8

ENGINYERIES
INDUSTRIALS

UNIVERSITAT POLITÈCNICA
DE CATALUNYA
BARCELONATECH

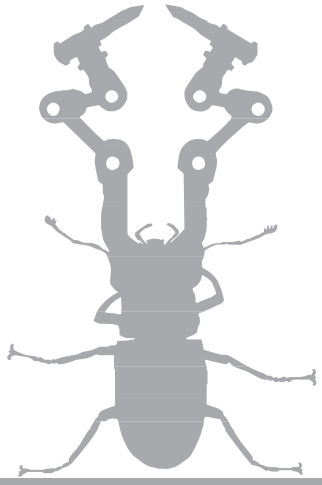
UPCPOSTGRAU

Processos de separació de biotecnologia industrial

Francesc Recasens Baxarias

8

ENGINYERIES
INDUSTRIALS



UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA BARCELONATECH

iniciativa digital politècnica
Publicacions Acadèmiques UPC

UPCPOSTGRAU

Processos de separació de biotecnologia industrial

Francesc Recasens Baxarias

Primera edició: setembre de 2015
Segona edició: gener de 2017
Reimpressió: abril de 2019

© Francesc Recasens Baxarias, 2015

© Iniciativa Digital Politècnica, 2015
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: 978-84-9880-617-5
DL: B.1904-2017

Qualsevol forma de reproducció, distribució, comunicació pública o transformació d'aquesta obra només es pot fer amb l'autorització dels seus titulars, llevat de l'excepció prevista a la llei.

Índex

Prefaci 11

1. Processos de bioseparació 15
- 1.1 Què separem en la bioseparació? 16
- 1.2 A què és degut un elevat cost de la bioseparació? 18
- 1.3 Característiques dels processos de separació: l'agent de separació 19
- 1.4 Diagrama de blocs d'un procés d'exemple: la recuperació dels antibiòtics 21
- 1.5 Conclusions 22

2. Filtració 25
- 2.1 Factors que intervenen en la filtració 28
  - 2.1.1 Medis filtrants i filtres industrials 28
- 2.2 Teoria de la filtració 31
- 2.3. Filtració a pressió constant. Tortó incompressible 33
  - 2.3.1 Tortó incompressible i compressible: dades de compressibilitat 38
  - 2.3.2 Millora de la velocitat de filtració 39
- 2.4 Selecció de filtres continus a pressió constant: Càlcul del cabal mitjà 40
- 2.5 Càlcul del rentat 42
  - 2.5.1 Volum de rentat. 42
  - 