05}{0,95} = 0,0526 \text{ kg agua / kg ss}$$

El sólido contenido en 1.000 kg de producto secado será:

$$1.000 \times 0,95 = 950 \text{ kg}$$

y, por tanto, el agua que se deberá evaporar por cada 1.000 kg de producto será:

$$\left(X_0 - X_f\right) \times 950 = 3,947 \times 950 = 3.749 kg$$

Ejemplo 12.2. Humedad que adsorbe un sólido seco de un aire saturado de humedad

Se colocan 10 kg de lana seca en una habitación de 150 m^3 de volumen, cuyo aire está inicialmente a 25ºC, saturado de humedad, a presión atmosférica (1.013 mbar). En estas condiciones, la lana adsorbe humedad del aire. Calcúlese la condición final del aire (su humedad absoluta y relativa, aproximadas).

La absorción de humedad de la lana de un aire con HR = 100 % se supone, aproximadamente, de 0,26 kg agua/kg ss (valor dado por McCabe *et al*., 1993). Por tanto, la lana

adsorberá 10 × 0,26 = 2,6 kg de agua, que tendrá que tomar del aire. La tensión de vapor del agua a 25ºC es de 31,669 mbar (Perry).

A presión atmosférica, si el aire está saturado, las fracciones molares del vapor de agua y del aire en la habitación valdrán:

$$y_{H_20} = \frac{p_{H_2O}}{p_{tot}} = \frac{31,67 \times 10^{-3}}{1,013} = 0,0312$$
$$y_{aire} = 1 - 0,0312 = 0,968$$

Las cantidades iniciales de vapor de agua y aire en el aire de la habitación serán:

$$n_{aire} = \frac{p_t y_{aire}}{RT} = \frac{1,013 \times 0,968}{0,083 \times 298} = 5,87 \text{ kmoles aire}$$
$$n_{H_2O} = 0,191 \text{ kmoles agua}$$

Esta cantidad de agua equivale a 0,191 × 18 = 3,438 kg de agua. Así pues:

3,438 kg de agua inicial en forma de vapor - 2,6 kg de agua adsorbida por la lana = 0,838 kg de agua que quedará en el aire

es decir, una humedad absoluta final a 25ºC, de

$$Y = \frac{0,838}{5,87 \times 28,9} = 0,0049 \text{ kg agua / kg as}$$

que, sobre el diagrama psicrométrico del anexo C, da aproximadamente HR = 20-30 %. Interpolando sobre un diagrama psicrométrico de baja temperatura más preciso (por ejemplo, el de Daikin), da HR = 27 %.

12.2.1 Secaderos discontinuos de contacto directo. Velocidad de secado: régimen de velocidad de secado constante

Es interesante observar que las velocidades de secado de los sólidos húmedos son parecidas cuando se considera el mismo régimen de secado (v. tabla 12.2).

Tabla 12.2 Velocidades de evaporación desde diversos materiales (condiciones constantes)

Materiales	Velocidad de evaporación, en kg/m²h
Agua	2,7
Pigmento inorgánico	2,1
Arena	2-2,4
Arcilla	2,3-2,7
Piezas de latón	2,4

*Evaporación desde una superficie saturada a una corriente de aire

Se define la velocidad de secado como el flujo de materia siguiente:

$$N = \frac{-1}{A}\frac{d(SX)}{dt} = \frac{-1}{A/S}\frac{dX}{dt} = \frac{-1}{a}\frac{dX}{dt} \qquad (12.4)$$

donde S son los kg de ss; A es el área de transferencia de masa en m^2, y N es un flujo másico, en kg de agua/m^2 s. El área específica *a* expresada en m^2/kg de sólido seco, para un material, es una constante. A veces, se da simplemente la velocidad siguiente frente a X o de H, y X.

$$-\frac{dX}{dt} \tag{12.5}$$

cuyas unidades son kg de agua evaporada/kg de ss/s. La forma que adopta la curva de secado frente al tiempo y la humedad se puede ver en la figura 12.5, que corresponde al secado de un sólido con corriente constante de aire. Durante el tramo A, B, C, se establece un período denominado *precrítico* o *de velocidad constante.* El punto de humedad crítica es C, en que la velocidad empieza a decrecer, iniciándose el período *post-crítico* o *de velocidad decreciente*.

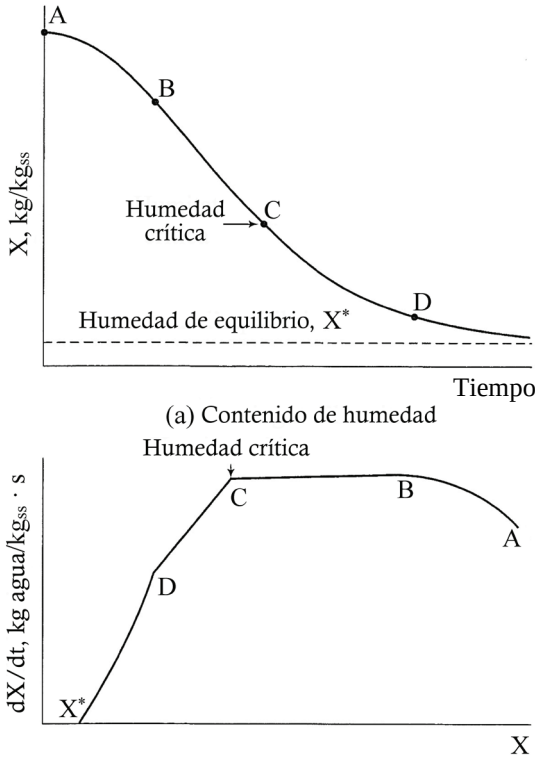


Fig. 12.5
Humedad de un sólido durante el secado. *a*) Desde A hasta B, etapa precrítica. En C, se llega a la humedad crítica, Xc, y después al equilibrio con el ambiente, X*, desde D hasta el final. *b*) Durante el proceso, las velocidades de secado van disminuyendo. Durante el primer período de A hasta C, la velocidad es constante y, durante el período postcrítico, la velocidad de secado se hace finalmente cero.

Velocidad y tiempo de secado en el período de velocidad constante

En este período, lo que define N es N = cte. Y, reordenando los términos, tendremos:

$$X_f - X_0 = NAt/S \tag{12.6}$$

$$t_{const} = \frac{S(X_1 - X_2)}{AN} \tag{12.7}$$

Período de velocidad decreciente y tiempo de secado del período post-crítico

Para calcular el tiempo, integraremos la ecuación siguiente:

$$dt = \frac{-S}{A}\frac{dX}{N(X)} \tag{12.8}$$

de donde:

$$\int_0^{t_{dec}} dt = \frac{-S}{A}\int_{X_1}^{X_2}\frac{dX}{N(X)} \tag{12.9}$$

en que X_1 vale X_c y X_2 vale X*. A veces, se escribe N(X) como una recta del tipo N = mX + b; entonces:

$$t_{dec} = \frac{S}{A}\int_{X_1}^{X_2}\frac{dX}{mX+b} = \frac{S}{mA}\ln\frac{mX_1+b}{mX_2+b} \tag{12.10}$$

o bien con valores medios de N_m:

$$t_{dec} = \frac{S(X_1 - X_2)}{AN_m} \tag{12.11}$$

en que N_m vale:

$$N_m = \frac{\ln(N_1/N_2)}{N_1 - N_2} \tag{12.12}$$

Caso especial. A veces, se puede interpolar linealmente entre Xc y X*. Entonces, la expresión de N(X) que se debe utilizar es la siguiente: N = m (X-X*). En este caso, el valor del tiempo del período decreciente vale:

$$t_{dec} = \frac{S\left(X_c - X^*\right)}{N_C A}\ln\frac{X_1 - X^*}{X_2 - X^*} \tag{12.13}$$

donde N_C es el valor constante del período precrítico, y X_1 y X_2 estan en el intervalo X_C - X*.

Utilización de expresiones cinéticas empíricas. Algunos autores han utilizado ecuaciones empíricas para el período de velocidad decreciente en los secaderos por cargas. Si se pueden utilizar, una ecuación práctica es la que acabamos de comentar, N = m (X-X*), válida entre X_c y X*.

Otra formulación es la que utilizan los manuales (p.e., Perry):

1) Período de velocidad constante. Para $X_C < X < X_0$:

$$-\frac{dX}{dt} = m\left(Y_s - Y\right) \tag{12.14}$$

2) Período de velocidad decreciente. Para $X^* < X < X_C$:

$$-\frac{dX}{dt} = m\frac{\left(Y_s - Y\right)\left(X - X^*\right)}{X_C - X^*} \tag{12.15}$$

que tienen la ventaja de que se pueden utilizar en secaderos en que hay perfiles de Y (z) y cambio de régimen cinético, tanto a equicorriente como a contracorriente.

En el ejemplo siguiente, se ilustra cómo se utilizan estas ecuaciones en el caso del período de velocidad constante y decreciente, para aire en condiciones constantes.

Ejemplo 12.3. Tiempos de secado en los dos regímenes (velocidad constante y decreciente). Fase de gas constante

Estamos secando sobre bandejas 12 kg (secos) de unos cristales que exponen al aire 0,22 m^2 de superficie de evaporación. El valor inicial de la humedad es de $X_0 = 0,168$ kg de humedad/kg seco, y se tiene que secar hasta una humedad final de 0,005 kg/kg seco. La humedad crítica de los cristales es de $X_C = 0,04$ kg/kg. La velocidad de evaporación en el primer periodo es de $N = 1,83$ kg/m^2h. Las expresiones cinéticas de los regímenes son las siguientes:

Para $X > 0,04$ kg/kg:

$$-\frac{dX}{dt} = 0,033$$

Para $0 < X < 0,04$:

$$-\frac{dX}{dt} = 0,823X$$

Para el periodo de velocidad constante, podemos aplicar la ecuación siguiente:

$$t_{const} = \frac{S\left(X_1 - X_2\right)}{AN} = \frac{12 \times \left(0,168 - 0,04\right)}{0,22 \times 1,83} = 3,8h$$

Para el periodo de velocidad decreciente, integraremos la ecuación - dX/dt = 0,823 X, entre $X_1 = 0,04$, $X_2 = 0,005$:

$$t_{dec} = \frac{1}{0,823} \ln \frac{0,04}{0,005} = 2,5h$$

Así pues, el tiempo total valdrá = 3,8 + 2,5 = 6,3 h

A veces, todo el secado transcurre en el primer período de velocidad constante, como se muestra en el ejemplo siguiente, dependiendo del fin del período crítico.

Ejemplo 12.4. Secador de bandejas

Una carga de 100 kg (húmedos) de un precipitado contiene un 30 % de humedad (base húmeda) y se tiene que secar en un secadero de bandejas hasta llegar a una humedad del 15,5 % (base húmeda), utilizando aire caliente a 77ºC, que circula paralelamente a las bandejas. La velocidad del aire es de 1,8 m/s. En estas condiciones, la velocidad de secado constante es de 2,5 kg/m^2h y la humedad crítica del sólido es de $X_c = 0,15$ kg/kg ss. Calcúlese el tiempo total de secado.

En los 100 kg de carga que se tienen que secar, habrá:

$$100 \times 0,3 = 30 \text{ kg agua}$$
$$100 - 30 = 70 \text{ kg ss}$$

Para una humedad final del 15,5 %, el agua presente en el material seco, W, valdrá:

$$\frac{W}{W+70}100 = 15,5$$
$$W = 12,8 \text{ kg agua}$$

de donde podemos hacer balance de agua, en términos de X, en kg/kg:

$$X_0 = 30/70 = 0,43 \qquad X_{final} = 12,8/70 = 0,183$$

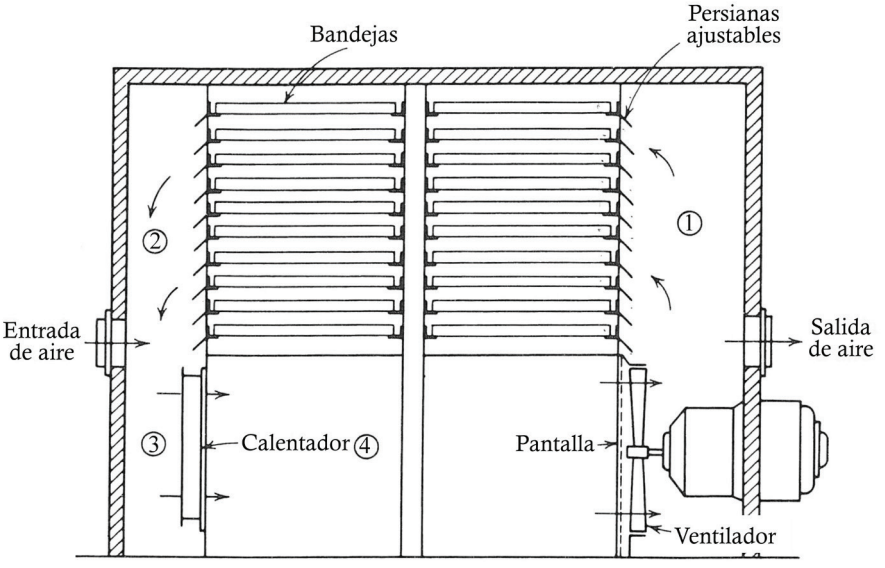
El agua que se tiene que evaporar será 30 - 12,8 kg = 17,2 kg. La superficie disponible para el secado será A = 0,03 × 70 = 2,1 m^2; así pues, la velocidad de secado durante el primer período valdrá 2,5 × 2,1 = 5,25 kg/h = 0,00146 kg/s. La humedad final calculada vale X = 0,183 > Xc = 0,150; por tanto, como $X_f > X_c$, todo el secado transcurre con la cinética constante. El tiempo total será, pues:

$$t_c = \frac{17,2}{0,00146} = 11.700s = 3,25h$$

12.3 Secaderos industriales

Secadero de bandejas. En la figura 12.6, se muestra un secadero de bandejas que se utiliza para pequeñas cantidades y que opera por cargas. Se utiliza para todo tipo de materiales. El sólido que se tiene que secar en forma de cristales se coloca en bandejas o platos y el aire caliente se hace circular paralelamente a los platos. Se utiliza para productos valiosos y para una amplia gama de productos. Su capacidad es de 0,15 a 2 kg/m^2h.

Fig. 12.6
Secadero de bandejas



Secadero rotativo. Como se ve en la figura 12.7, los secaderos rotativos son continuos y consisten en un tambor largo, ligeramente inclinado, que rueda a baja velocidad (1 rpm) y hace avanzar el material por el interior del secadero. Son alternativos a los secaderos de pulverización. El aire de calentamiento se alimenta por aspiración desde un

extremo del tambor. El sólido granulado se alimenta por tornillo sin fin en equicorriente o a contracorriente con el aire. A la salida, el sólido y el aire se separan en un ciclón y un filtro de mangas. Son máquinas de gran capacidad, de 100-200 kg de agua/m^2h.

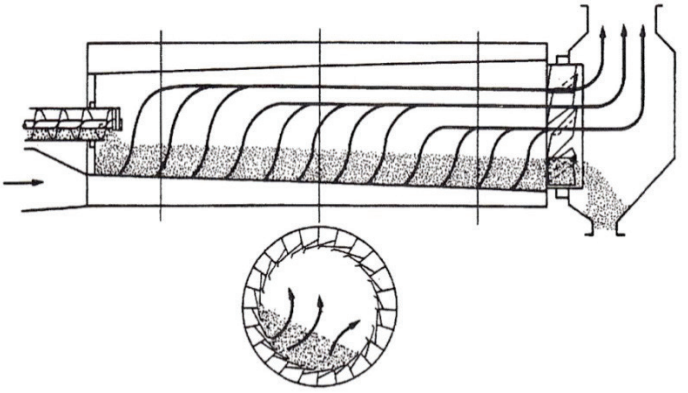


Fig. 12.7
Secadero rotativo

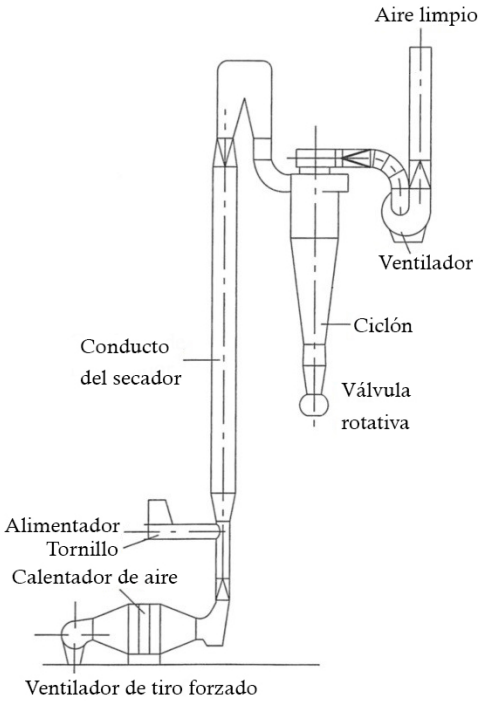


Fig. 12.8
Secadero de transporte neumático, tipo flash

Secadero de transporte neumático. Se representa en la figura 12.8, en que se ve que las partículas del sólido se alimentan con un tornillo sin fin y son arrastradas por el conducto del tubo de subida, donde están el tiempo suficiente para secarse. Finalmente, se liberan del aire en un ciclón. La máquina trabaja a aspiración mediante una soplante que aspira desde la salida del ciclón. Los tiempos de contacto son muy pequeños. Se utiliza

para partículas que son demasiado pequeñas para ser alimentadas en un secadero de lecho fluido, que son termolábiles y que se tienen que secar rápidamente. La capacidad de secado es del orden de 0,5 a 10 kg/m^{2}h. Un problema asociado al secadero *flash* es el tratamiento de las partículas de la alimentación, que se tienen que disgregar previamente. Ello se puede hacer con un molino continuo o con un micronizador neumático en línea con el secadero *flash* (v. modelo Jet O Drier de Riera Nadeu, v. McCabe-Smith, 1963).

Secadero de lecho fluidizado. Se representa en la figura 12.9. Se hace pasar el aire de secado por un distribuidor de aire que mantiene las partículas en suspensión. La unidad puede trabajar por cargas o en continuo. En este caso, el régimen es de burbujeo y el sólido se comporta como un fluido que se alimenta con un tornillo sin fin; permanece un rato en la cámara de fluidización y rebosa parcial o totalmente seco por otro lugar del lecho. Los lechos fluidos son adecuados para materiales granulares o cristalinos, con tamaños de partícula de 0,4 a 2 mm. Las velocidades de secado son de 1,5 a 50 kg/m^{2}h. Una característica importante es la uniformidad de la temperatura dentro del lecho, lo cual hace que el material no esté sujeto a grandes oxidaciones. Como se estudia en el texto, el estado de la mezcla del sólido fluidizado es de mezcla perfecta.

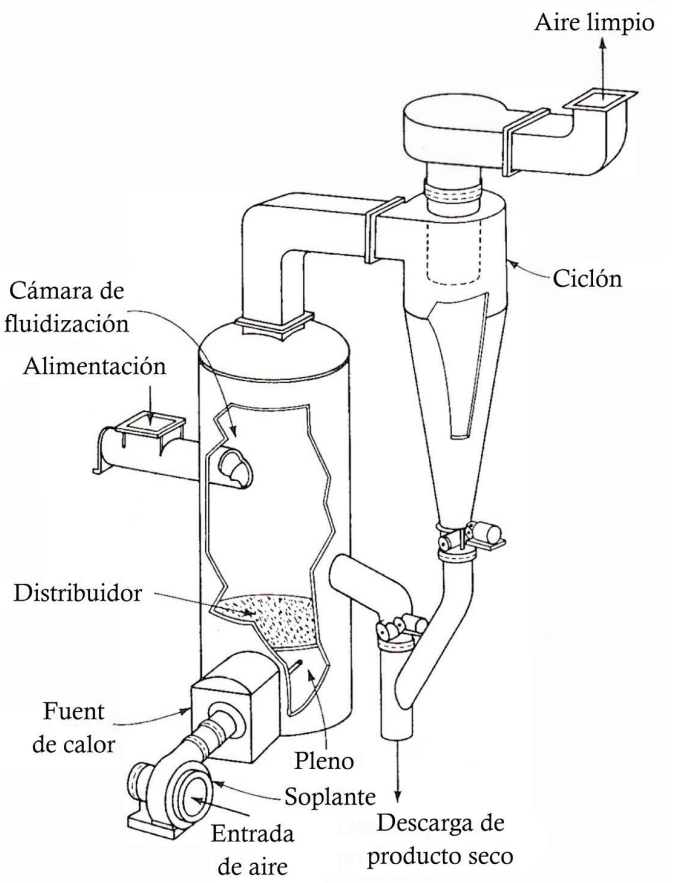


Fig. 12.9
Secador de lecho fluidificado con circulación de sólido, alimentación y salida en continuo, y aire caliente

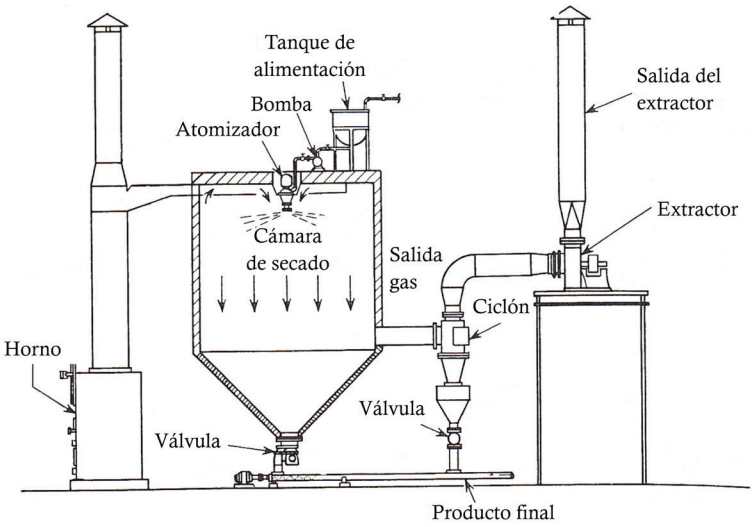


Fig. 12.10
Secadero de atomización en equicorriente. En este caso, se utiliza una turbina mecánica (15.000-20.000 rpm) para producir gotitas de líquido. En unidades mayores, se utiliza una tobera con dos fluidos, con el fin de generar las gotas, y la circulación es a contracorriente

Secadero de atomización. A diferencia de los secadores anteriores, que se alimentan en forma de granos, cristales o partículas húmedas, los atomizadores se pueden alimentar con disoluciones, polímeros en emulsión, dispersiones o suspensiones de sólidos. Ello los hace adecuados para determinadas operaciones, ya que no hace falta cristalizar o coagular o precipitar el sólido ni filtrarlo (lo cual supone, naturalmente, un mayor coste de energía). Ya hemos comentado que el aspecto del producto que sale seco del atomizador es muy bueno. En la figura 12.10, se ilustra un atomizador de tipo pequeño. Los tipos pequeños operan con una rueda atomizadora que gira a gran velocidad, entre 15.000 y 20.000 rpm, y que pulveriza la alimentación líquida en pequeñas gotas. Se alimenta con el aire del secado a equicorriente. Para las unidades mayores, el aire caliente puede fluir a contracorriente desde abajo. La alimentación se divide en gotitas de micras de diámetro y, por tanto, el tiempo de secado es muy pequeño (de 10 a 30 s). Este tiempo tan corto permite secar a temperaturas muy altas (200-400ºC), con recuperación del calor del aire de salida, y controlar el tamaño del sólido y su densidad. Para unidades grandes, no se utiliza el rodillo pulverizador, sino la alimentación por tobera atomizadora con dos fluidos. El producto seco se recoge con un ciclón y con filtros de mangas. Muy a menudo, el sistema trabaja a depresión en el ciclón y con presión positiva del aire de entrada. Las velocidades de secado son de 1,5 a 50 kg/m^{2}h.

12.4 Secaderos discontinuos de contacto indirecto

Este tipo de secaderos se utilizan en las plantas pequeñas o plantas piloto. El calor se añade por el interior de los platos en forma de vapor condensante o eléctricamente. Además, el aire de secado se hace circular de forma paralela por encima de las bandejas, como se muestra en la figura 12.6.

El tiempo de secado depende del flujo máximo de calor que podemos aportar en los platos. Podemos operar de diversas formas:

- Secadero de bandejas con corriente de aire caliente paralela a los platos.
- Secadero de bandejas al vacío (un vacío moderado, de 500 mbar).
- Liofilizador a presión y a temperatura por debajo del punto triple del agua, con un vacío casi absoluto, de menos de 6 mbar (a) y para temperaturas muy bajas (-30ºC), lo cual provoca la sublimación del hielo.

En los últimos casos, es necesario que la cámara que contiene los platos esté reforzada y sea resistente a la presión exterior y vacío total, con el fin de evitar el colapso. En los liofilizadores, antes del secado se congela la carga. El calor se puede adicionar desde paneles radiantes.

12.4.1 El caso más sencillo: secado por conducción, tiempo de secado. Secadero de bandejas y liofilizador

Consideramos primero el caso más simple (v. fig. 12.11). Estamos secando un conjunto de partículas húmedas que están sobre la superficie plana del plato. Estamos calentando el sólido por conducción-convección desde el plato. Queremos calcular la cantidad de agua en el sólido en función del tiempo. Obsérvese que lo que decimos se puede aplicar a un *secadero al vacío y también a la sublimación del hielo en un secadero por liofilización*. El calor se añade por la base del plato en la parte húmeda del sólido, por ejemplo, con vapor condensante dentro del plato.

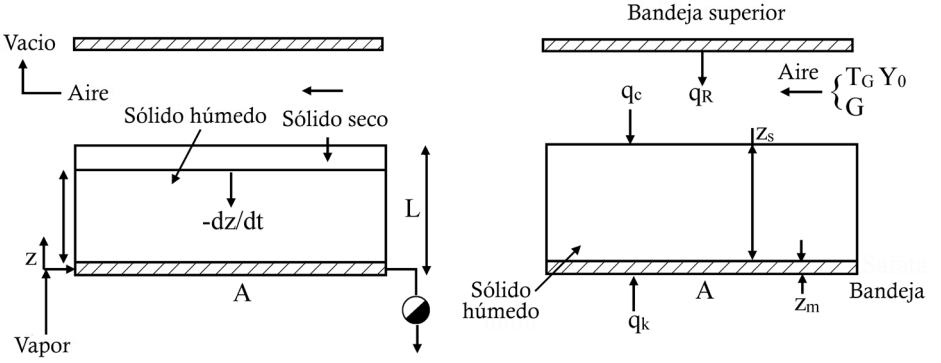


Fig. 12.11 Transmisión de calor en un secadero al vacío (izquierda), de bandejas (derecha). Véanse los tres mecanismos de transmisión de calor en el texto. La liofilización opera como el secadero de la izquierda a vacío cuasi-total (2 mbar (a) y -40ºC). El calor de secado es aportado por conducción o desde paneles radiantes

A: Área de la bandeja, m^2

En una posición z, el agua se vaporiza y define una zona seca superior y un sólido todavía húmedo por debajo de z. La interfase z de separación entre la parte seca y la húmeda se mueve lentamente hacia abajo a medida que el sólido se seca. La determinación de z en función del tiempo equivale a determinar la fracción que queda por secar. Los flujos de calor son iguales por conducción desde el plato y por convección. Y, como z se mueve lentamente, los flujos de calor se consideran en estado estacionario.

Igualando los flujos de calor, tendremos:

$$q = h(T_0 - T_z) = \frac{k_e}{z}\left(T_0 - T_z\right) \qquad (12.16)$$

donde h es el coeficiente de convección desde el plato y k_e es la conductividad térmica efectiva del sólido húmedo; T_0 y T_z son las temperaturas en las posiciones z = 0 y z = z. La disminución de z con t es debida a la vaporización del agua. Por tanto,

$$-\lambda\rho_0 d(zA) = qAdt \quad \text{con la condición} \quad t = 0,\ z = L \tag{12.17}$$

donde ρ_0 es la concentración de agua en el sólido húmedo, en kg/m^3; zA es el volumen de sólido húmedo que queda, en m^3, y $\lambda_\varpi\rho_0$ es el calor de vaporización de agua por unidad de volumen de sólido húmedo, en J/m^3. El flujo de calor q en la forma más simple viene dado por la conducción de calor desde el plato. La integración de la ecuación anterior con las condiciones iniciales da:

$$\frac{L^2 - z^2}{2} = \frac{k_e(T_0 - T_z)t}{\lambda\rho_0} \tag{12.18}$$

El tiempo para acabar el secado será el valor de $t = t_s$ para el cual z = 0, es decir:

$$t_s = \frac{1}{2}\left(\frac{\lambda_v\rho_0 L^2}{k_e(T_0 - T_z)}\right) \tag{12.19}$$

Obsérvese lo siguiente: 1) si cargamos el doble de sólido a secar, es decir, 2L, el tiempo necesario se multiplica por 4, y 2) la fracción de sólido que falta secar en un instante t determinado se obtendrá de la ec. (12.18), como:

$$\text{Fracción} = \frac{z(t)}{L} = \left[1 - \frac{2k_e(T_0 - T_z)t}{\lambda_v\rho_0 L^2}\right] \tag{12.20}$$

Por tanto, el tiempo de secado no es asintótico, sino que es un tiempo finito, t_s.

En esta ecuación, pueden emplearse los siguientes datos de conductividad térmica: acero al carbono k_c = 40 W/mK; acero inoxidable = 12 W/mK; agua = 0,65 W/mK, y catalizadores porosos k_e = 0,1-0,4 W/mK.

Estas ecuaciones se pueden utilizar para calcular el tiempo de un *secadero de bandejas al vacío, o bien de un liofilizador a baja presión (al vacío)*.En un liofilizador, se debe considerar primero el tiempo de congelación (no contemplado), luego aportar el calor de sublimación y hacer unas cuantas consideraciones respecto del secado primario y secundario, bastante complicadas a causa de la formación de las diferentes especies de hielo y del eutéctico (v. Doran (2010), para una descripción precisa de los fenómenos físicos en un liofilizador).

Para la liofilización de alimentos, véase Ibarz y Barbosa-Cánovas (2003) y, para los sistemas de vacío industrial, se puede acudir a Telstar, SA (Terrassa, Barcelona).

Ejemplo 12.5. Liofilización de una disolución congelada del enzima colesterol oxidasa

Queremos liofilizar una disolución congelada del enzima en un liofilizador de platos. El grosor del hielo en cada plato es de 1 cm. El calor de sublimación del hielo es de 2.950 kJ/kg y la conductividad térmica efectiva, k_e= 0,16 W/mK. El salto térmico utilizado es

ΔT= 30ºC. El calor se transmite desde el plato por conducción. Queremos calcular el tiempo necesario de esta operación.

Los datos son ρ_0 = 1.000 kg/m^3. Aplicamos la ecuación que da t_s:

$$t_s = \frac{1}{2}\frac{\lambda_v \rho_0 L^2}{k_e \Delta T} = \frac{2.950 \times 10^3 \times 10^3 \times (0,01)^2}{2 \times 0,16 \times 30} = 31.041 s = 8,6 h$$

Los liofilizadores comerciales tienen un tiempo de secado del orden de 8 a 10 horas, es decir, la estimación que hemos hecho sería aceptable. Para el funcionamiento de un liofilizador real, se debe añadir el tiempo de congelación, que puede ser aproximadamente la mitad o más del tiempo de sublimación(en el ejemplo anterior, de unas 4-5 horas). El calor se suministra por radiación y por convección combinadas (Doran, 2010).

12.4.2 Secadero industrial de bandejas. Cálculo preciso de la transmisión de calor

En el caso real de un secadero de bandejas (v. fig. 12.6), la transmisión de calor es más compleja. En la figura 12.11, se observa que la cota z separa el sólido húmedo debajo y el sólido seco encima, como antes. Aceptamos la simplificación de que las áreas de transmisión de calor valen todas A. El agente que causa el secado por convección es el aire de secado, que pasa tangencialmente por la superficie del sólido y otras fuentes de calor.

Los flujos de calor son q_k, q_c, y q_R, de donde el flujo total de calor será:

$$q = q_k + q_c + q_R \tag{12.21}$$

La *convección* desde el aire de secado a T_G es q_c. O sea:

$$q_c = h_c (T_G - T_z) \tag{12.22}$$

La *conducción* desde el plato, q_k, a través de tres resistencias en serie (hierro, lecho fijo húmedo y lecho fijo seco), valdrá:

$$q_k = U_k (T_G - T_z) \tag{12.23}$$

siendo la resistencia global:

$$\frac{1}{U_k} = \frac{1}{h_c}\frac{1}{a} + \frac{z_m}{k_m}\frac{1}{a} + \frac{z}{k_e}\frac{1}{a} \tag{12.24}$$

donde U_k es el coeficiente global combinado; k_m, la conductividad térmica del metal del plato, y z_m, el espesor de metal y k_s, la conductividad del sólido húmedo, y z, el espesor. El coeficiente a, es el área externa de convección/por unidad de área del lecho.

Radiación-convección desde el plato superior a temperatura T_R:

$$q_R = h_R\left(T_R - T_z\right)$$
$$h_R = \frac{\varepsilon_m \times 5,73\times 10^{-8}\left[\left(T_R+273\right)^4 - \left(T_z+273\right)^4\right]}{T_R - T_z} \qquad (12.25)$$

donde ε_m es la emisividad del plato superior. Se supone que el plato superior es un cuerpo gris que radia a un ambiente que se considera negro. Entonces, el flujo de evaporación sirve para vaporizar agua a la corriente de gas, es decir:

$$N = \frac{q}{\lambda} = k_Y\left(Y_s - Y\right) \qquad (12.26)$$

en donde q es la suma de los flujos de calor anteriores. Sobre el diagrama psicrométrico, la ecuación (12.26) da una recta no adiabática. Los coeficientes de convección para la geometría de platos del secadero son los siguientes.

Para flujo de aire *cruzado* o tangencial en la superficie de un lecho fijo (en unidades SI):

$$h_c = 14,8G^{0,8} \qquad (12.27)$$

Para aire *perpendicular o de través* a la superficie del lecho (en unidades SI):

$$h_c = 24,2G^{0,37} \qquad (12.28)$$

La ecuación de velocidad de secado será, para el caso general:

$$N = \frac{q}{\lambda} = \frac{\left(h_c + U_k\right)\left(T_G - T_s\right) + h_R\left(T_R - T_s\right)}{\lambda} = k_y\left(Y_s - Y\right) \qquad (12.29)$$

que podemos escribir como:

$$\frac{\left(Y_s - Y\right)\lambda}{h_c/k_Y} = \left(1 + \frac{U_k}{h_c}\right)\left(T_G - T_s\right) + \frac{h_R}{h_c}\left(T_G - T_s\right) \qquad (12.30)$$

que es una recta sobre el diagrama psicrométrico, la cual, por intersección con la curva de saturación, nos dará T_s. El valor de N correcto nos indica la capacidad del secadero en el régimen de velocidad constante.

Para calcular el secado con una cierta exactitud, primero hay que escoger una temperatura del sólido, T_s, e iterarla a partir de la solución de la recta sobre el diagrama psicrométrico. En el ejemplo siguiente, se muestra cómo se efectúan los cálculos.

Ejemplo 12.6. Secador de bandejas: capacidad de evaporación

Queremos utilizar un secadero de bandejas calentadas para secar unos cristales granulados que tienen una humedad global de 650 kg/m^3, utilizando aire paralelo a los platos a un caudal másico de aire de 5.000 kg/m^{2}h. El aire entra en el espacio entre bandejas a

85ºC, con una humedad de 0,024 kg/kg as. El espesor de los cristales sobre las bandejas es de L= 3 cm. Las áreas de las bandejas y del material son iguales (a = 1). Considérese la radiación de la bandeja superior sobre la inferior. La emisividad es de 0,92. La conductividad efectiva del sólido es de 1,74 W/mK. Determínese la capacidad de evaporación de una bandeja.

La temperatura húmeda del aire de entrada es de 38ºC (v. diagrama psicrométrico, anexo C). Por tanto, tomamos una T_s = 45ºC para el tanteo, mayor que la T de saturación adiabática.

Coeficiente de convección aire-lecho. Tomamos la correlación siguiente:

$$h_c = 42 \times \left(\frac{5.000}{3.600} \right)^{0,8} = 19,2 W/m^2 K$$

Coeficiente de radiación-convección. Entra el aire a T_G = 85ºC y la temperatura húmeda a T_z = 45ºC, con una emisividad de 0,92:

$$h_R = \frac{0,92 \times 5,73 \times 10^{-8} \left[(85+273)^4 - (45+273)^4 \right]}{85-45} = 8,13 W/m^2 K$$

Coeficiente global. Consideramos que el metal del plato tiene 2 mm de espesor y que su conductividad térmica es de 40 W/m K; por tanto, podremos despreciar su resistencia térmica. Las resistencias en serie serán solo las siguientes:

$$\frac{1}{U_k} = \frac{1}{19,2} + \frac{3 \times 10^{-2}}{1,75} + \frac{1}{8,13} = 0,192$$

de donde U_k = 5,2 W/m^{2}K.

Verifiquemos ahora la temperatura húmeda supuesta. De la ecuación del agua evaporada, tenemos:

$$\frac{(Y_s - Y)\lambda}{h_c / k_Y} = \left(1 + \frac{U_k}{h_c} \right)(T_G - T_s) + \frac{h_R}{h_c}(T_R - T_s)$$

en la cual, por simplicidad, suponemos que el plato superior está a 85ºC, y que $T_R = T_G$. La ecuación anterior quedará:

$$\frac{(Y_s - 0,024) \times 2.400}{1,045} = \left(1 + \frac{14,5}{19,2} \right)(85 - T_s) + \frac{8,13}{19,2}(85 - T_s)$$

que es una recta de pendiente negativa:

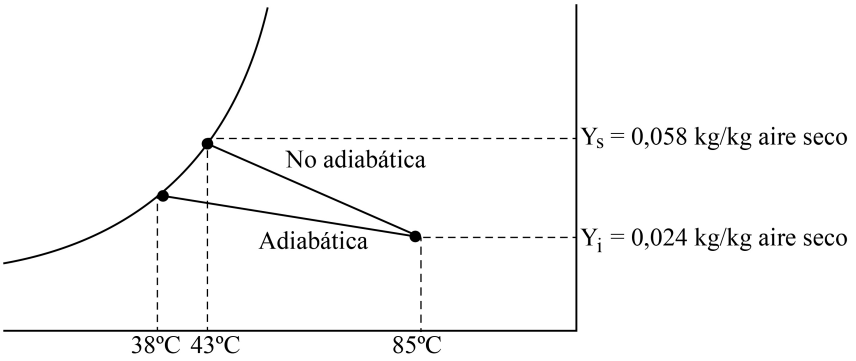
$$Y_s = 0,104 - 9,5 \times 10^{-4} T$$

Representada sobre el diagrama psicrométrico, nos da una intersección con la curva de saturación aproximadamente en T_s = 43ºC, con una humedad absoluta de Y_s = 0,060

kg/kg as, que tiene más inclinación que las rectas de saturación adiabática, ya que se añade una cantidad de calor q. Por tanto, consideramos la suposición inicial aceptable.

Suponiendo válidos los coeficientes anteriores, la velocidad de secado por m^2 de plato será, pues:

$$N = \frac{(h_c + U_k + h_R)(T_G - T_s)}{\lambda} = \frac{(19,2 + 14,5 + 8,13) \times (85 - 43)}{2.400 \times 10^3} =$$
$$7,3 \times 10^{-4}\ kg/m^2\ s = 2,6\ kg/m^2\ h$$



12.5 Secaderos adiabáticos continuos

En la figura 12.12, se representa el esquema de un secadero continuo, con los símbolos que representan las propiedades de las corrientes. Se supone que el sistema está en estado estacionario y que trabaja a contracorriente. Se ve que hay unas pérdidas de calor $q_{pérdidas}$ debidas a radiación y convección al ambiente. Si no hay pérdidas, el secadero es adiabático, sino se tienen que contabilizar en el balance de energía del secadero como pérdidas de calor.

Como tenemos que contabilizar entalpías de sólido húmedo y de gas húmedo, a continuación se evalúan esas entalpías. Como es habitual en aire húmedo (v. tabla A12.1, anexo A), como origen de las entalpías se toma: agua líquida a 0ºC y aire seco a 0ºC y a presión atmosférica. En la ecuación C3 (Anexo C), se da la expresión de la entalpía de un aire húmedo en kJ/kg as, como:

$$H = (1,005 + 1,884Y)T_g + 2.502Y \qquad (12.31)$$

y la entalpía de un sólido húmedo como:

$$H = C_{sólido}T + XC_{agua-liq}T_s + \Delta H \qquad (12.32)$$

donde ΔH sería el calor de humedecimiento, en kJ/kg ss, que en general será nulo.

12.5.1 Balances de masa y entalpía en secaderos continuos

Nos referimos a la figura 12.12. El caudal másico del aire de secado es m_g kg de aire seco/h y el caudal de sólido que entra en el secadero es m_s kg de sólido seco/h. Estos dos valores son constantes y, por tanto, se conservan hasta la salida.

En estado estacionario, *el balance de agua* será:

$$m_s\left(X_w - X_d\right) = m_g\left(Y_o - Y_i\right) = m_{evap} \tag{12.33}$$

Y, por tanto, m_{evap} representa la capacidad del secadero, en kg de agua/h a especificar en un proyecto. De todos modos, m_g/m_s representa una variable del secadero, que normalmente se toma como 1,2-1,4 multiplicado por el valor mínimo.

Balance de entalpía en estado estacionario. Consideremos que, en la figura 12.12, se hace un balance de entalpía. El calor que cede el aire caliente es igual al cambio de entalpía del sólido húmedo al evaporar el agua. Así pues, se tendrá:

$$m_s\left(H_w - H_d + X_w H_w - X_d H_d\right) = m_g\left(H_i - H_o + Y_i H_i - Y_o H_o\right) \tag{12.34}$$

Escribamos ahora las entalpías del sólido húmedo y del aire húmedo en función de T y de las humedades. Tendremos:

$$\begin{aligned} &m_s\left[C_s\left(T_d - T_w\right) + X_d H_{agua-liq} - X_w H_{agua-liq}\right] = \\ &= m_g\left[C_{aire}\left(T_i - T_o\right) + Y_i H_i - Y_o H_o\right] \end{aligned} \tag{12.35}$$

en donde las Cs son los calores específicos. Los cambios de entalpía del sólido húmedo y del aire se escriben a continuación, suponiendo que la temperatura de vaporización del agua es T_v (generalmente, una temperatura húmeda). Escribiendo todas las entalpías en función de la temperatura, e incluyendo la temperatura de evaporación, T_v, tendremos, para el cambio de entalpia del *sólido húmedo*:

$$\begin{aligned} &Q/m_s = C_s\left(T_d - T_w\right) + X_w C_{agua-liq}\left(T_v - T_w\right) + X_d C_{agua-liq}\left(T_d - T_v\right) + \\ &+\left(X_w - X_d\right)\left[\lambda_v + C_{agua-vap}\left(T_o - T_v\right)\right] \end{aligned} \tag{12.36}$$

y, para el *aire húmedo*:

$$Q/m_g = \left(C_{aire} Y_i C_{agua-vap}\right)\left(T_i - T_o\right) \tag{12.37}$$

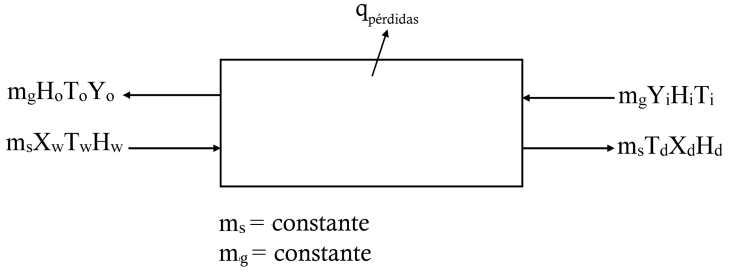


Fig. 12.12
Entradas y salidas de corrientes en un secadero continuo, prácticamente adiabático (si q_p =0). Las Y son las humedades del aire, las H son las entalpías, T son las temperaturas en ºC, m_s es el caudal de sólido seco y m_g es el caudal de aire seco, que son constantes a lo largo del secadero (v. texto). El cambio de entalpia del aire de calentamiento (menos las pérdidas) causa la evaporación del agua del sólido

donde Q representa el calor del secado. Si hubiera pérdidas en el ambiente, se tendrían que deducir de aquí. Dado un caudal de sólidos a secar, las ecuaciones anteriores permiten calcular el caudal de aire de secado mínimo (v. ejemplo 10.7).

Ejemplo 12.7. Secador de lecho fluido continuo: balances de entalpía

Se tienen que secar 4.530 kg/h de un precipitado húmedo que entrará en un secadero a 21ºC, con una humedad del 20 % (base seca), los cuales se tienen que secar hasta un 5% (base seca). Queremos diseñar un secadero de lecho fluido que trabaje a presión sensiblemente atmosférica. El aire de secado entra precalentado a alta temperatura, a 480ºC, con una humedad de Y = 0,01 kg/kg, y su temperatura húmeda es de 56ºC. Escríbase el balance de calor del secadero, y calcúlense los caudales de aire, las temperaturas y la composición del aire de salida hacia el ciclón, así como el PM del aire de salida húmedo.

A pesar de la alta temperatura del aire, su temperatura húmeda es moderada (56ºC) y, por tanto, se puede utilizar sin problemas en el secado.

Los valores de las humedades y de las temperaturas del secadero serán (v. símbolos al final):

Aire caliente: $T_i = 480$ºC, $Y_i = 0{,}01$; $T_o = 56$ºC

Sólido húmedo: $X_w = 0{,}2$, $T_w = 21$ºC; $X_d = 0{,}05$, $T_d = 56$ºC, $T_v = 56$ºC

Calores específicos: $C_s = 0{,}2$ kJ/kgºC, $\lambda_v = 2.502$ kJ/kg

Caudal de sólido húmedo = 4.530 kg/h, con un 20 % de humedad. Sólido seco,

$$m_s = 4.530/(1+0{,}2) = 3.775 \text{ kg /h}$$

Balance de entalpía. Aplicaremos la ecuación (12.36) que dá, Q/m_s:

$$Q/m_s = C_s\left(T_d - T_w\right) + X_w C_{agua-liq}\left(T_v - T_w\right) + X_d C_{agua-liq}\left(T_d - T_v\right) +$$
$$+\left(X_w - X_d\right)\left[\lambda_v + C_{agua-vap}\left(T_o - T_v\right)\right]$$

$$Q/m_s = 0{,}2\left(56-21\right) + 0{,}2\times 4{,}18\times\left(56-21\right) + \left(0{,}2-0{,}05\right)\left[2.502 + 0{,}2\times\left(56-56\right)\right]$$

$$Q = 3.775\times\left[\left(7+29{,}2\right)+375\right] = 1.552.280 \text{ kJ / h}$$

La variación de entalpía del aire valdrá:

$$Q/m_g = \left(C_{aire} Y_i C_{agua-vap}\right)\left(T_i - T_o\right) = \left(0{,}2 + 0{,}01\times 1{,}868\right)\left(480-56\right) = 424 \text{ kK / kg}$$

de modo que el caudal de aire seco en el secadero valdrá:

$$m_g = \frac{1{,}552\times 10^6}{424} = 3.661 \text{ kg/h}$$

y su capacidad de evaporación será:

$$m_{evap} = 3.775\times\left(0{,}2-0{,}05\right) = 566{,}2 \text{ kg / h}$$

Calculemos ahora los caudales de las corrientes del secadero.

Aire de salida. Corriente de aire húmedo que va hacia el ciclón:

$$Y_i = 0,01; \qquad Y_o = \frac{m_V + Y_i m_g}{m_g} = \frac{566 + 0,01 \times 3.668}{3.668} = 0,164 \text{ kg/kg}$$

Caudal total de aire húmedo que sale del secadero y va hacia el ciclón:

$$m_{ciclón} = m_g \left(1 + Y_o\right) = 3.668 \times \left(1 + 0,164\right) = 4.269 \text{ kg/h}$$

El peso molecular medio de este gas valdrá:

$$M = \frac{4.269}{\frac{3.669}{29} + \frac{556 + 36,8}{18}} = 26,8 \text{ kg/kmol}$$

El caudal de entrada de sólido húmedo es de 3.775 kg/h.

12.5.2 Fluidización y secadero de lecho fluidizado. Cálculo semiempírico

Primero, describiremos el fenómeno de la fluidización de un lecho de partículas sólidas con aire. Después, veremos la dispersión del tiempo de residencia de una corriente de sólidos en movimiento a través de un secadero y cómo este determina la media de humedad en la salida. En la figura 12.13, se representa un lecho fijo de partículas, atravesado por una corriente de aire que entra por el fondo. Las partículas están soportadas por una placa perforada o distribuidor de aire. Al incrementar el caudal del aire, la resistencia a la fricción de las partículas va aumentando y la caída de presión del aire también. Cuando la fricción del aire sobre las partículas se iguala a su peso, las partículas empiezan a separarse unas de las otras y quedan suspendidas en el aire. La velocidad del aire a que tiene lugar este fenómeno se denomina *velocidad mínima de fluidización*, u_{mf}, y el lecho pasa de fijo a fluidizado. Es decir, cuando $u_0 > u_{mf}$, la fluidización es incipiente y empieza el régimen de fluidización. La u_{mf} es una característica fundamental de un lecho fluidizado y, cerca de este punto, la fracción vacía del lecho es aproximadamente igual a la del lecho fijo, es decir, $\varepsilon_{mf} \sim 0,4$ (en caso de esferas iguales).

Al aumentar más el caudal de aire, la caída de presión no aumenta más y el exceso de aire sobre el correspondiente a la mínima fluidización tiende a pasar en forma de burbujas de aire o borbotones, que pueden ocupar toda la sección de paso. El régimen de lecho fluido se mantiene entre las velocidades de u_{mf} y u_t. En u_t, la velocidad del aire es tal que se lleva por arrastre las partículas fuera del lecho. Este es el régimen de transporte neumático, y ε tiende a la unidad (v. fig. 12.13).

Si utilizamos la ecuación de Ergun (v. cap. 8) para calcular la caída de presión del aire en un lecho fijo, tendremos:

$$-\frac{\Delta p}{L} = 150 \frac{\left(1-\varepsilon\right)^2}{\varepsilon^3} \frac{\mu u}{\left(\phi d_p\right)^2} + 1,75 \frac{\left(1-\varepsilon\right)}{\varepsilon^3} \frac{\rho u^2}{\phi d_p} \qquad (12.38)$$

donde ϕ es el llamado *factor de forma* de la partícula o *factor de esfericidad*. Por otra parte, el peso efectivo del lecho que gravita sobre el distribuidor valdrá:

$$-\frac{\Delta p}{L} = (1-\varepsilon)(\rho_s - \rho)g \qquad (12.39)$$

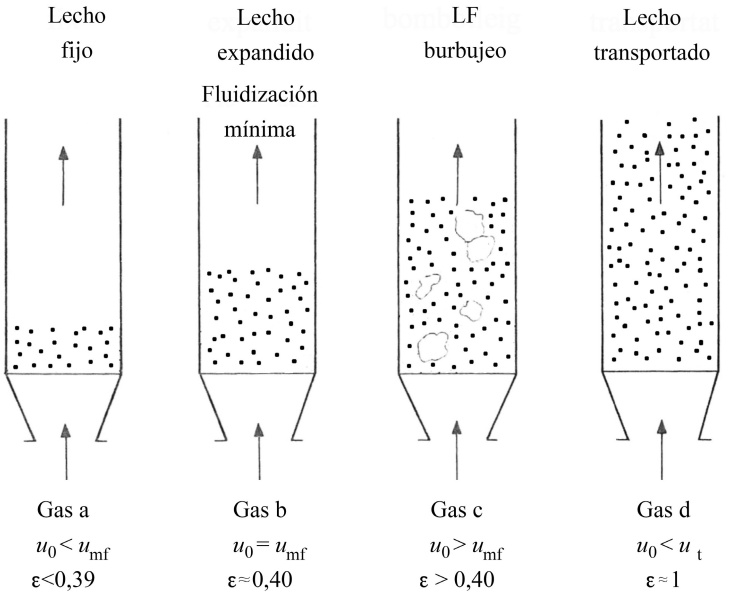


Fig. 12.13
Fundamentos de la fluidización de partículas sólidas: u_0 es la velocidad del aire, u_{mf} es la velocidad en que se inicia la fluidización; u_t es la velocidad terminal de caída libre de las partículas. Cuando se supera u_t, las partículas empiezan a ser transportadas fuera del lecho. Los aparatos de fluidización operan entre $2u_{mf}$-$10u_{mf}$ o más. Véase el valor de ε aproximado a cada régimen

En el momento de la fluidización incipiente, la caida de presión -Δp de Ergun se iguala al peso efectivo del lecho. A la velocidad mínima de fluidización, u_{mf}, ambas fuerzas son igules y el valor de u_{mf} se obtiene de la ecuación resultante.

Para partículas pequeñas, $Re_p < 20$, la contribución turbulenta de la ecuación de Ergun es despreciable, y únicamente cuenta el primer término de la derecha. En estas condiciones, la expresión de u_{mf} que se obtiene es:

$$u_{mf} = \frac{d_p^2(\rho_s - \rho)g}{150\mu}\left(\frac{\phi^2\varepsilon_{mf}^3}{1-\varepsilon_{mf}}\right), \quad \mathrm{Re}_p = \frac{d_p \rho u_{mf}}{\mu} < 20 \qquad (12.40)$$

donde el parámetro entre paréntesis se puede tomar, según Wen-Yu (v. Coulson-Richardson, 2003), como:

$$\frac{1-\varepsilon_{mf}}{\phi^2 e_{mf}^3} \approx 11 \qquad (12.41)$$

Tiempo de residencia de un sólido moviéndose por un secadero de LF. Es interesante señalar que los sólidos del lecho fluido se comportan como un fluido y, por tanto, se pueden hacer circular desde el punto de alimentación hasta el punto de salida del secadero de forma continua. Así pues, se aprovecha esta capacidad para hacer fluir partículas

húmedas por dentro del secadero, dándoles tiempo suficiente para secarse. Se dice así que las partículas constituyen un *macrofluido*, cuyos elementos están completamente segregados entre ellos. Dentro del secadero, el macrofluido fluye generalmente en *mezcla perfecta*, como demuestran diversos estudios; por tanto, podemos describir de manera sencilla su distribución del tiempo de residencia. Para el *flujo bien mezclado*, la función de distribución del tiempo de residencia es la siguiente (Levenspiel, 1973):

$$E(t) = \frac{\exp(t/\bar{t})}{\bar{t}} \quad \text{donde} \quad \bar{t} = \frac{W}{F_0} \tag{12.42}$$

donde t_{medio} es el tiempo medio de residencia del sólido en un lecho fluido, siendo W kg de sólido seco retenido en el lecho en operación continua y F_0 es el caudal de sólido seco o, en términos del secado, m_s. Recordemos que E(t) tiene la propiedad siguiente. El producto E(t)dt es igual a la fracción de sólido que sale del aparato que ha residido un tiempo comprendido entre t y t+dt. Se cumple, entonces, que:

$$\int_0^a E dt < 1 \tag{12.43}$$

esta integral representa la fracción de la corriente de salida que ha residido un tiempo α, o menos que α. La ecuación anterior representa la función de distribución acumulada, $F(t = \alpha) < 1$

Si se conoce el tiempo necesario para el secado completo de una partícula y este vale τ, podemos aplicar la teoría del núcleo menguante de reacciones gas-sólido al secado de partículas de tamaño total constante. El modelo gas-sólido más adecuado para la evaporación del agua de las partículas será aquel en que controla la transferencia externa de masa. Por tanto, podemos modelar el secado de una partícula como una entidad segregada del resto que circula durante un tiempo t en régimen de velocidad de secado constante. La evolución humedad-tiempo de la partícula será, pues (Levenspiel, 1973):

$$\frac{t}{\tau} = \text{Fracción de humedad libre evaporada} = \frac{X_0 - X(t)}{X_0} \tag{12.44}$$

de donde X(t) valdrá:

$$\frac{X(t)}{X_0} = 1 - \frac{t}{\tau} \qquad \text{para} \quad t < \tau \tag{12.45}$$

$$X(t) = 0 \qquad \text{para} \quad y \geq \tau \tag{12.46}$$

Así pues, resulta que la humedad de una partícula es lineal con el tiempo durante el secado cuando circula segregada, y cuando el coeficiente de transporte de masa externo controla el secado. Por tanto, la humedad media de una población de partículas que fluye con una E(t) arbitraria se puede calcular según el modelo de flujo segregado, como:

$$\bar{X}_d = \int_0^\infty X(t)E(t)dt \tag{12.47}$$

Teniendo en cuenta las expresiones de X(t) y E(t), y sustituyéndolas en la anterior integral, tendremos:

$$\bar{X}_d = \int_0^\tau X_0 (1 - t/\tau) \frac{\exp(-t/\bar{t})}{\tau/\bar{t}} dt \tag{12.48}$$

Integrando por partes, se obtiene:

$$\overline{X}_d = X_0 \left[1 - \frac{1 - \exp\left(-\tau/\bar{t}\right)}{\tau/\bar{t}} \right] \tag{12.49}$$

Otro caso es que las partículas sean porosas y el régimen de secado sea de velocidad decreciente. En tal caso, se postula empíricamente que hay una evolución exponencial de la humedad, del tipo:

$$X_d = \exp\left(-Bt\right) \tag{12.50}$$

Sustituyendo esta expresión en la ecuación del modelo de flujo segregado (ec. 12.47), se obtiene, por integración analítica:

$$\overline{X}_d = \frac{1}{1 + B\bar{t}} \tag{12.51}$$

Obtención de los parámetros del modelo. Quienes trabajan en el desarrollo de procesos saben que los secaderos se diseñan a partir de pruebas a escala reducida en el taller del constructor del secadero. Para un lecho fluido de laboratorio, utilizaremos una unidad que opere por cargas a la misma temperatura, con la misma velocidad de fluidización y el mismo tamaño que las partículas previstas. Es importante la fluidización correcta del material y la determinación de los valores de τ y, si es necesario de B, midiendo los perfiles de temperatura que se han explicado antes.

Un aspecto importante es determinar el tamaño de la partícula a la entrada del secadero. Es posible que el sólido húmedo provenga de una torta de filtración o de centrífuga. Por tanto, habrá que disgregarlo en forma de partículas pequeñas. Generalmente, se utiliza un molino rápido de martillos continuo en la cabecera de la alimentación de sólido, antes del tornillo sin fin o la válvula de introducción del material en el secadero.

Ejemplo 12.8. Dimensionado preliminar de un secadero de lecho fluidizado

Para el lecho fluido del ejemplo anterior, tenemos datos de la planta de laboratorio que nos pueden ayudar a calcular el lecho fluido de plena escala. Sabemos que las partículas tienen un tamaño $d_p = 0{,}500$ mm, un factor de forma (esfericidad) $\phi = 0{,}67$ y una densidad $\rho_s = 2.600$ kg/m^3. La porosidad del lecho en funcionamiento se fijará en $\varepsilon = 0{,}55$. A una velocidad de fluidización de $u_0 = 2\ u_{mf}$, el tiempo de secado de una muestra de sólidos en un lecho fluido por cargas a escala de laboratorio fue de 8 min, con el aire en las mismas condiciones ($T_w = 56$ºC).

A partir de un modelo simple de lecho fluido continuo, suponiendo que el sólido circula en un flujo de mezcla perfecta, con una distribución de tiempo de residencia ideal, determínense las dimensiones del lecho fluidizado industrial (altura y diámetro del cilindo).

Datos: Se estima que la viscosidad del aire es $\mu = 0{,}02$ mPa·s. Se supone que, a baja velocidad de trabajo, no hay mucho burbujeo y que la expansión del lecho es de un 10 % con respecto al lecho fijo. Para otros datos, véase el ejemplo 12.6.

d_p= 0,5 mm, $\mu = 0{,}02 \times 10^{-3}$ Pa·s, $\rho = 1$ kg/m^3, $\rho_s = 2.600$ kg/m^3. Como no sabemos la porosidad a mínima fluidización, tomamos el valor que se obtenga de la eq. de Wen-Yu:

$$\frac{1-\varepsilon_{mf}}{\phi^2 \varepsilon_{mf}^3} \approx 11$$

Velocidad mínima de fluidización:

$$u_{mf} = \frac{d_p^2 (\rho_s - \rho) g}{150\mu} \left(\frac{\phi^2 \varepsilon_{mf}^3}{1-\varepsilon_{mf}} \right) \qquad \text{válida si} \quad \text{Re} < 20$$

de donde:

$$u_{mf} = \frac{\left(0{,}5 \times 10^{-3}\right)^2 (2.600 - 1) 9{,}81}{150 \times 0{,}02 \times 10^{-3} \times 11} = 0{,}38\, m/s$$

Comprobemos que Reynolds a mínima fluidización sea inferior a 20:

$$\text{Re} = \frac{d_p u_{mf} \rho}{\mu} = \frac{0{,}5 \times 10^{-3} \times 1 \times 0{,}38}{0{,}02 \times 10^{-3}} = 9{,}5 < 20$$

Por tanto, tomaremos $u_0 = 2 \times 0{,}38 = 0{,}77$ m/s y supondremos que la expansión del lecho es de un 10 %.

Tiempo de residencia medio en el secadero. Tenemos $X_d = 0{,}05$ y $X_0 = 0{,}20$ kg/kg as, y el tiempo de secado de las partículas en un secador *por cargas* vale $\tau = 8$ min. Veamos cuánto tiene que valer el tiempo medio de residencia en el secadero. Utilizamos la expresión (12.49):

$$\frac{X}{X_0} = \frac{0{,}05}{0{,}20} = 1 - \frac{1 - \exp\left(-8/\overline{t}\right)}{8/\overline{t}} = 0{,}25$$

de donde, resolviendo, se obtiene $8/\overline{t} = 0{,}61$, y el tiempo medio vale 13,1 min = 0,22 h. Por tanto, el lecho tendrá que funcionar a un tiempo medio de 13,1 min, superior a 8 min.

Para una expansión del sólido en el lecho de un 10 %, la densidad del lecho fluido valdrá:

$$\rho_{lecho} = \frac{\rho_s (1-\varepsilon)}{1{,}1} = \frac{2.600 \times (1 - 0{,}55)}{1{,}1} = 1.060 \text{ kg / m}^3$$

y el volumen de lecho V deberá cumplir:

$$t = \frac{W}{m_s} = \frac{V \rho_{lecho}}{3.775} = \frac{V \times 1.060}{3.775} = 0{,}22 \text{ h}$$

de donde V = 0,78 m^3. Por tanto, las dimensiones de un lecho cilíndrico serán:

$$\frac{\pi D^2 u_0}{4} = m_{salida}\rho \qquad \Rightarrow \qquad D^2 = \frac{1{,}185 \times 4}{0{,}78} = 1{,}935 m^2$$

de donde las dimensiones del lecho fluido, D = 1,391 m y sección = 1,51 m^2. La altura de sólido en el lecho durante la operación será de 0,51 m.

12.6 Consideraciones finales

En este capítulo, se han descrito los principales aparatos de secado que se utilizan en la industria biofarmacéutica. Un secadero industrial es obra de profesionales de la construcción de aparatos; por tanto, se han proporcionado definiciones de aire húmedo y de secado, y se han explicado unos procedimientos muy generales para describir el tipo de secadero que se debe escoger, con indicaciones globales de los balances de masa y energía necesarios para poder plantear soluciones en colaboración con el constructor.

En biotecnología, conviene saber qué sólido se quiere secar y si hay que hacerlo (v. tabla 12.2). Hay que hacer pruebas a escala piloto con diferentes secaderos y preparar suficiente acopio de sólido húmedo para realizar dichas pruebas. Ello puede resultar muy caro. Hoy en día, en el laboratorio del constructor hay secaderos de lecho fluido, atomizadores o, simplemente, estufas al vacío, para determinar la adecuación de los aparatos. Las dimensiones mínimas para estudiar un proceso de secado son las siguientes.

Secaderos rotatorios. Las dimensiones mínimas son 30 cm de diámetro del tambor y 2 m de longitud, con una rotación del tambor de 20 o 30 rpm, y calentamiento eléctrico.

Secaderos neumáticos. Un tubo de subida de 8 cm de diámetro y 2 m de altura, dando diversos pasos del sólido, para simular unos 10-12 m de altura. La velocidad del aire es de 1 m/s y la alimentación, de unos 0,1 kg/min.

Atomizadores. Con respecto a los secaderos de atomización, nos remitimos a la experiencia de Niro Atomizer (Dinamarca), descrito por Perry-Green. Las condiciones serían disponer de un secadero con un tambor de 1 m de diámetro y 2 m de altura, con un caudal de aire de 0,5 m^3_N/min a una presión suficiente. Con un equipo así, se puede obtener una velocidad de evaporación de 10-25 kg/h y partículas de 5 a 40 micras.

Lecho fluidizado. Los secaderos de lecho fluido han de tener una capacidad de trabajo de 50 kg/h de evaporación para ser significativos. Sin embargo, se pueden extraer conclusiones en el taller del proveedor con unidades más pequeñas, trabajando por cargas. Es importante definir exactamente (v. ejemplos presentados) el estado en que llegan las partículas y cómo disgregarlas, así como la u_0 de trabajo en el diseño del secadero final.

Con respecto a los proveedores, cabe mencionar Riera Nadeu, SA (Barcelona), en el campo de los secaderos neumáticos de tipo *flash* y de tipo Jet O Drier; Niro Atomizer, para atomizadores, y Telstar, SA, para sistemas de secado al vacío y liofilización, como los constructores con más experiencia. Otros constructores de molinos y lechos fluidos son Olivé y Batlle, SA (Badalona).

12.7 Notación

a	Área específica de un sólido, en m^2/kg
A	Área, en m^2
B	Coeficiente de secado en período de velocidad decreciente, s^{-1}
C	Calor específico, en kJ/kg ºC
Cs	Calor húmedo, en kJ/ kg ºC
Δp	Caída de presión del lecho fijo, en Pa
d_p	Tamaño de la partícula, en m
E(t)	Distribución del tiempo de residencia, en s^{-1}
F_0	Caudal másico, en kg/s
G	Flujo másico, en kg/m^2s
g	Aceleración de la gravedad, 9,81 m/s^2
h	Coeficiente de convección de calor, en W/m^2K
H	Entalpía, en kJ/kg
h_R	Convección-radiación, en W/m^2 K
k_e	Coeficiente de conducción efectiva en un medio poroso, en W/m K
k_m	Coeficiente de conducción del metal, en W/m K
L	Espesor del lecho fijo, en m
L	Altura del lecho fluido, en m
m	Pendiente
m_g	Caudal másico, en kg de aire o m_s de agua/s
N	Flujo de secado, en kg de agua/m^2 kg
n_A	Moles A
p_A	Presión parcial del componente A, en bar o Pa
p_{tot}	Presión total, en bar o Pa
q	Flujo de calor total, en W/m^2
Q	Cantidad de calor, en kJ
q_c	Flujo de convección, en W/m^2
q_k	Flujo de conducción, W/m^2
q_R	Flujo de radiación+convección, en W/m^2
Re	Número de Reynolds
s	Porcentaje de sólidos de un sólido húmedo, en kg/100 kg de sólido húmedo
t	Tiempo, en s o h
T	Temperatura, en ºC
t_{medio}	Tiempo medio de residencia, en s
u	Velocidad, en m/s
U_k	Coeficiente global en un medio compuesto, en W/m^2K
u_{mf}	Velocidad de fluidización incipiente, en m/s
u_t	Velocidad terminal de una partícula, en m/s
V	Volumen, en m^3
w	De masa de agua, en kg
W	Peso retenido en un lecho fluido continuo, en kg ss
X	Humedad de un sólido, en kg de agua /kg ss
X*	Humedad de equilibrio, en kg/kg ss
X_c	Humedad crítica, en kg/kg ss
Y	Humedad absoluta del aire, en kg de agua/kg as
y	Fracción molar de vapor en el aire húmedo, en mol/mol
z	Coordenada de longitud, en m
ε	Porosidad
ϕ	Coeficiente de esfericidad
λ	Calor latente de vaporización, en kJ/kg de agua
μ	Viscosidad, en Pa·s
ρ	Densidad, en kg/m^3
τ	Tiempo de secado de una partícula, en s
as	Aire seco
ss	Sólido seco

Diseño y evaluación económica de bioprocesos

Este capítulo trata del diseño y del estudio económico de los bioprocesos. Nuestros objetivos son esencialmente didácticos: primero, explicar al estudiante cómo se diseña un bioproceso en la práctica y, segundo, entender qué hacen los simuladores de bioprocesos ante un problema de diseño y qué instrumentos contables emplean para evaluar su economía. Nos interesa más la metodología de diseño que el bioproceso en sí.

El análisis económico es un aspecto básico del manual de diseño de un proyecto. Se tratan aquí los métodos prácticos de cálculo de los equipos, en especial el fermentador, y su valoración económica, así como los métodos de evaluación de la inversión. El objetivo del capítulo es proporcionar la información básica de los métodos de diseño y el análisis de la rentabilidad orientado a la toma de decisiones.

Suponemos que el lector está familiarizado con el funcionamiento económico de una empresa y que conoce qué son el balance de situación y la cuenta de pérdidas y ganancias de un negocio durante un período de tiempo. Puede encontrarse un breve resumen de estos instrumentos de contabilidad en los tratados de economía (por ejemplo, Samuelson, 1980).

El cambio oficial de la moneda única con respecto al dólar norteamericano ha ido oscilando. Entre 2000 y 2006, era de 1,30 $/€, y después fue cayendo a raíz de la depreciación del euro debida a la crisis iniciada en 2007. En la actualidad (marzo 2017), el cambio es de ~1,07 $/€. En lo que sigue, el valor del dinero se expresa tal como figura en las fuentes que se citan, ya sea en euros (€) o en dólares ($ o USD).

13.1 Diseño de proceso

El diseño del proceso es una actividad que se realiza *con anterioridad* a la elaboración del proyecto constructivo o de ampliación de la planta. Consiste en dos actividades principales: la síntesis y el análisis de los procesos. En la síntesis, se selecciona el

conjunto de operaciones unitarias, se establece el diagrama de flujo básico y se dimensionan los equipos. El diseño final da como resultado una planta capaz de producir el producto deseado. En el análisis de los procesos, se prueban y simulan distintas soluciones alternativas.

Fig. 13.1. Fermentador y operaciones para el procesado posterior

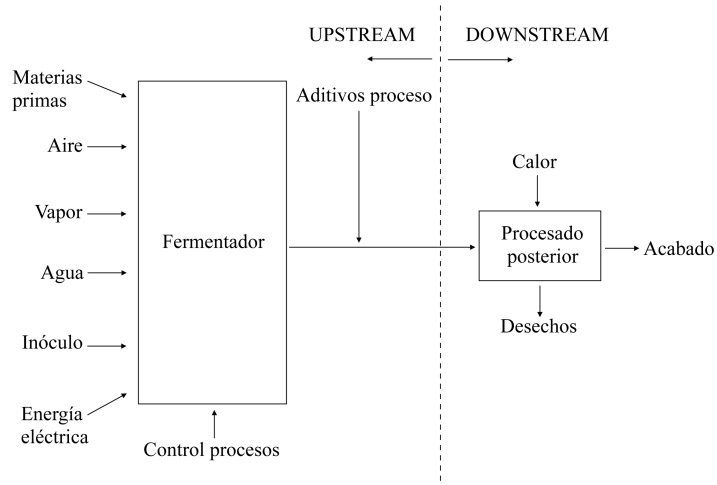
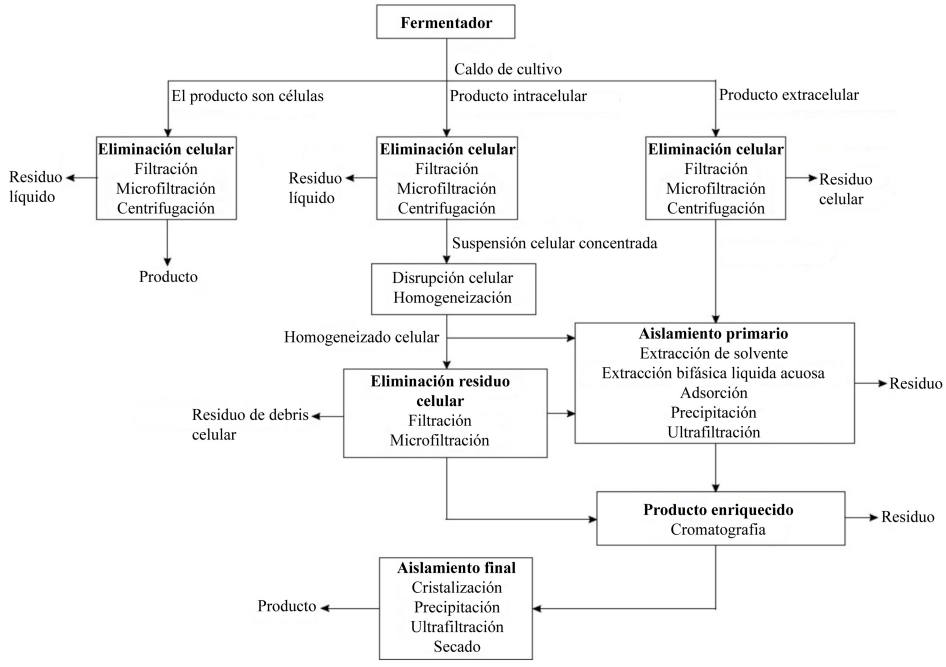


Fig. 13.2. Esquema de los procesos de separación según la localización del bioproducto. A la izquierda, el bioproducto son las células. En el centro, el producto está en el citoplasma celular. A la derecha, el producto ha sido segregado al medio



En la figura 13.1, se señalan las diferencias entre lo que se entiende por sección de reacción o *upstream processing* (sección del fermentador) del bioproceso, y los procesos de separación y recuperación del producto, concentración y purificación, denominados *downstream processing*, procesado posterior o de recuperación y purificación del producto.

La figura 13.2 resume, de forma esquemática, las operaciones de separación y purificación necesarias, según cuál sea el bioproducto deseado y dónde se encuentre con respecto a las células y al medio. Se distinguen tres casos: el producto son las propias células, el producto es intracelular o el producto ha sido segregado al medio de cultivo.

Petrides (2015) realiza una recopilación exhaustiva de posibles operaciones de separación, que no reproducimos aquí debido a su extensión. Para escoger un proceso de fabricación, de momento nos basta con los procesos/operaciones de la figura 13.2.

13.2 Tipos de estimaciones de diseño, su coste y precisión

Consideremos un proyecto típico de biotecnología, de 50 M$. La precisión o el margen de error y su coste de elaboración dependerán del detalle requerido, del personal que se emplee y del tiempo de realización del trabajo. La estimación puede ser de cinco tipos, según el propósito del estudio y la precisión exigida. En ingeniería de procesos, son habituales los tipos de proyectos que se indican en la tabla 13.1.

En la figura 13.3, se muestran los tipos de estimaciones que se llevan a cabo durante el ciclo de vida de un bioproducto a partir de una cartera de productos candidatos disponibles del departamento de I+D. Los niveles 1 a 5 de la figura 13.3 son los de la tabla 13.1. A este respecto, es necesario aclarar qué personas realizan las estimaciones de la tabla anterior a cada nivel. Pero, antes, hemos de comentar los datos de los biorreactores para el cultivo de células, publicados por algunas importantes empresas biotecnológicas. Los datos de las columnas 1ª a 4ª de la tabla 13.2 tienen un significado claro. Sin embargo, la última columna de la tabla debe interpretarse como el coste del capital fijo total por cada unidad de volumen de biorreactores instalados, y no como el coste unitario de un biorreactor.

Así, en Europa en 2003, el coste de capital de los biorreactores era aproximadamente el 30 % de ese total. Los biorreactores de producción, como puede verse en la tabla, tienen un volumen de 12,5 a 20 m^3, eso es, industrialmente son bastante grandes, por la potencia de agitación instalada. El coste de compra en Europa de un biorreactor de 25 m^3 era, en 1986, de 500.000 €, aproximadamente. Estimado su coste a partir de los índices de coste correspondientes (v. *infra*), su coste de compra en 2015 sería de ~ 900.000 €. En suma, un reactor de 25 m^3 que costaba 0,5 M€, en la actualidad cuesta cerca de 1 M€. Parece, pues, que los datos de Petrides son un tanto elevados. Según este autor, un reactor de 20 m^3 costaría hoy unos 38,3 M$ –(750/6) × 0,30 = 38,3 M$–, o sea, unos 1,9 M$/m^3, cifra que no parece comparable con los datos de Europa antes citados. En definitiva, los datos de la tabla 13.2 son adecuados más bien para estimar el *capital total de la inversión* en función de los m^3 de biorreactores de la planta, pero no deben utilizarse para estimar el valor de un reactor. Nótese que Petrides no aporta claramente el coste de compra de un biorreactor en función de su volumen. Estos datos los facilitaremos más adelante para otros aparatos de la planta.

Un conjunto sistemático de datos históricos sobre fermentadores es aportado por Kalk y Langlykke en 1986 (Blanch-Clark, 1997). Los datos más modernos sobre costes unitarios pueden verse en otro ejemplo facilitado por Petrides *et al*. (2014). En este trabajo, se cita un coste de 1,95 M$ de un biorreactor de 19 m^3, que sí parece coherente con los datos europeos, puesto que 1 € ~ 1 USD.

Tabla 13.1
Tipos de estimaciones de diseño, alcance, error y coste

Nivel	Tipo de estimación y alcance[a]	Error (%)[a]	Coste[b] (en miles €)
1	De orden **de magnitud** (por ratios), basándose en proyectos anteriores.	< 50 %	< 5
2	**De estudio**. Planificación del proyecto (presupuesto); se conocen los equipos principales y los servicios. Especificaciones preliminares. Lista de motores y consumos eléctricos.	±25-30 %	30-100
3	**Preliminar**, con suficientes datos de los equipos para poder presupuestar. Diagrama de proceso y de servicios, planimetría preliminar.	±10-25 %	250-750
4	**Definitiva** (para la aprobación de la inversión), con datos completos del proceso. Sirve para el control de costes.	±10 %	1.250-2.000
5	**Detallada**, de aprovisionamiento y construcción (para contratistas). Planos definitivos, hojas de especificación, planimetría definitiva y datos del terreno. Equivale a llaves en mano.	±5 %	3.500-7.000

[a] Datos de Matas (1975): *Análisis económico de inversiones industriales*
[b] Costes de 2015 para proyectos de biotecnología de 50 M€ (Petrides, 2015

Tabla 13.2
Inversión en instalaciones con biorreactor (por ejemplo, anticuerpos monoclonales)

Empresa	Volumen de biorreactores	Año de p.e.m.	Inversión total[a], 10^6 $	Inversión[b] 10^6 $/m^3$
Boehringer-Ingelheim (Alemania)	$6 \times 15 = 90\ m^3$	2003	296	3,3
Bristol-Myers-Squibb (Estados Unidos)	$6 \times 20 = 120\ m^3$	2009	750	6,2
Roche Pharma (Suiza)	$6 \times 12{,}5 = 75\ m^3$	2009	375	5,0

[a] Incluye el biorreactor (30 % aprox. del total) y equipo anexo (70 %).
[b] Ratio: inversión total/volumen de biorreactores (Petrides, 2015)

Volviendo al tema de las personas que se ocupan de las estimaciones de la tabla 13.1, queremos ver qué trabajos de proyecto son realizados por personal de la empresa y cuáles se externalizan. Los trabajos de los niveles 1, 2 y 3 pueden ser realizados por personal del departamento de ingeniería de la propia empresa. En concreto, el nivel 1 debe ser realizado por personal de investigación, en estrecha cooperación con la ingeniería del proceso. La respuesta al nivel 1 de un ingeniero experimentado que evaluara una planta de 50 M$ equivaldría a un montante total medio de (3,3+6,2)/2 = 4,7 M$/$m^3$. Un 30 % de dicha cantidad correspondería al biorreactor, o sea, 1,4 M$/$m^3$, cifra que resulta bastante elevada.

Ya hemos dicho que Petrides *et al*. (2014) valoran en 1,94 M$ un biorreactor de 19 m^3. Este valor es cercano al de Kristiansen, actualizado al momento actual. Así, para unidades de 25 m^3, para ofertas europeas, costaría ~1.000.000 € en 2015 y, según

aquellos autores, 1,94 M$, con lo cual las cantidades ya se acercan más. Más adelante volveremos sobre el particular.

Las estimaciones de los niveles 2 y 3 (tabla 13.1) serían realizadas también por el personal de ingeniería de la empresa.

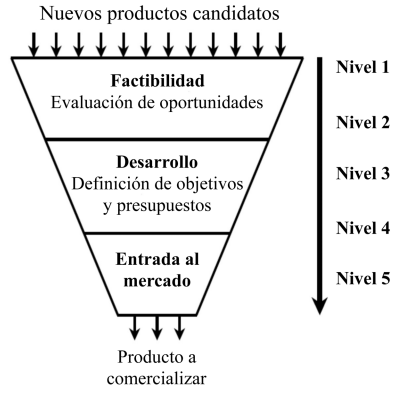


Fig. 13.3
Selección entre los productos candidatos, en una empresa biotecnológica. Los niveles 1 a 5 se indican en la tabla 13.1

En cambio, los trabajos de los niveles 4 y 5 de la tabla 13.1 serán realizados por personal de empresas de ingeniería y construcción externos, contratadas al efecto y en estrecha colaboración con el responsable del bioproceso.

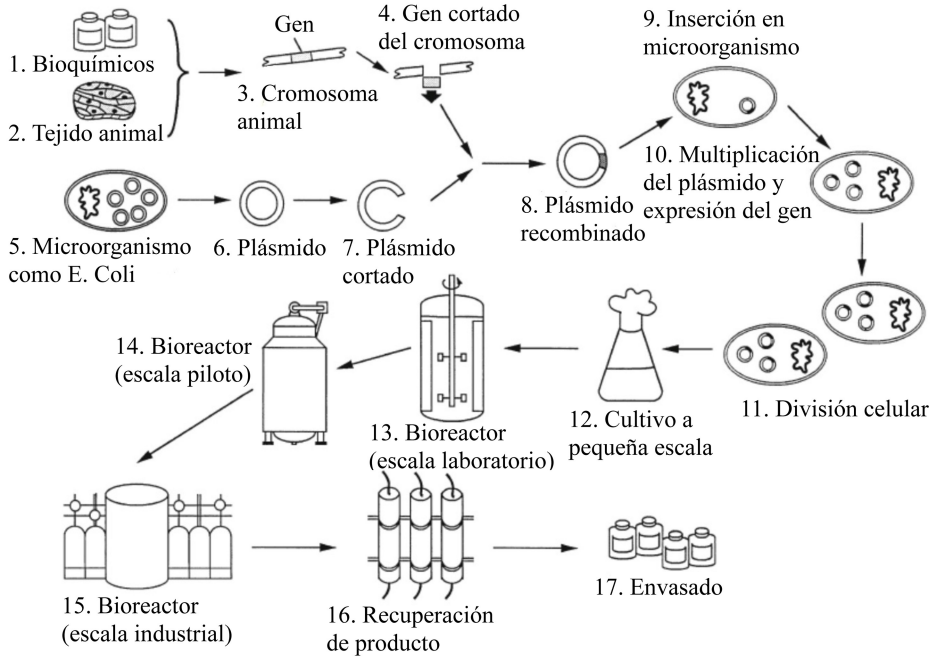


Fig. 13.4
Pasos de un nuevo bioproceso comercial con la técnica de modificación del ADN

En la figura 13.4, se representa un bioproceso farmacéutico moderno, basado en la tecnología de ADN recombinante, con los niveles el apartado 13.5. Para el diseño preciso del equipo de cultivo celular o del fermentador, deben comprenderse muy bien las etapas realizadas a la vista de la figura 13.3, es decir, el procesado *upstream* o previo, que nos permite calcular el volumen del fermentador para una producción dada. La preparación del inóculo y la propagación de la cepa se realizan escalonadamente. Una parte se realiza en el laboratorio (hasta un biorreactor de 15-25 L) y, después, el resto del escalado se efectúa en la planta de proceso (hasta 25 m^3, con unidades pequeñas, v. figs. 13.4 y 13.5).

13.3 Diseño y evaluación económica

En este libro, no se ha estudiado la fermentación ni la cinética de crecimiento celular, puesto que el objetivo son los procesos de separación, comunes a la mayoría de los bioproductos. Más adelante, veremos que todo el diseño empieza calculando el fermentador principal. Para ello, emplearemos los conceptos básicos de reactores discontinuos, conociendo el tiempo de operación y el tiempo muerto (v., por ejemplo, Levenspiel, 1996).

Nuestro enfoque se dirige más bien a explicar cómo se aplica la metodología de diseño, independientemente del bioproducto. Este enfoque interesa al estudiante que estudia por vez primera estos métodos. Sin embargo, si el lector está interesado en utilizar el software de diseño, recomendamos el tratamiento de Petrides (2015), porque es adecuado para profesionales.

En el apartado 13.5, se presenta el ejemplo de un caso de diseño, que corresponde a la producción de la proteína GMF por crecimiento aerobio, según describe Kristiansen (2006). Las características de la misma y su proceso de producción y comercialización se dan en la tabla 13.3. Antes de empezar el estudio del caso, se resumen los elementos de economía de procesos.

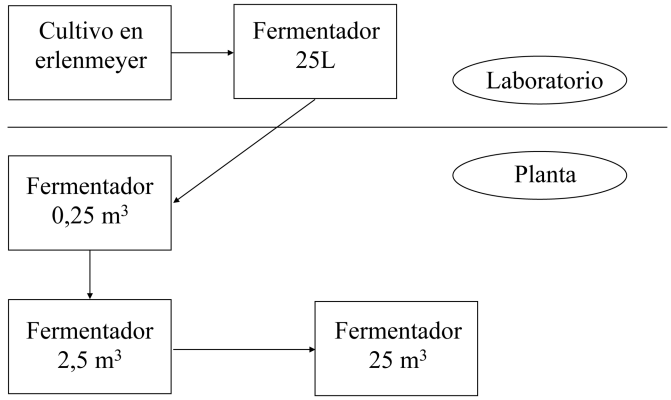


Fig. 13.5 Propagación del inóculo en el laboratorio y en la planta de producción de GMF (para la justificación de los volúmenes, v. texto)

13.4 Economía del proceso

Nos interesará estimar el capital fijo y los costes de operación, y analizar la rentabilidad. Para el caso de los productos biofarmacéuticos, lo primero que queremos saber es el coste medio de desarrollo de un nuevo producto. La mayor parte de este coste es debido *a todos los productos que se halla en fase de desarrollo* en la propia empresa. Sin embargo, no todos los productos llegan a comercializarse. Por tanto, el verdadero coste de desarrollo de un producto de éxito puede llegar a ser muy grande. Como el 90 % de los nuevos productos en fase de investigación no llegan al mercado, el coste medio de I+D resulta ser enorme. De ahí la necesidad de unas metodologías que permitan realizar una evaluación eficiente para poder eliminar rápidamente los productos inviables y tomar decisiones con fundamento.

13.4.1 Estimación del coste de capital

El capital fijo para una nueva planta está integrado por tres sumandos:

- el capital fijo directo,
- el capital circulante o de trabajo y
- los costes de la puesta en marcha (p.e.m.) y la validación.

Estimación del capital fijo directo (biorreactor más equipo de separación)

La estimación del capital fijo (o PC, *purchase cost*) se hace considerando el coste del equipo principal (biorreactor) en función de su volumen, calculado y actualizado al momento presente. A este, cabe añadir los costes de los aparatos de separación. Los costes de adquisición de fermentadores y separadores se dan generalmente en gráficos *log-log* (v. figs. 13.6 a 13.10, para algunos equipos). Una vez conocido el coste del equipo principal (PC), se emplea el método factorial de Lang para añadir el del resto del equipo de la planta física total (v. *infra*). Veamos el procedimiento a seguir.

El precio de compra de un aparato depende de dos factores: de su capacidad o tamaño, y del año en que se efectúa la compra. Veamos cómo actualizamos estos dos factores.

En la figura 13.16a, se indican los precios de compra de fermentadores y similares, desde 0,2 m^3 hasta más de 100 m^3, en 1985, según Kalk y Langlykke. En las figuras 13.6b y 13.7 a 13.10, se dan los precios de los aparatos de separación: centrífugas de discos, filtros de membrana y columnas cromatográficas, en 2012, según Petrides.

Capacidad. Para muchos de estos equipos, la relación con la capacidad es de tipo potencial, o sea, proporcional a V^n, lo cual permite estimar los costes para distintas capacidades, mediante un cociente de capacidades elevado a n (v. *infra*). El valor de n oscila entre 0,65 y 0,74. (Este exponente a veces no se conoce, entonces se puede tomar como n= 2/3= 0,67.) El cálculo de dos capacidades se hace de la forma siguiente:

$$\text{Coste}_2 = \text{Coste}_1 \times \left(\frac{\text{Capacidad}_2}{\text{Capacidad}_1} \right)^n \qquad n = 0,67 - 0,74 \qquad (13.1)$$

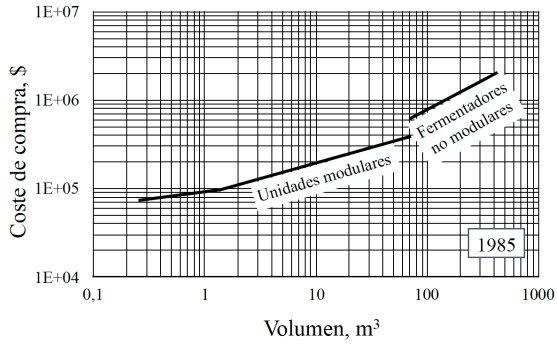
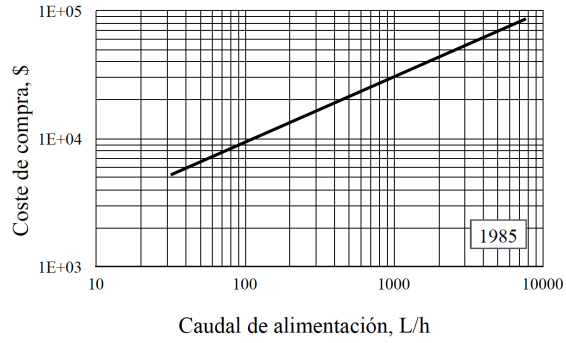


Fig. 13.6. Precio de compra (de 1986) en función de la capacidad: Arriba, fermentadores; Abajo, homogenizadores.



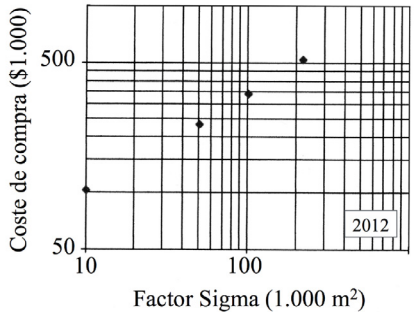


Fig. 13.7. Precio de compra (de 2012) de centrífugas de discos en función del factor Sigma.

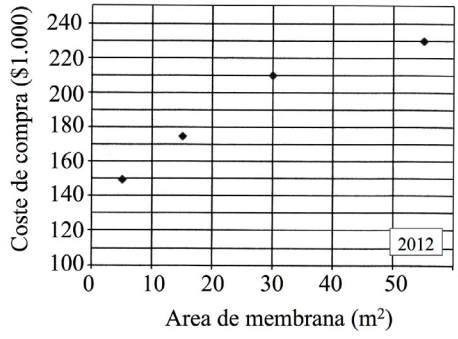


Fig. 13.8 Precio de compra de filtros de membrana en función del área (datos de 2012)

Efecto del tiempo. Para pasar el coste de un año a un año posterior se emplean los índices de coste, un método común en economía. En biotecnología, se utilizan dos índices: el *Chemical Engineering Plant Cost Index* o CE, y el Índice de Marshall y Swift o M&S. El CE se publica cada mes en un apartado especial de la revista *Chemical Engineering* y pueden obtenerse sus datos históricos en la literatura (v. Vatavuk, 2002) o en internet.

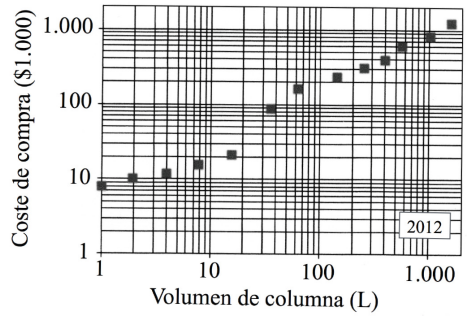


Fig. 13.9
Precio de compra de columnas para cromatografía en función del volumen (datos de 2012)

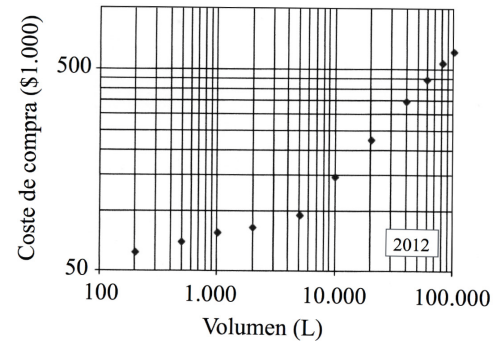


Fig. 13.10
Precio de compra de tanques agitados (inoxidables) en función de su volumen (datos de 2012)

Por definición, el coste de compra de un equipo es proporcional al índice de coste del año en cuestión. Para el índice CE, se toman como valor 100 los años 1959-1963. Por ejemplo, para 2006, el precio de un aparato es P_{2006}, siendo el índice CE = 478,6. Si, en la actualidad (2014), el índice CE vale 579,8, para calcular el precio del aparato en 2014 hemos de hacer:

$$P_{2014} = P_{2006} \times \frac{579,8}{478,6} = 1,21 \times P_{2006} \qquad (13.2)$$

o sea, costará un 21 % más hoy que en 2006 en dinero corriente. Nótese que el índice de coste refleja la inflación en los Estados Unidos.

Efecto de la capacidad. Para corregir los valores de compra según la capacidad de un equipo y de un cambio de año de compra, se efectúa el cálculo siguiente (suponiendo n = 0,74):

$$\text{Nuevo Coste}_2 = \text{viejo coste}_1 \times \left(\frac{\text{capacidad}_2}{\text{capacidad}_1}\right)^{0,74} \times \left(\frac{\text{nuevo índice}_2}{\text{viejo índice}_1}\right) \qquad (13.3)$$

Así, obtendremos el nuevo precio de compra en USD del año para el nuevo índice 2.

Estimación del capital fijo total: método de Lang. Una vez conocido el coste de compra del equipo principal (*purchase cost* o PC), incluyendo biorreactores y aparatos de separación, se calcula el aumento de coste debido a otros conceptos de coste fijo. Los factores multiplicadores del PC en biotecnología se indican, de forma resumida, en la tabla de los factores de Lang (tabla 13.3). Esta tabla permite calcular el coste total de la planta (*total plant cost* o TPC), sumando el coste directo de la planta (TPDC) y el coste indirecto (TPIC)

Así, el coste indirecto de la planta, más el coste de ingeniería y construcción, nos da el coste indirecto total o TPIC. El coste total de la planta (TPC) se obtiene sumando el coste directo y el indirecto, es decir, TPDC+TPIC.

Nótese que, para una estimación rápida, basada en el método de Lang, se puede considerar que TPDC es igual a 3,53 × PC (tabla 13.3), sin especificar los costes parciales.

Tabla 13.3 Estimación del capital fijo directo por el método de Lang

Concepto		**Factor medio**[a]	**Rango de los factores**
	Coste de compra del equipo principal = PC	1,0 × PC	
	Instalación	0,50 × PC	0,2-0,15
	Tuberías	0,40 × PC	0,3-0,6
	Instrumentos y control	0,35 × PC	0,2-0,6
	Calorifugados	0,03 × PC	0,01-0,05
	Electricidad	0,15 × PC	0,1-0,2
	Edificios	0,45 × PC	0,1-3,0
	Mejora del terreno	0,15 × PC	0,05-0,2
	Inst. auxiliares	0,50 × PC	0,2-1,0
	TOTAL TPDC	3,53 × PC	
Coste indirecto de la planta (TPIC)			
	Ingeniería	0,25 × TPDC	0,2-0,3
	Construcción	0,35 × TPDC	0,3-0,4
	TOTAL TPIC	0,60 × TPDC	
Coste total de la planta (TPC)		Coste directo+Coste indirecto (TPDC+TPIC)	
	Contratista	0,05 × TPC	0,03-0,08
	Imprevistos	0,10 × TPC	0,07-0,15
Capital fijo directo (DFC)		TPC + contratista + imprevistos	

[a] Para plantas de biotecnología (Petrides, 2015)

Capital de trabajo o circulante. Es el capital de que debe disponerse para gastos e inversiones en gastos corrientes y fungibles para el funcionamiento del proceso (por ejemplo, materias primas para dos meses, salarios para tres meses, etc.). Normalmente, este concepto no excede del 20 % del capital fijo directo. Razonando sobre el balance de la empresa, se demuestra que el capital de trabajo equivale a:

Capital de trabajo = Activo circulante - Pasivo circulante

que, en términos del balance, es:

Capital de trabajo = Capital propio + Deudas - Activo fijo

En biotecnología, el capital de trabajo representa un 10-20 % del capital fijo directo (CFD).

13.4.2 Estimación de los costes de producción

En la figura 13.11, se desglosa el coste de producción total, que comprende: los costes de I+D, los costes del fermentador, las separaciones y los costes de administración y marketing. En la tabla 13.4, se desglosan los costes de producción y los rangos de variación, según Petrides (2012).

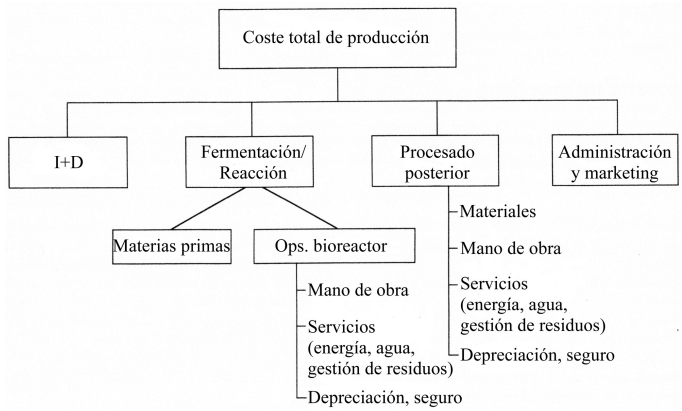


Fig. 13.11
Coste de producción

Concepto	Tipo de coste	Incidencia (% del total)
Materias primas	Directo	10-80
Mano de obra	Directo	10-50
Fungible	Directo	1-50
Lab. / Contr. calidad / AC	Directo	1-50
Tratamiento de residuos	Directo	1-20
Servicios	Directo	1-30
Costes generales	Indirecto	10-70
Otros	Indirecto	0-20

Tabla 13.4
Costes de producción en biotecnología

13.5 Estudio de un caso: producción de la proteína GMF. Diseño y evaluación económica de la inversión

Nos basaremos en el caso descrito por Kristiansen (2006), como ejemplo de un caso preparado por dicho autor utilizando, en parte, el simulador BioPro Designer, creado por Petrides en Intelligen.

La GMF es una proteína recombinante que se produce por crecimiento aerobio de una cepa modificada del hongo *Alternaria sp*. Se comercializa en forma de comprimidos o cápsulas después de su aislamiento, purificación, secado y posterior acabado. Se utiliza para el tratamiento de la obesidad. Hasta la fecha, la ha comercializado Armaflex plc a un precio interesante, con un mercado muy consolidado durante años.

Nuestra empresa ha desarrollado un nuevo proceso, alternativo al de nuestra competidora, cuyas patentes acaban de expirar. Nuestra GMF tiene ventajas sobre la de la competencia. Nos proponemos fabricar y vender 252 kg/año, a un precio de 100 €/g. Ambas cifras han sido establecidas por nuestro departamento comercial en un estudio de mercado realizado durante varios años. Disponemos, además, de la documentación de aprobación del producto y, según la información de nuestro departamento de I+D, sabemos que:

- nuestra proteína no tiene efectos secundarios;
- un ligero exceso de ingestión se tolera bien;
- admite aromas y sabores, y
- la podremos vender de inmediato, gracias a un mercado maduro.

Nuestro primer paso es diseñar y evaluar una planta de producción. Además, deberemos calcular:

- los costes de capital (fermentador y separadores + otros CFD);
- los costes de operación y depreciación;
- los flujos de caja descontados (DCF) para cada año de vida de la planta, desde el inicio del proyecto hasta su cierre, y
- sensibilidad del proyecto a determinados factores (en especial, al precio de venta y a los costes financieros).

13.5.1 Proceso de producción de la proteína

Para realizar una estimación de costes, primero hay que definir el proceso de producción. En la figura 13.12, se presenta el diagrama de bloques, basado en el proceso de nuestro laboratorio y planta piloto. Este diagrama es *anterior* al proyecto y constituye la base del mismo. Hemos de responder a las cuestiones siguientes:

1. Diseño del fermentador
2. Programación de la producción
3. Costes de la sección de fermentación
4. Costes de separación
5. Costes totales
6. Costes de producción
7. Estudio económico

Aquí trataremos los puntos 1 a 6, dejando el punto 7 para una exposición más extensa.

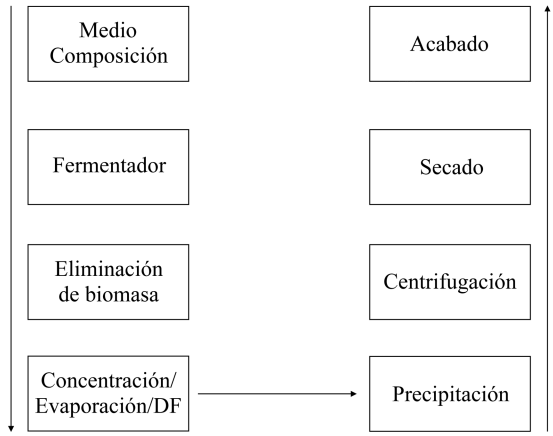


Fig. 13.12
Diagrama de bloques del proceso de producción de la proteína GMF

Diseño del fermentador

Normalmente, una planta de proceso funciona a 3 o 4 turnos, durante un total de 8.000 h/año (de las 8.760 h teóricas). La producción total del fermentador, 280 kg/a, ha de cubrir la producción prevista, más las pérdidas. Así pues, podemos escribir la producción anual, en función de V, C_p, y b como sigue (v. tabla 13.5):

$$F_p = \left(0,75VC_p\right)b = 280 \tag{13.4}$$

donde F_p es la producción anual del fermentador, en kg/año; y b es el número de operaciones/ año. El factor 0,75 es la fracción del volumen total del fermentador ocupado por líquido. Utilizando los datos de la tabla 13.5 y sustituyendo en la ecuación 13.4, se obtiene la relación siguiente:

$$bV = 1244m^3 / a \tag{13.5}$$

Así pues, se observa que el volumen del fermentador no está determinado, de forma que lo que se conoce es el producto de su volumen por el número de cargas al año. Así pues,

podemos escoger un aparato muy grande que realice unas pocas operaciones al año o, al revés, un fermentador pequeño que no pare nunca.

El tamaño que se escogerá depende de varios factores. En primer lugar, de si el fermentador es *dedicado o compartido*, es decir, si procesa un único producto o se trata de una planta multiproducto. En segundo lugar, el valor de *b* dependerá, en realidad, del coste de amortización del fermentador por kg de producto, A_D/F_p, que aceptemos pagar, y del coste del fermentador en si según su volumen. Dichos costes y su incidencia sobre el producto se representan en la figura 13.13. En esta figura se ve la curva de producción, la amortización y el coste de amortización, todos ellos en función del tamaño del fermentador.

Una decisión acertada es tomar un fermentador como los que sugiere la tabla 13.2, de unos 10-20 m^3, o algo mayor. Si tomamos un fermentador un poco más grande, por ejemplo, de 25 m^3 (que después justificaremos), los costes de amortización por kg serán más pequeños. Además, al tener un volumen holgado, podremos compartir la producción con otros productos, o bien trabajar a mano para otra empresa.

Tabla 13.5
Datos de la fermentación aerobia de GMF

Producción anual de la planta	**252 kg/a**
Pérdidas de producto	10 %
Producción del fermentador principal F3	280 kg GMF/a
Medio de cultivo	Sintético
Tipo de agua	Corriente
Tiempo de fermentación	t = 6 d
Tiempo muerto	t_m= 1 d
Volumen útil del fermentador	75 %
Concentración final de células	X_f = 20 kg/m^3
Inóculo inicial	X_0 = 2 kg/m^3
Velocidad de crecimiento	μ = 0,024 h-1
Rendimiento P/X	$Y_{P/X}$ = 0,017 g/g
Conc. final Cp	$C_p = Y_{P/X} * \Delta X$= 0,3 kg/m^3
Desnat. de la proteína T	> 40ºC
Fermentadores pequeños	
F1	t_1 = 8d (t_m = 4d)
F2	t_2 = 8d (t_m = 4d)
	X_f = 20 kg/m^3
	X_0 = 2 kg/m^3

Con un fermentador de 25 m^3, las etapas de propagación del inóculo serán las que se describen en la figura 13.5, parte de las cuales tienen lugar en el laboratorio y las demás, en la planta. Más adelante, justificamos los volúmenes de la figura 13.5 en función de la cinética y de los datos de la tabla 13.5.

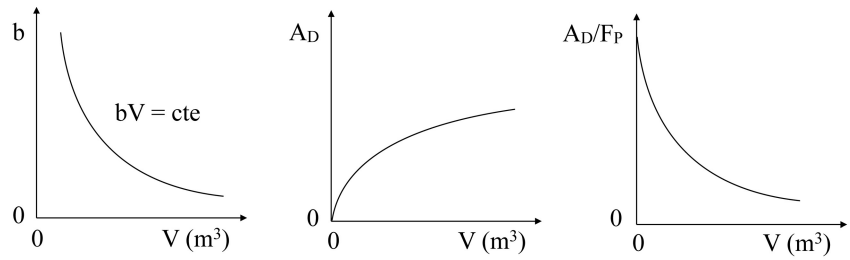


Fig. 13.13
Factores a tener en cuenta en la elección del reactor: a) condición de producción, bV = cte.; b) AD, coste de depreciación, en función de V, amortización lineal, n = 20 años; c) coste de amortización por kg de producto, AD/ Fp, en función de V

$$A_D = \frac{aV^{2/3}}{n} \qquad \frac{A_D}{F_p} = \alpha V^{-1/3}$$

$$n = 20 \text{ años} \qquad \alpha = \frac{a}{0{,}75\, n\, C_p}$$

Por el contrario, si queremos que el fermentador produzca continuamente la proteína GMF con los tiempos de la planta piloto (v. tabla 13.5), el volumen del fermentador principal se puede calcular directamente. Para 8.000 h/a, se deberá cumplir:

$$F_p = \frac{280}{8000} kg/h = \frac{0{,}75 V C_p}{t + t_m} \qquad (13.6)$$

donde t y t_m son, respectivamente, el tiempo de fermentación y el tiempo muerto, en horas. El tiempo total, $t_{tot} = t + t_m$, es el tiempo que el reactor está ocupado.

Programación de la producción: diagrama de Gantt

En nuestro caso, los fermentadores pequeños trabajarán cuatro días, con un tiempo adicional de cuatro días más (tiempo muerto), t_{tot} = 8 d. El fermentador grande trabajará seis días, con un día de tiempo muerto, t_{tot}= 7d. Realizaremos la programación del trabajo de la planta para una combinación en cascada de los dos aparatos pequeños (F1 y F2) y el fermentador grande (F3). Para ello, emplearemos las reglas de diseño siguientes:

1. El producto final se produce en el F3 (último de la cascada); por tanto, su tamaño se calcula directamente aplicando la ecuación 13.6.

2. La operación del F1, seguido del F2, debe cumplir la condición de que el fermentador principal F3 esté libre para recibir el inóculo que viene de F2 (v. *infra*).

3. Los fermentadores pequeños, de volúmenes V_1 y V_2, se calculan, con las condiciones cinéticas para X_0 y X_f conocidas (v. tabla 13.5).

Para unas pocas etapas *por cargas* (los reactores), no hay demasiados problemas para organizar la producción de un solo producto, ya que el resto de las operaciones serán

continuas. Para el caso multiproducto, remitimos al lector interesado en el diseño de plantas discontinuas a los trabajos clásicos (por ejemplo, Puigjaner y Espuña, 1990).

El diagrama de Gantt es un gráfico en que se representan los equipos en el eje de ordenadas (arriba los primeros equipos y abajo los últimos), el tiempo en el eje de abscisas, y los flujos de material que va descendiendo de un equipo a otro durante la fabricación de un producto que se realiza por cargas sucesivas (v. fig. 13.14). Veamos cómo dibujamos este diagrama para nuestro proceso.

Cálculo de la serie de fermentadores F1, F2, F3, en que F3 es el principal. Empecemos con F3 y, después, vayamos hacia atrás hasta llegar a F1:

Fermentador grande F3: Primero, calculamos la concentración de producto final, C_p, y, conocidos t y t_{tm}, aplicamos la ecuación 13.6 y tendremos:

$$\begin{aligned} &Y_{P/X} = 0,017 \qquad X_0 = 2 \qquad X = 20 \\ &\Delta C_p = Y_{P/X}\Delta X = 0,017 \times 18 = 0,3 kg/m^3 \\ &C_p = 0,3 kg/m^3 \end{aligned} \tag{13.7}$$

Por tanto:

$$F_p = \frac{280}{8000} = 0,035 = \frac{0,75 C_p V}{t + t_m} \tag{13.8}$$

Con C_p = 0,3 kg/m^3 y t y t_m en horas, t = 6 × 24 = 144 h y t_m = 1 d = 24 h. De esta ecuación, se despeja V, de donde se obtiene el tamaño del fermentador F3 que vale V = 25 m^3. Con este valor, podemos dimensionar los fermentadores pequeños. Estos se calculan de la forma siguiente. Se supone que ambos multiplican por 10 su inóculo inicial, eso es, $X_f = 10\ X_0$, y que su inóculo inicial vale X_0 = 2 kg/m^3. Designamos por X_i la biomasa final del reactor i, siendo X_{i0} el inóculo inicial (para i =1,2):

Así, para F2, tendremos:

$$\begin{aligned} &X_2 = 10 X_{20} = 10 \times 2 = 20 \\ &\frac{X_2 V_2}{V} = 2 \qquad V_2 = 2,5 m^3 \end{aligned} \tag{13.9}$$

Y, para el fermentador F1, tendremos:

$$\begin{aligned} &X_1 = 20 \qquad V_2 = 2,5 m^3 \\ &\frac{X_1 V_1}{V_2} = 2 \qquad V_1 = 0,25 m^3 \end{aligned} \tag{13.10}$$

Dimensionados los fermentadores, sus tiempos de ocupación se indican en el diagrama de Gantt de la figura 13.14, que ilustra el funcionamiento a régimen permanente de los equipos de fermentación frente al tiempo durante la producción

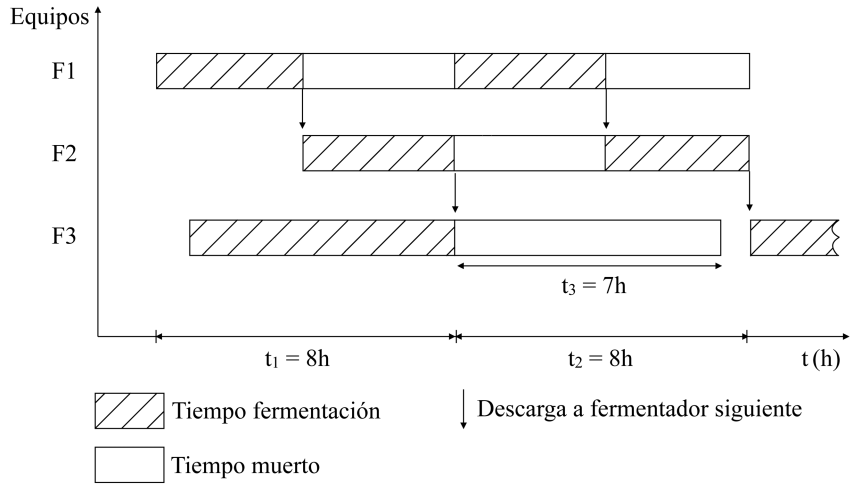


Fig. 13.14
Diagrama de Gantt de los fermentadores de preparación del inóculo, proceso GMF

13.5.2 Costes de la sección de fermentadores (o biosíntesis)

En la tabla 13.6, se dan primero los costes de compra de los fermentadores F1, F2, F3 obtenidos por actualización de los datos de 1985 a 2001, con índices CE = 318,5 y 394,3, respectivamente. Así, según la figura 13.6.A, el coste de un fermentador de 25 m^3 era de 500.000 $ y en 2001 (año del estudio del ejemplo) vale:

$$\text{Coste}(2003) = 500.000 \times \frac{394,3}{287,0} = 686.900\$ \qquad (13.11)$$

O sea, unos 687.000 €. Los fermentadores pequeños los calculamos de forma parecida empleando el gráfico de la figura 13.6A, para 0,25 y 2,5 m^3. En la tabla 13.6, se reflejan estos valores, junto con el resto de equipos de la sección de fermentación.

Tabla 13.6
Equipos de la sección de fermentadores de la planta de GMF

Equipos	**Volumen, en m^3**	**Coste, en miles de €**
Fermentador principal	25	687
Fermentador F2	2,5	203
Fermentador F1	0,25	60
Otros		
Compresor de aeración		61
Tanque de mezclas	10	65
Tanque pulmón de azúcar	150	51
Esterilizador continuo		205
TOTAL		1.332 €

13.5.3 Costes de la sección de separación (o de procesado posterior)

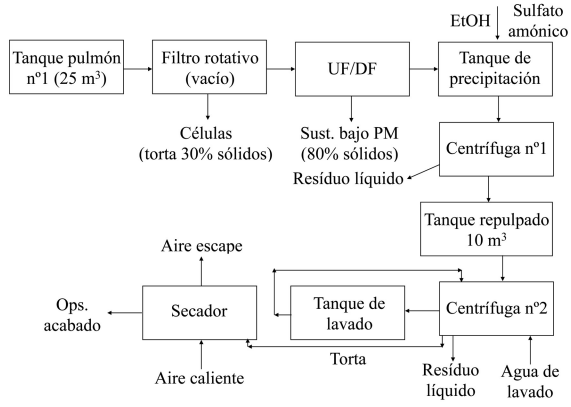
En primer lugar se deben establecer las operaciones de separación. El bioproducto se halla disuelto en el caldo de cultivo, porque es segregado al medio por las células. Luego, es evidente que la selección de los procesos no tiene gran dificultad (v. fig. 13.2). Los equipos previstos se indican en la figura 13.15.

Vamos a comentar brevemente el diagrama de bloques de la figura 13.15. En el trabajo de Kristiansen, el proceso fue simulado con SuperPro Designer, pero nosotros lo hemos concebido basándonos en la figura 13.2. La proteína es segregada al medio de cultivo y, por tanto, los procesos adoptados son los de la derecha de la figura 13.2. Hemos introducido las características o variantes siguientes (v. fig. 13.15):

1. Escogemos UF/DF en vez de un evaporador, que es más eficiente, porque la proteína se desnaturaliza a unos 40ºC.
2. Se emplean dos centrífugas, la nº 1 y la nº 2. La primera para decantar y la segunda para lavar después de un repulpado del sólido en un tanque de lavado. Podríamos haber ahorrado una centrífuga, pero la práctica industrial aconseja tener dos para mayor disponibilidad.
3. Se ha escogido un atomizador para el secado, ya que da un polvo sólido excelente para su procesado posterior. Aquí deberemos vigilar con extremo cuidado que no se produzca una oxidación indebida en el atomizador, ya sea en el laboratorio o en una unidad de planta piloto.
4. En una estimación real, deberíamos calcular los balances de materia y energía, necesarios para el diseño individual de los equipos. Es en este momento cuando recomendamos emplear un simulador.

Antes de calcular el total del capital fijo de la planta, hemos de estimar los costes de los aparatos de separación. El diagrama de bloques de los separadores se reproduce en la figura 13.15.

Fig. 13.15
Diagrama de bloques de la sección de separadores del proceso GMF



Los costes de la sección de separación se indican en el trabajo original de Kristiansen, con las características de los equipos. Los precios de cada unidad se especifican con el aparato puesto en el taller del proveedor (*ex works*).

El total de los equipos de separación (fig. 13.15) es de unos 530.000 €. Con ello, el coste de capital del equipo principal (v. Kristiansen, 2003) sería de:

Sección de fermentadores (biosíntesis)	1.332.000 €
Sección de separadores (procesado posterior)	530.000 €
Coste total del equipo principal (PC)	1.862.000 €

Este valor del PC debe incrementarse con los factores de Lang para estimar el capital fijo total.

Un cálculo rápido (v. tabla 13.3, TPDC total) TPDC = 3,53 × PC) nos dará un capital fijo directo total (TPDC) de 3,53 × 1.862 = 6.572.000 €. Así pues, el capital fijo indirecto, TPIC, valdrá: 0,6 × 1.862.000 = 1.117.000 €. En resumen, tendremos: TPC = TPDC + TPIC = 6.572.000 + 1.117.000 = 7.689.000 €, o sea, que el valor de los costes de inversión será de TPC = 7,7 M€.

Costes de producción

Conocidos los costes directos de los equipos, calculamos los costes de producción directos, que para la GMF serán los costes de las materias primas y de los servicios, además de otros costes indirectos (v. fig. 13.11). La descomposición de estos y los precios unitarios de las MP se indican en la tabla 13.7, a partir de una receta de la fermentación de GMF. Con ello, el coste directo de las materias primas resulta ser de 142.790 € (~143.000 €), que incluye el etanol empleado en la precipitación de la proteína (fig. 13.15).

Los costes de producción directos se dan en tabla 13.8, que comprende los costes de las materias primas (~143.000 €) y de los servicios directos e indirectos. En total, los costes de producción anuales ascienden a 2.358.000 €.

Tabla 13.7 Composición del medio, precios y coste/año (Kristiansen, 2006)

Reactivo	**Conc[a], en kg/m^3**	**Precio[b], en €/kg**	**Coste anual[c], en €**
Sacarosa	50	0,76	35.640
Sulfato amónico	5	1,8	8.091
KH_2PO_4	2	4,11	7.324
Sulfato de Mg	1	0,36	321
$FeSO_4$	0,005	0,35	2
$ZnSO_4$	0,002	1,23	1
$CuSO_4$	0,001	1,44	1
Tiamina	0,010	32,80	306
Otros			
EtOH		0,2	91.106
Total MP			**142.790 €**

[a] En el medio inicial, kg/m^3 de líquido.
[b] Precio y calidad industrial.
[c] Para b = 49 operaciones/a.

Tabla 13.8
Costes de producción (MP +servicios) para 280 kg/a

Concepto	Base de cálculo	Coste anual, miles de €
Materias primas químicas		143
Operadores de planta	3 turnos, 3 personas/turno	502
Energía eléctrica	0,08 €/kWh	92
Agua a 2ºC	35,0 €/10^6 kcal	21
Agua a 15ºC	5,0 €/10^6 kcal	2
Vapor	10,0 €/10^6 kcal	8
Mantenimiento	10 % coste planta	646
Agua de proceso		20
Amortizaciones	10 % lineal	646
Impuestos locales	1 % coste planta	65
Administración	15 % operadores	75
Coste de venta	2 % costes producción	47
Laboratorio	15 % personal	75
Coste total anual		**2.358 €**

13.5.4 Inversión total y costes anuales para la producción de GMF

Esta forma de cálculo informa de los requisitos de capital para el funcionamiento del negocio en régimen estacionario en lo referente a los costes de producción, seguidos cada año por unos costes de producción. Así pues, tendremos los montos siguientes:

Inversión total = 6.572.000 + 0,6 × 1862= 7.689.000 €

Coste de producción = 2.358.000 €/año

que deberemos analizar por el método del *cash flow* descontado, que se presenta a continuación.

13.6 Evaluación económica de un proyecto

Los costes de I+D y demás deben ser aportados durante las primeras etapas del proyecto, durante la construcción y la puesta en operación de la planta cada año, hasta el cierre de la planta por terminación del negocio, es decir, durante toda su vida útil. Y lo más importante es que, hasta que no se realice la puesta en marcha de la planta, no se empieza a producir y a vender y, por tanto, a ingresar dinero. Durante ese tiempo, el capital está en riesgo, ya que no se ha cubierto con las ventas, y debe tenerse en cuenta el valor temporal del dinero, puesto que las sumas de dinero que se gasten o que se generen en el futuro estarán afectadas por los tipos de actualización del dinero. Este aspecto es fundamental en la puesta en marcha del proyecto, y requiere un estudio dinámico del gasto/reembolso de dinero, que exponemos más adelante.

Antes, sin embargo, definimos los criterios simples de rentabilidad de un proyecto, visto desde la dirección y el departamento de I+D de una empresa. Estos criterios son los que inducen a empezar a trabajar en un nuevo producto. Son:

1) Potencial económico de un proyecto = Valor del producto - Coste total anual, siendo:

$$\text{Coste total anual} = \text{Costes fijos} + \text{Costes variables} + \text{Impuestos}$$

2) Flujo de caja contable = Beneficio bruto o antes de impuestos (Bº bruto) + Amortizaciones

3) Retorno sobre la inversión (en %) = (Beneficio neto medio anual / inversión total) × 100

Fuentes de capital. Como vemos en el caso de la GMF, el capital fijo y los costes de producción son enormes. La primera pregunta es saber cuáles son las fuentes de capital de las empresas. En general, son tres:

- Autofinanciación (del fondo de amortizaciones)
- Créditos bancarios a interés y plazo fijos
- Emisión de acciones y obligaciones

El coste de capital depende de su origen. Así, en los Estados Unidos, antes de la crisis de 2007 los costes del crédito bancario se podían cifrar en un 8 % anual a plazo fijo; las obligaciones, al 5 %, y las acciones, al 13 %, en líneas generales. En la actualidad, ello no es así, debido al bajo coste del dinero, tanto en los Estados Unidos como en la Unión Europea. Hoy, en España, los créditos del ICO están a un interés del 5,5 % anual.

Antes de 2007, una empresa española cotizada en bolsa acudía a las fuentes de capital para 1/3 del total de capital. Eso hoy ya no es así. Al iniciar un proyecto, es necesario hacer cálculos financieros del negocio escogiendo la combinación más adecuada, que además puede variar bastante en los primeros años del proyecto, por lo cual el crédito se deberá modificar.

Muchas empresas biotecnológicas echan mano del capital riesgo para las ampliaciones de capital, después de anunciar globalmente avances en nuevos bioproductos para animar a los inversores más atrevidos, de modo que asumen más riesgo. En función de la tasa de retorno interno (TRI) estimada de una inversión, los proyectos se definen como: de alto riesgo (TRI ~ 50 %), de riesgo medio (~ 30 %) y de bajo riesgo (~ 20 %).

A continuación, se expone la metodología del *discounted cash flow* (traducido como el método del flujo de caja actualizado o descontado).

13.6.1 Valor temporal del dinero

Al comenzar un proyecto, el dinero se gasta o se ingresa durante años sucesivos, hasta recuperar la inversión. Durante todo este tiempo, y hasta que no se equilibran ingresos y gastos, se dice que la inversión está en riesgo, es decir, que está "colgada". En un instante cualquiera del tiempo, necesitamos saber dos cosas: el valor actual neto (VAN) del negocio y las previsiones futuras, a efectos de reembolsos de capital, de control financiero y de control de costes del proyecto. Se precisa saber ahora mismo cuánto vale el proyecto y cuánto rinde. Para ello, se definen los siguientes términos contables (v. 13.6.2).

Definiciones

Valor futuro, F, de una cantidad de dinero presente, P. Imponiendo la suma de P a interés compuesto a tipo de interés fijo *i*, aplicando la fórmula del interés compuesto, se tiene:

$$F = P(1+i)^n \tag{13.12}$$

en que *i* es el tipo de interés anual en tanto por uno y F representa el valor a cobrar en el futuro al cabo de n años, con el capital inmovilizado.

Inversamente, se define el *valor presente*, P, de una suma de dinero o renta, F, a recibir en el futuro al cabo de n años, como:

$$P = \frac{F}{(1+i)^n} \tag{13.13}$$

Así pues, el cobro de una anualidad, *F*, a recibir en el futuro, visto desde *hoy* es más pequeño, dependiendo de la tasa de interés *i* y de los años, n, que se tarde en recibir dicha suma.

Obsérvese que, si la cantidad F la recibimos muy pronto (en n = 1- 2 años), su valor presente será mayor que si la recibimos muy tarde (n = 7-9 años). El factor $(1 + i)^{-n}$ se denomina *factor de descuento*, y la cantidad presente se dice que se ha calculado con una tasa de descuento *i*.

Para un proyecto, se toma como *presente* el tiempo inicial $t = 0$ en que se empieza a gastar dinero en el proyecto.Otras definiciones:

1. El *flujo de caja* de cada año lo designamos por A_{FC} y puede ser positivo o negativo. Es negativo cuando se *gasta dinero en el* proyecto y positivo, cuando se *ingresa dinero generado por el* proyecto.

   Los *flujos de caja descontados*, o anualidades actualizadas al presente, se representan por A_{CFD}. Por tanto, si una cantidad A_{FC} se gasta/ingresa en el año n, su valor actualizado se obtendrá aplicando la ecuación 13.13, con el signo que tenga F, para calcular su valor presente.

2. Además, se definen los *flujos de caja descontados y acumulados* entre el presente (t = 0) y transcurridos n años. Este flujo acumulado puede ser negativo o positivo, según si los flujos en dinero corriente son negativos o positivos. Así pues, se van acumulando los flujos de caja actualizados de cada año, desde j = 0, a una tasa de descuento i%, hasta el año que se quiera.

Así, por ejemplo, para un proyecto a tres años, con un desembolso inicial A_{FC0}, a una tasa de descuento *i*, la suma acumulada de flujos de caja descontados valdrá:

$$\sum_{j=0}^{3} A_{CFD} = \frac{A_{FC0}}{(1+i)^0} + \frac{A_{CF1}}{(1+i)^1} + \frac{A_{CF2}}{(1+i)^2} + \frac{A_{CF3}}{(1+i)^3} \tag{13.14}$$

siendo las A_{CFj} los flujos de dinero recibidos al final de cada año, con su signo + o -, según corresponda, en que *i* será la tasa de descuento aplicada.

13.6.2 Evaluación de proyectos mediante el flujo de caja descontado

Los mejores métodos para determinar la rentabilidad de un proyecto se basan en los flujos de caja previstos durante cada año a lo largo de toda la vida del negocio. En la figura 13.16, se representan las formas posibles de esa curva para un proyecto típico. En el eje de ordenadas, se representan los flujos de caja descontados acumulados desde el tiempo inicial, j = 0, hasta j = n, siendo n el número de años, que se calculan con los aportes de capital y los gastos de cada año. La curva 1 corresponde a una tasa de descuento de i = 0. La curva 2, a una tasa de descuento de i > 0, por ejemplo, i = 5 %. Y la curva 3, a una tasa de descuento *especial*. Dicha tasa de descuento es tal que hace que la suma de los CFD sea nula justo al final de la vida del proyecto.

En la curva 1, a t = 0 (v. punto A), se gasta el dinero en I+D, en el diseño de la planta y en otros trabajos preliminares, luego el flujo de dinero es negativo, pues sale de la caja. Esta etapa acaba en el punto B, momento en que se empieza a gastar en la compra de los terrenos y en la construcción de la planta. Estas actividades duran hasta el momento en que se ha construido la planta y se pasa a la puesta en marcha de la misma. Pero en D se empieza a fabricar el producto, con lo cual se debe aportar el capital del trabajo (poco antes del punto D) y los costes de MP, etc. Los ajustes del funcionamiento de la planta se realizan entre D y E.

En el punto E, la planta es plenamente operativa. En este momento, se empieza a fabricar y a vender y, por tanto, a ingresar dinero, es decir, el flujo de caja empieza a cambiar de signo, de forma francamente positiva, con lo cual se van reduciendo la deuda y el riesgo del capital invertido. El punto F, sobre el eje de las abscisas, representa el momento en que justo se cubren gastos con las ventas iniciales y se logra un equilibrio entre lo gastado y lo recuperado, con lo cual la suma acumulada de flujos es 0. Este tiempo se denomina *punto de equilibrio*, momento en que la inversión deja de estar en riesgo. Hacia el final del proyecto, en el punto G, los flujos de caja pueden disminuir un poco porque, al dejar de fabricar, ya no hay costes de mantenimiento y el capital circulante puede recuperarse y ser empleado en otros negocios de la empresa. En H, se cierra la planta. Ambos conceptos, capital circulante y de mantenimiento, aportan un capital extra, que se recupera en el último año. La curva de la figura 13.16 refleja el comportamiento dinámico de la inversión, con gasto y beneficio. La inversión se evalúa mediante los índices económicos que definimos a continuación.

1. *Período de retorno* (*pay-back time*). Es el segmento que va desde el punto A hasta el punto F, en años, y representa el tiempo de retorno descontado. Cuanto menor es este tiempo de retorno del capital, más atractivo es el proyecto.

2. *Valor actual neto* (VAN) *o valor presente neto* (VPN). Puesto que el dinero se invierte para *ganar* interés, las anualidades recibidas pronto tienen mayor valor que las que se reciban más tarde, en años futuros. El VAN de un proyecto es la suma de los flujos de caja descontados acumulados (v. ec. 13.14). Los primeros sumandos son negativos (aportaciones de capital), mientras que, a partir del tiempo de equilibrio, ya son positivos. Recuérdese que entendemos por presente el tiempo a t = 0 en que se inicia el proyecto, o sea, el punto A de la figura 13.16. El tiempo se tiene en cuenta descontando los flujos de caja anuales con una tasa de descuento apropiada, con el fin de determinar los A_{DCF} al final de cada año. En general, se define el VAN como:

$$VAN = \sum_{j=0}^{n} \frac{A_{CFj}}{(1+i)^j} \qquad (13.15)$$

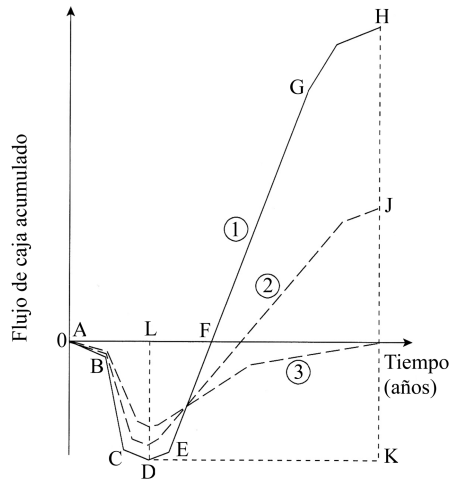


Fig. 13.16
Forma de las curvas del FCD con respecto al tiempo, para un proyecto industrial (v. texto)

Véase la ecuación 13.14 anterior para el caso de n = 3. El valor del VAN (v. ec. 13.15) depende de la tasa de interés *i* empleada en su cálculo. Volviendo a la figura 13.16, para la curva 2 se ha tomado un valor de *i* = 5 %, por ejemplo, que es evidente que depende de los inversores, el crédito y la empresa. La tasa de descuento aplicada para calcular el VAN depende de la propia empresa, de cómo ha financiado sus proyectos en general y de cómo financia este en concreto.

Obsérvese la curva 3 de la figura 13.16. En este caso, hacemos coincidir el fin del proyecto con la anulación del VAN del proyecto.

3. *Tasa de retorno interno* (TRI) de un proyecto. Es el valor de *i* que hace nulo el VAN en el tiempo final del proyecto, es decir, la solución de la ecuación no lineal implícita siguiente:

$$VAN(i) = \sum_{j=0}^{n} \frac{A_{CFj}}{(1+i)^j} = 0 \qquad (13.16)$$

que evidentemente puede tener muchas raíces, dependiendo del valor de n. Antiguamente, la ecuación 13.16 se resolvía por tanteo. En la actualidad, se emplea un método numérico buscando la solución en el intervalo de existencia de la misma (v. ejemplo más adelante).

En la literatura inglesa, la tasa de retorno de la inversión o TRI se denomina *internal rate of return* o IRR.

4. *Significado del VAN y de la TRI*. Estos dos índices reflejan características distintas de una inversión de capital en un proyecto. El VAN da una idea de la magnitud del beneficio que puede obtenerse de una inversión, eso es, si será muy grande o no. Pero no informa del rendimiento del capital en dicha inversión. En cambio, la TRI nos da una idea del rendimiento intrínseco del capital en la inversión, pero no nos informa de la magnitud del beneficio.

Estos índices se emplean, evidentemente, en casos distintos. A saber: si interesa maximizar los beneficios, nos fijaremos más en el VAN; por el contrario, si las fuentes de capital están restringidas, como ocurre con frecuencia, trataremos de invertir el capital con una alta rentabilidad, de modo que nos fijaremos más en la TRI.

Ejemplo 13.1. Elección entre dos proyectos alternativos

Una empresa debe decidir invertir en uno de los dos proyectos, A o B, de los cuales ha efectuado una previsión de flujos de dinero. Los costes de capital iniciales son iguales, 10 M€, y ambos proyectos son a cinco años. El acceso al crédito está restringido, por lo cual la decisión depende de la rentabilidad interna (TRI).

1. Calcúlese la TRI de cada proyecto.

2. Para una tasa de interés del dinero del 5 %, calcúlese además el tiempo de retorno de la inversión (*pay-back*).

Proyecto	**A**	**B**
Año	A_{CF}	A_{CF}
0	-10,0	-10,0
1	1,6	6,5
2	2,8	5,2
3	4,0	4,0
4	5,2	2,8
5	6,4	1,6

Flujos de caja en millones de euros.

1. Para los dos proyectos, calculamos el VAN. Se observa que, en el proyecto B, los flujos de caja son mayores en los primeros años, lo cual indica que será más favorable. Veámoslo numéricamente:

   Proyecto A

$$VAN(i) = \frac{-10}{(1+i)^0} + \frac{1,6}{(1+i)^1} + \frac{2,8}{(1+i)^2} + \frac{4}{(1+i)^3} + \frac{5,2}{(1+i)^4} + \frac{6,4}{(1+i)^5} = 0$$

   Proyecto B

$$VAN(i) = \frac{-10}{(1+i)^0} + \frac{6,4}{(1+i)^1} + \frac{5,2}{(1+i)^2} + \frac{4}{(1+i)^3} + \frac{2,8}{(1+i)^4} + \frac{1,6}{(1+i)^5} = 0$$

   Los valores calculados dentro del intervalo i = 0,2-0,5 son: para el proyecto A, i = 0,224 (~22 %), y, para el proyecto B, i = 0,334 (~33 %). Por tanto, escogeremos el proyecto B.

2. Si ahora tomamos una tasa de descuento del 5 %, podemos calcular los flujos de caja descontados actualizados, de la forma siguiente (columnas 4ª y 8ª):

Año	Proyecto A i = 5 %			Año	Proyecto B i = 5 %		
	A_{CF}	A_{DCF}	$\sum A_{DCF}$		ACF	A_{DCF}	$\sum A_{DCF}$
0	-10,0	-10	-10	0	-10	-10,0	-10
1	1,6	1,52	-8,48	1	6,4	6,1	-3,9
2	2,8	2,54	4,06	2	5,2	4,7	0,8
3	4,0	3,46	6,00	3	4	3,5	4,3
4	5,2	4,28	7,73	4	2,8	2,3	6,6
5	6,4	5,01	9,29	5	1,6	1,3	7,8

Se observa que los valores de CFD acumulados cambian de signo entre el año 1 y el año 2, para los dos proyectos. Por interpolación, se obtienen unos tiempos de retorno de la inversión de 1,65 años para el proyecto A y de 1,80 años para el proyecto B, es decir, prácticamente iguales.

13.6.3. Comentarios sobre el método del flujo de caja: estudio de sensibilidad

Los cálculos se basan en las predicciones de los flujos de dinero futuros, que generalmente son muy provisionales. Existe, pues, una gran incertidumbre, incluso sobre la vida del proyecto, el precio, el volumen de ventas de cada año, el coste de construcción, etc. Las predicciones dependen mucho del conocimiento del negocio biotecnológico. Además, los valores empleados para las tasas de interés no se conocen bien, especialmente en los primeros años.

El valor de la TRI dependerá de los riesgos asociados a la estrategia de inversión de la propia empresa y a otros factores. Ya hemos mencionado que una TRI del 20 % es aceptable para un proyecto de bajo riesgo. Si es del 30 %, será aceptable para uno de riesgo medio. Y una TRI del 50 % está asociada a proyectos de gran incertidumbre, financiados en la mayoría de los casos por capital riesgo, que se denomina así por esta misma razón. En la biotecnología actual, abunda esta forma de captación de capital (*venture capital*), cuyo comportamiento se basa en un conocimiento exhaustivo de los últimos balances de las empresas y de los anuncios globales de planes de nuevos y revolucionarios bioproductos, y también en las ampliaciones de capital de las empresas de cabecera, etc., además de la intuición y la experiencia.

Por todo ello, un complemento esencial de los cálculos es el análisis de la sensibilidad del proyecto a los factores más críticos. Estos son, por orden de importancia:

- Desviación del precio de venta
- Desviación del volumen de ventas
- Error en la estimación del coste de capital
- Retrasos en la puesta en marcha de la planta
- Coste de las materias primas
- Otros

Este estudio es el que determinará después el grado de control que deberá ejercerse sobre las incidencias en ciertos factores, que deberán controlarse semana a semana.

Por ejemplo, para el caso de GMF, la tabla 13.9 refleja el estudio de sensibilidad realizado por Kristiansen (v. primeros apartados de este capítulo). Recuérdese que se ha establecido un precio de venta de 100 €/g. En la tabla, se ve cómo influye ese precio en los valores de la TRI.

Tabla 13.9
Sensibilidad de la TRI al precio de venta para el caso de la GMF. Precio supuesto = 100 €/g (v. tabla 13.5)

Precio de venta, de GMF	**Valor de la TRI, calculada en la ec. 13.16**
50 €/g	10 %
75	22 %
100	31 %
120	38 %
150	44 %

Planta de 280 kg/a de GMF

13.7 Consideraciones finales y recomendaciones

En la primera parte de este capítulo, se han expuesto los métodos de diseño del bioproceso, desde el punto de vista del consultor industrial o del director de investigación. Se ha presentado el estudio de un caso. A continuación, se ha explicado la metodología del flujo de caja para el análisis de las inversiones, como ayuda para la toma de decisiones del responsable de la empresa frente a la propiedad. Se ha dado un tratamiento dirigido básicamente a los alumnos que se enfrentan por primera vez a estos métodos y a los profesionales de las industrias biotecnológicas que desean conocer sus fundamentos.

Para concluir, recomendamos el empleo de simuladores comerciales para el diseño del proceso, el modelado de los fermentadores y los separadores, y la evaluación de la inversión. En especial, recomendamos el paquete BioPro Designer (de Demetri Petrides, Intelligen Inc.), aunque cabe investigar el uso de otros más generales, como el Aspen Batch Process Developer (de Aspen Tech) y el Batches (de Batches Process Technologies) para las industrias de química fina. Asimismo, son especialmente recomendadas las diversas hojas de cálculo del *cash flow* de Excel, aplicadas a la biotecnología, disponibles en internet.

13.8 Nomenclatura

A_D	Amortización, en €/a
A_{FCD}	Anualidad de un flujo de caja descontado, en €
A_{FC_j}	Anualidad de un flujo de caja final del año j, en €
b	Número de operaciones al año,en a-1
CE	Chemical Engineering Plant Cost Index
Cp	Concentración de producto, en kg/m^3
ΔX	Incremento de concentración de biomasa, en kg/kg
F	Valor futuro de una suma presente, en €
Fp	Producción anual, en kg/a
i	Tasa de interés compuesto, tanto por 1
M&S	Marshall and Swift cost index
n	Exponente de capacidad en ecuación de coste,-
P	Valor presente de una suma futura, en €
PC	Coste total del equipo principal, en €
ΣA_{FCD}	Flujos de caja descontados acumulados, en €
t	Tiempo de fermentación, en h
t_m	Tiempo muerto, en h
TPC	Coste total de la planta, en €
TPDC	Coste directo total de la planta, en €
TPIC	Coste indirecto total de la planta, en €
TRI	Tasa de retorno interno, en %
UF/DF	Ultrafiltración/diafiltración
V	Volumen total del fermentador, en m^3
VAN, VPN	Valor actual neto, valor presente neto, en €
X	Concentración de biomasa seca, kg/m^3
X_0	Inóculo de células, en kg/m3
X_f	Concentración final de células, en kg/m^3
$Y_{P/X}$	Rendimiento producto/células, en kg/kg

Anexos

Anexo A. Teorema de Van der Laan

Consideramos un bloque no estacionario sometido a una entrada de trazador inerte. Se define la transmitancia del bloque como:

$$G(s) = \frac{Y(s)}{X(s)} \tag{A1}$$

donde Y(s) y X(s) son las transformadas de Laplace de y(t) y x(t), de la entrada y la salida, respectivamente. Si la entrada es un impulso unitario ideal x(t) = δ (t), su transformada vale X(s) = 1. Por tanto, la salida nos da, directamente, G(s):

$$G(s) = Y(s)\Big|_{pulso} \tag{A2}$$

La teoría del flujo no ideal de Levenspiel (1999) establece que la respuesta temporal de una entrada en impulso unitario es la función de distribución del tiempo de residencia, E(t). Así pues, la transformada de la respuesta E(t) es igual a la transmitancia del bloque. Por tanto:

$$G(s) = \int_0^\infty e^{-st} E(t)\, dt \tag{A3}$$

Sabemos que, para un adsorbato o un trazador no reactivo inerte en una columna cromatográfica reversible, nada queda retenido en la columna, de donde:

$$G(s=0) = \int_0^\infty E(t)dt = \mu_0 = 1 \tag{A4}$$

lo cual implica que E (t) está normalizada (es lo que Levenspiel denomina *curva C*). Derivando dos veces G(s) con respecto a s, bajo el signo integral en la ecuación (A4), se obtienen las expresiones siguientes:

$$G'(s=0) = -\int_0^\infty tE(t)dt = \mu_1 = \bar{t}$$
$$G''(s=0) = \int_0^\infty t^2 E(t)dt = \mu_2 \tag{A5, A6}$$

que representan los valores del tiempo medio y la variancia total de E(t), respectivamente. La expresión general del momento de orden k es:

$$\mu_k = (-1)^k \left(\frac{d^k G}{ds^k} \right)_{s=0} \qquad k = 1, 2, \ldots$$
$$\mu_k = G(s=0) \qquad k = 0 \tag{A7}$$

En cuanto al momento de segundo orden, normalmente se utiliza el momento centrado, que es la variancia estadística habitual, es decir, con respecto a la tendencia central, de donde:

$$\mu_2' = \int_0^\infty (t - \mu_1)^2 E(t) dt = \mu_2 - (\mu_1)^2 \tag{A8}$$

que se calcula a partir de μ_1 y μ_2. Las expresiones de A5 a A7 representan el teorema de Van der Laan, que permite calcular los momentos de la respuesta a partir de G(s), calculando las derivadas 1ª y 2ª de G (s), sin tener que invertir G(s). El momento de orden 0 vale la unidad; el momento de orden 1 es el tiempo medio de residencia, y el momento de orden 2 es la dispersión de la señal de salida. Los momentos de órdenes superiores a 2 generalmente no se utilizan, porque proporcionan información redundante y contienen más error experimental debido al efecto de t^k *(k >2)* ante tiempos grandes. Las expresiones de Van der Laan permiten hacer un tratamiento compacto del flujo no ideal en aparatos de proceso.

Anexo B. Tamaños de partícula y análisis granulométrico

Métodos de medida del tamaño de las partículas sólidas

En la tabla B1, se indican los métodos más corrientes de medición de los tamaños de partículas y los márgenes más corrientes. En razón de su forma irregular, las medidas pueden diferir en más de un 50 %, debido a su no esfericidad. En la práctica, la distribución de los tamaños de cristales se hace siguiendo un juego de tamices normalizados (ISO, DIN, ASTM, BS, etc.). Los tamices normalizados se especifican en la tabla anexa, junto con sus aberturas.

Tabla B.1
Métodos para medir el tamaño de las partículas

Método	Intervalo de tamaños, en µm
Análisis por tamizado	de 32 a 5.600
Contador Coulter	de 1 a 200
Sedimentación por gravedad	de 1 a 50
Microscopia óptica	de 0,5 a 150
Dispersión de luz láser	de 0,04 a 2.000
Sedimentación centrífuga	de 0,01 a 5
Microscopía electrónica de transmisión	de 0,001 a 5

Antes de proceder al tamizado, la muestra de material se somete a 100 golpes del contenedor de la muestra. El tamizado se realiza durante 30-60 min con un cierto peso de muestra (500 o 1.000 g), en un aparato vibratorio o rotatorio.

Tabla B.2
Escala de tamices normalizados de Tyler

Número de mallas Tyler	Abertura entre hilos adyacentes, en µm	Número de mallas Tyler	Abertura entre hilos adyacentes, en µm
3	6.680	35	417
4	4.699	48	295
6	3.327	65	208
8	2.362	100	147
10	1.651	150	104
14	1.168	200	74
20	833	325	53
28	589	400	38

Fuente: McCabe-Smith (1968)

Anexo C. Aire húmedo y diagrama psicrométrico

En la tabla C3, se resumen las definiciones y las ecuaciones del aire húmedo a presión normal a nivel del mar, que se utilizan para describir el sistema de aire húmedo, útil en el estudio del secado de sólidos. Además, se adjunta el diagrama de humedad-temperatura del aire húmedo de Grosvenor. A continuación, proporcionamos un ejemplo de cómo se utiliza esta información.

	P. molecular		
Agua	M_A=18,0 kg/kmol		
Aire	M_B= 28,9 kg/kmol		
Humedad absoluta, Y	$Y = 0,622\frac{p_A}{1,0133\times10^5 - p_A} kg\ H_2O/kg\ as$	p_A presión parcial del vapor de agua, en Pa	Ec. C.1
Calor húmedo, Cs	$Cs = 1,005 + 1,884Y\ kJ/kg\ as°C$		Ec. C.2
Entalpia del aire húmedo, H	$H = (1,005 + 1,884Y)T_g + 2.502Y\ kJ/kgas$		Ec. C.3
Calor latente del vaporiz. agua, λ_0	$\lambda_0 = 2.502kJ/kg$		Ec. C.4
Volumen húmedo, v_H	$v_H = (0,00283 + 0,00456Y)(T_g + 273)m^3/kg\ as$		Ec. C.5

Líneas de saturación adiabática	$T_g - T_w = \frac{\lambda_w (Y_{sat} - Y)}{h / k_Y}$	h coeficiente de convección de calor aire-agua, en J/s m^2ºC	Ec. C.6
Depresión del termómetro húmedo	$T_g - T_w = \frac{(Y_{sat} - Y)}{Cs}$	k_Y coeficiente de convección de masa agua-aire kg/s $^2\Delta x$ =1	Ec. C.7
Relación psicrométrica	$\frac{h}{k_Y} = 0{,}950\ kJ / kg^{\circ} C$		Ec. C.8
Entalpía del aire saturado, H_s (kJ/kg) en función de Tg	0ºC 10 20 30 40 50 60	9,48 kJ/kg as 29,36 57,57 100,03 166,79 275,58 461,5	

Unidades SI: m, kg, N, ºCLeyenda: A= agua; B = aire; as = aire seco; ss = sólido seco; Tg = termómetro seco; Tw = termómetro húmedo. Origen de las entalpías: agua líquida y aire, a 0 ºC. Humedad del aire saturado a 0 ºC, Y = 0,0040 kg/kg as

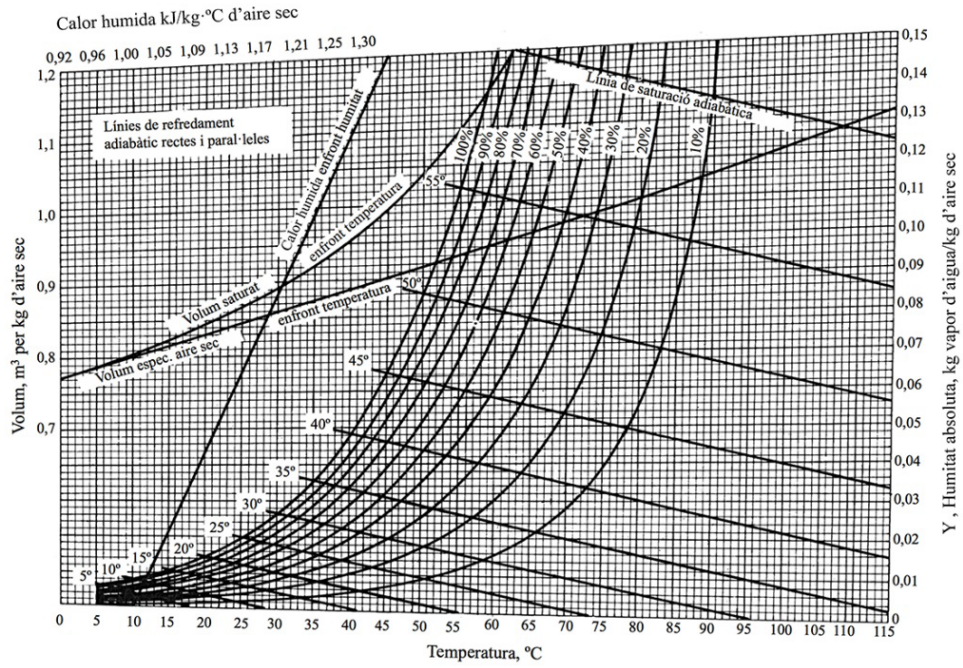


Fig. C3. Diagrama psicrométrico a presión atmosférica normal de 1013 mbar. Adaptado de McCabe-Smith (1968)

Ejemplo: Propiedades de un aire

Un aire húmedo tiene una temperatura de 55 ºC y una temperatura húmeda de 32 ºC. Halla las características siguientes: *a*) humedad absoluta, humedad relativa y temperatura de rocío; *b*) presión parcial del agua; *c*) entalpía del aire; *d*) volumen húmedo; *e*) Calor específico húmedo.

a) La medición de las temperaturas seca y húmeda de un aire con los dos termómetros (el normal y el húmedo) es el método aproximado más rápido para determinar la humedad de un aire.

Situamos primero la Tw = 32 ºC sobre la curva de saturación. Desde este punto, trazamos una paralela a las rectas adiabáticas hacia temperaturas crecientes, hasta que corte a la perpendicular al eje de abscisas a T = 55 ºC. La Y de este punto será la humedad absoluta del aire, Y = 0,02 kg/kg as. Para calcular la humedad relativa, primero determinamos la humedad absoluta de un aire saturado de humedad. Una perpendicular a las abscisas a 55ºC nos da una humedad absoluta de Ys = 0,115 kg/kg as. La humedad relativa será, pues:

$$HR = \frac{Y}{Y_s}100 = \frac{0,02 \times 100}{0,115} = 17,4\%$$

La temperatura de rocío del aire de 55ºC la obtendremos trazando una horizontal desde este punto hacia la izquierda del diagrama hasta cortar a la curva de saturación, $T_{rocío}$= 25ºC

b) Puesto que, en nuestro diagrama, no están representadas las entalpías, calculamos la entalpía de un aire con la ecuación C3 de la tabla C3, para Y = 0,02 y T = 55ºC

$$H = (1,005 + 1,884Y)T + 2.502Y = (1,005 + 1,884 \times 0,02) \times 55 +$$
$$+2.502 \times 0,02 = 107,3\, kJ/kg\ as$$

c) Volumen húmedo. En el diagrama se lee, para el *aire saturado* = 1,05 m^3/kg as, en T = 55 ºC, y, para el *aire* = 0,93. Así pues, para una humedad del 17,4% podemos interpolar:

$$V_H = 0,95 + (1,05 - 0,93) \times 0,174 = 0,96\, m^3/kg\ as$$

Sin embargo, aplicando la ecuación C5, se obtiene:

$$V_H = (0,00283 + 0,00456Y)(T_g + 273) = (0,00283 + 0,00456 \times 0,02) \times (273 + 55) =$$
$$0,958\, m^3/kg\ as$$

d) Calor específico húmedo. Se puede leer sobre el diagrama. Para una humedad de Y = 0,02, tenemos ~1,05 kJ/kgºC, que, como es un dato impreciso, calculamos con la ecuación C2 de la tabla C3:

$$Cs = 1,005 + 1,884Y \;\; kJ/kg\ as°C = 1,005 + 1,884 \times 0,02 = 1,042\, kJ/°C \;\; kg\ as$$

Bibliografía

Capítulo 1

Belter, P.A.; Cussler, E.L.; Hu, W.-S. (1988): *Bioseparations*. Nueva York: Wiley-Interscience.

Blanch, H. W.; Clark, D. S. (1997): *Biochemical Engineering*. Nueva York: Marcel Dekker.

Ghosh, R. (2006): *Principles of Bioseparations Engineering*. Nueva Jersey: World Scientific.

Harrison, R.G.; Todd, P.; Rudge, S. R.; Petrides, D. P. (2003): *Bioseparations Science and Engineering,* Oxford: Oxford University Press.

King, C. J. (1980): *Separation Processes*. 2ª ed. Nueva York: McGraw-Hill.

Wesselingh, J. A.; Krijgsman, J. (2013): *Downstream Processing in Biotechnology,* Delft: DAP.

Capítulo 2

Doran, P. M. (2012): *Bioprocess Engineering Principles*. 2ª ed. Londres: Academic Press.

Harrison, R. G.; Todd, P.; Rudge, S. R.; Petrides, D. P. (2003): *Bioseparations Science and Engineering*. Oxford: Oxford University Press.

Katoh, S.; Yoshida, F. (2013): *Biochemical Engineering*. Weinheim: Wiley-VCH.

McCabe, W. L.; Smith, J. C.; Harriott, P. (1993): *Unit Operations of Chemical Engineering*. 5ª ed. Nueva York: McGraw-Hill.

Pannevis-Larox (2012): <www.outotech.com>

Perry, J. H. (1980): *Chemical Engineers' Handbook*. Parte 18. 7ª ed. Nueva York: McGraw-Hill.

Richardson J. F.; Harker, J. H.; Backhurst, J. R. (2002): *Coulson & Richardson's Chemical Engineering*, vol. 2. 5ª ed. Oxford: Butterworth-Heinemann.

Capítulo 3

Aiba, S.; Humphrey, A. E.; Willis, N. F. (1973): *Biochemical Engineering*. 2ª ed. Londres: Academic Press.

Ambler, C. M. (1952): "Evaluating the Performance of Centrifuges". *Chemical Engineering Progress,* 48 (marzo), 150. Nueva York: AIChE.

Axelsson, H. (2013): "Cell Separation, Centrifugation". En: Flickinger, M. C. (ed.) *Downstream Industrial Biotechnology*. Nueva York: J. Wiley.

Belter, P. A.; Cussler, E. L.; Hu, W. S. (1988): *Bioseparations.* Nueva York: J. Wiley.

Coulson & Richardson (2002): "Centrifugal Separations", *Chemical Engineering*. Vol. 2. 5ª ed. Oxford: Butterworth-Heinemann.

Margaritis, A. (2007): "Centrifugation Processes. Course Notes on Biochemical Engineering". <http://www.eng.uwo.ca/people/amargaritis/>.

Ottens, M.; Wesselingh, J. A.; van der Wielen, L. A. M. (2006): "Downstream Processing". En: Ratledge, C.; Kristiansen, B. (ed.) *Basic Biotechnology*, cap. 9. 3ª ed. Cambridge: Cambridge University Press.

Perry, R. H.; Green, D. W. (1998): *Chemical Engineers' Handbook.* 7ª ed. Nueva York: McGraw-Hill.

Sinnott, R. K. (1998): "Coulson & Richardson's Chemical Engineering". *Chemical Engineering Design*, vol. 6. 2ª ed. rev. Oxford: Butterworth-Heinemann.

Tanford, C. M. (1961): *Physical Chemistry of Macromolecules.* Nueva York: J. Wiley.

Capítulo 4

Asenjo, J. A.; Andrews, B. A.; Hunter, J. B.; LeCorre, S. (1985): "Microbial Cell Lytic Enzyme Systems: Production and Reaction Kinetics", *Process Biochemistry*, octubre, p. 158-164.

Belter, J. A.; Cussler, E. L.; Shu, W.S. (1988): *Bioseparations*. Nueva York: J. Wiley.

Engler, C. R. (1993): "Cell Breakage". En: Harrison, R. G. (ed.) *Protein Purification Process Engineering*. Nueva York: Marcel Dekker.

Klöckner-Moeller (1976): *Fórmulas y tablas*. Barcelona: La Polígrafa.

Smith, J. M.; Van Ness, H. C. (1987): *Introduction to Chemical Engineering Thermodynamics*. 4ª ed. Nueva York: McGraw-Hill.

Tanford, C. (1961): *Physical Chemistry of Macromolecules*. Nueva York: J. Wiley.

Capítulo 5

Brandrup, J.; Immergut, E. H.; Grulke, E.A. (1999): *Polymer Handbook*. 4ª ed. Nueva York: J. Wiley.

Degrémont (1979): *Manual técnico del agua*. 4ª ed. Bilbao: Grafo.

Derypol, S.A. (2013a): *Información técnica. Polímeros para pulpa y papel*. <http://www.derypol.com/app/web/continguts/repositori/doc/es/3f81c2e544521a90.pdf>

Derypol, S.A. (2013 b): *Información técnica. Productos para la depuración de aguas residuales* <http://www.derypol.com/app/web/continguts/repositori/doc/es/cde479207372120b.pdf>

Dickey, D. S.; Hicks, R.W. (1976): "Fundamentals of Agitation", *Chem. Eng*., febrero.

Probstein, R. F. (2003): *Physicochemical Hydrodynamics*. 2ª ed. Nueva York: J. Wiley.

Rigola, M. (1989): *Tratamiento de aguas industriales*. Barcelona: Marcombo.

Shaw, D. J. (1980): *Introduction to Colloid and Surface Chemistry*. 3ª ed. Londres: Butterworths.

Wang, D. Y. C.; Cooney, C. L.; Demain, A. L.; Dunnil, P.; Humphrey, A. E.; Lilly, M. D. (1979): *Fermentation and Enzyme Technology*. Nueva York: J. Wiley.

Capítulo 6

Bailey, J. E.; Ollis, D. F. (1986): *Biochemical Engineering Fundamentals*. 2ª ed. Nueva York: McGraw-Hill.

Bello, D. J.; Hoare, H.; Dunnill, P. (1983): "The Formation of Protein Precipitates and Their Centrifugal Recovery". *Adv. Biochem. Eng./ Biotechnol*., 26: 2-72.

Blanch, H. W.; Clark, D. S. (1997): *Biochemical Engineering*. Nueva York: Marcel Dekker.

Brown, B. L.; Glatz, C. E. (1987): "Aggregate Breakage in Protein Precipitation". *Chem. Eng. Sci.*, 42(7): 1831-1839.

Glatz, C. E.; Hoare, H.; Landa-Vertiz, J. (1986): "The Formation and Growth of Protein Precipitates in a CSTR". *AIChE Journal*, 32(7): 1196-1204.

Himmelsbach, W.; Houlton, D.; Keller, W.; Lovallo, M. (2006): "Mixing Systems: Design and Scale-Up". *Chem Eng*., abril.

Levenspiel, O. (1996): *The Chemical Reactor Omnibook*. Corvallis: OSU.

Pauling, L. (1970): *General Chemistry*. 3ª ed. San Francisco: Freeman.

Probstein, R. F. (2003): *Physicochemical Hydrodynamics*. 2ª ed. Nueva York: J. Wiley.

Tanford, C. (1961): *Physical Chemistry of Macromolecules*. Nueva York: J. Wiley.

Treybal, R. E. (1981): *Mass-Transfer Operations*. 3ª ed. McGraw-Hill.

Capítulo 7

Fair, J. R.; Humphrey, J. L.; Rocha, J. A. (1984): "The Essentials of Extraction". *Chem. Eng.*, 91(19): 76.

Ghosh, R. (2006): *Principles of Bioseparation Engineering*. Londres: World Scientific Publishing.

Kühni. *Solvent Extraction*. Folleto comercial. Suiza: Allschwil.

Rauber, J. (2004): *Design Practice for Packed Liquid-Liquid Extraction Columns*. Winterthur: Sulzer Chemtech Ltd.

Souders, M.; Pierotti, G. J.; Dunn, C. L. (1970): "The Recovery of Penicillin by Extraction with a pH Gradient". *Chem. Eng. Symp. Ser.*, 100, vol. 66.

Sulzer. *Liquid-Liquid Extraction with Structured Packings*. Folleto comercial. Winterthur: Sulzer Chemtech Ltd.

Stichlmaier, J. (1980): "Leistungs- und Kostenvergleich verschiedener Apparatebauarten für die Flüssig/Flüssig-Extraktion". *Chem. Ing. Tech.*, 52(3): 253-255.

Treybal, R. E. (1980): *Mass Transfer Operations*. 3ª ed. Nueva York: McGraw-Hill.

Capítulo 8

Bird, R. B.; Stewart, W. E.; Lightfoot, E.N. (1975): *Fenómenos de transporte*. Barcelona: Reverté.

Blanch, H. W.; Clark, D. S. (1997): *Biochemical Engineering*. Nueva York: Marcel Dekker.

Levenspiel, O. (1975): *Ingeniería de las reaccionas químicas*. Barcelona: Reverté.

McCabe, W. L.; Smith, J. C.; Harriott, P. (1993): *Unit Operations of Chemical Engineering*. 5ª ed. Nueva York: McGraw-Hill.

Perry-Green (1980): *Chemical Engineers' Handbook*. Parte 16. 7ª ed. Nueva York: McGraw-Hill.

Recasens, F.; McCoy, B.; Smith, J. M., (1989): "Desorption Processes: Supercritical Regeneration of Activated Carbon". *AIChE Journal*, 35, 951-958.

Recasens, F.; Velo, E.; Larrayoz, M. A., Puiggené, J., (1993): "Endothermic Character of Adsorption from Supercritical Carbon Dioxide on Activated Carbon at Low Coverage". *Fluid Phase Equilibria*, 90: 265-287. Elsevier.

Smith, J. M. (1981): *Chemical Engineering Kinetics*. 3ª ed. Nueva York: McGraw-Hill.

Tomida, T.; McCoy, B. J. (1982): "Polynomial Profile Approximation for Intraparticle Diffusion". *AIChE Journal*, 33, 1908-1911.

Capítulo 9

Blanch, H. W.; Clark, D. S. (1997): *Biochemical Engineering*. Nueva York: Marcel Dekker.

Furusawa, T.; Suzuki, M.; Smith, J. M. (1976): "Rate Parameters in Heterogeneous Catalysis by Pulse Techniques". *Catalysis Reviews: Science and Engineering*, 35, p. 43.

Harrison, R.G.; Todd, P.; Rudge, S. R.; Petrides, D.P. (2003): *Bioseparations Science and Engineering*. Oxford: Oxford University Press.

Katoh, S.; Yoshida, F. (2013): *Biochemical Engineering*. Weinheim: Wiley-VCH.

Levenspiel, O. (1999): *Chemical Reaction Engineering*. 3ª ed. Nueva York: J. Wiley.

Martín del Valle, E. M.; Freitas, S. C.; Galán, M. A. (2002): "Separation of asparaginase and trypsin by affinity chromatography combined with batchwise adsorption and columnwise desorption". *Process Biochemistry*, 38: 551-557.

Moduline™. *Biochromatography Production Columns*. Hoja de datos. Millipore Inc.

Montes Sánchez, F. J.; Martín del Valle, E.; Galán, M. A.; Cerro, R. L. (2004): "Modeling of monolith-supported affinity chromatography". *Biotechnology Progress*, 20(3): 811-817.

Richardson, J. F.; Harker, J. H.; Backhurst, J. R. (2002): *Coulson & Richardson's Chemical Engineering*, vol. 2. 5ª ed. Oxford: Butterworths-Heinemann.

Snyder, L. R.; Kirkland, J. J. (1979): *Introduction to Modern Liquid Chromatography*. 2ª ed. Nueva York: Wiley-Interscience.

Storti, G.; Santacesaria, E.; Morbidelli, M.; Carrà, S. (1985): "Separation of Xylenes on Zeolites in the Vapor Phase". *Ind. & Eng. Chemistry, Prod. Res. Dev.*, 24: 89-92.

Varma, A.; Morbidelli, M. (1997): *Mathematical Methods in Chemical Engineering*. Oxford: Oxford University Press.

Villermaux, J. (1983): *Dynamique des Systèmes*. Nancy: CPE-ENSIC.

Wankat, P. C. (1999): *Rate-Controlled Separations*. Amsterdam: Elsevier.

Yamamoto, S.; Nomura, M.; Sano, Y. (1987): "Factors affecting the relationship between plate height and the linear mobile phase velocity in gel filtration chromatography of proteins". *Journal of Chromatography*, 394: 363-367.

Capítulo 10

Belter, P.A.; Cussler, E.L.; Hu, W.-S. (1988): *Bioseparations.* Nueva York: J. Wiley.

Cheryan, M. (1998): *Ultrafiltration and Microfiltration Handbook*. 2ª ed. Lancaster, PA: Technomic.

Doran, P. M. (2012): *Bioprocess Engineering Principles*. 2ª ed. Londres: Academic Press.

Fariñas, M. (1999): *Ósmosis inversa*. Madrid: McGraw-Hill.

Ghosh, R. (2006): *Principles of Bioseparation Engineering*. Nueva Jersey: World Scientific Publishing.

Katoh, S.; Yoshida, F. (2009): *Biochemical Engineering*. Weinheim: VCH-Wiley.

McCabe, W. L.; Smith, J. C.; Harriott, P. (1993): *Unit Operations of Chemical Engineering*. 5ª ed. Nueva York: McGraw-Hill.

Millipore (1999): *Ultrafiltration Disk Membranes for Stirred Cells Micropartition Systems.* Nota técnica. Billerica, MA: Millipore Corp.

Millipore (2003): *Protein Concentration and Diafiltration by Tangential Flow Filtration*. Resumen técnico. Billerica, MA: Millipore Corp.

Osmonics (1993): *Cross Flow Membrane Filtration.* Minnetonka, MN: Osmonics Inc.

Ratledge, C.; Kristiansen, B. (2001): *Basic Biotechnology*. 3ª ed. Cambridge: Cambridge University Press.

Richardson, J. F.; Harker, J. H.; Backhurst, J. R. (2002): *Coulson & Richardson's Chemical Engineering*, vol. 2, 5ª ed. Oxford: Butterworth-Heinemann.

Van den Berg, G. B.; Rácz, I. G.; Smolders, C. A. (1989): "Mass Transfer Coefficients in Cross-Flow Ultrafiltration". *Journal of Membrane Science*, 47(1-2): 25-51. Amsterdam: Elsevier.

Wesselingh, J. A.; Krijgsman, J. (2013): *Downstream Processing in Biotechnology*. Delft: DAP.

Capítulo 11

Belter, P. A.; Cussler, E. L.; Hu, W. S. (1988): *Bioseparations*. Nueva York: J. Wiley.

Dickey, D. S. "Liquid Agitation". En: Chopey, N. *Handbook of Chemical Engineering Calculations*, cap. 12. 2ª ed. Nueva York: McGraw-Hill.

Doran, P. E. (2012): *Bioprocess Engineering Principles*. 2ª ed. Londres: Academic Press.

Garcia, A. A.; Bonen, M. R.; Ramírez-Vick, J.; Sadaka, M.; Vuppu, A. (1999): *Bioseparation Process Science*. Oxford: Blackwell.

Gates, L. E.; Morton, J. R.; Fondy, P. L. (1976): "Selecting Agitator Systems to Suspend Solids in Liquids". *Chem. Eng*., mayo. Nueva York: McGraw-Hill.

Harrison, R. G.; Todd, P.; Rudge, S. R.; Petrides, D. P. (2003): *Bioseparations Science and Engineering*. Oxford: Oxford University Press.

King, C. J. (1981): *Separation Processes*. 2ª ed. Nueva York: McGraw-Hill.

McCabe, W. L.; Smith, J. C.; Harriott, P. (1993): *Unit Operations of Chemical Engineering*. 5ª ed. Nueva York: McGraw-Hill.

Mullen, J. W. (2002): "Crystallization and Precipitation". *Ullmann's Encyclopaedia of Industrial Chemistry*. 7ª ed. Weinheim: J. Wiley-VCH.

Perry, R. H.; Green, D. W. *Chemical Engineers' Handbook*. 7ª ed. Nueva York: McGraw-Hill.

Prausnitz, J. M.; Lichtenthaler, R. G.; Gomes de Acevedo, E. (1999): *Molecular Thermodynamics of Fluid Phase Equilibria*. 3ª ed. Englewood Cliffs: Prentice-Hall.

Smith, R. (2003): *Chemical Process Design*. 2ª ed. Nueva York: J. Wiley.

Capítulo 12

Belter, P. A.; Cussler, E. L.; Hu, W. S. (1988): *Bioseparations*. Nueva York: John Wiley.

Coulson, J. M.; Richardson, J. F. (2003): *Chemical Engineering. Design*, vol. 6. 2ª ed. R. K. Sinnott.

Doran, P. M. (2012): *Bioprocess Engineering Principles*. 2ª ed. Londres: Academic Press.

Harrison, R. G.; Todd, P.; Rudge, S. R.; Petrides, D. P. (2003): *Bioseparations Science and Engineering*. Oxford: Oxford University Press.

Ibarz, A.; Barbosa-Cánovas, G. V. (2005): *Operaciones Unitarias en la Ingeniería de Alimentos*. Madrid: Mundi Prensa.

Levenspiel, O. (1973): *Ingeniería de las reaccionas químicas*. 2ª ed. Barcelona: Reverté.

McCabe, W. L.; Smith, J. C. (1968): *Operaciones básicas de ingeniería química*. 2ª ed. Barcelona: Reverté.

McCabe, W. L.; Smith, J. C.; Harriott, P. (1993): *Unit Operations of Chemical Engineering*. 5ª ed. Nueva York: McGraw-Hill.

Treybal, R. E. (1981): *Mass Transfer Operations*. 3ª ed. Nueva York: McGraw-Hill.

Capítulo 13

Blanch, H. W.; Clark, D. S. (1997): *Biochemical Engineering*. 2ª ed. Nueva York: Marcel Dekker.

Kristiansen, B. (2006): "Process Economics". En: Radledge, C.; Kristiansen, B. (eds.), *Basic Biotechnology*. 3ª ed. Londres: Cambridge University Press.

Petrides, D.; Carmichel, D.; Siletti, C.; Koulouris, A. (2014): "Biopharmaceutical process optimization and scheduling tools". *Bioengineering*, 1: 154-187.

Petrides. D. (2015): *Bioprocess Design and Economics*. <http://www.intelligen.com>

Puigjaner, L.; Espuña. A. (1990): "Síntesis y diseño de plantas de proceso discontinuo". *Ingeniería química*, 22: 151-159.

Samuelson, P.A. (1980): *Curso de economía moderna*. 17ª ed. Madrid: Aguilar.

Vatavuk, W. M. (2002): "Updating the CE plant cost index". *Chemical Engineering*, enero. Nueva York: McGraw-Hill.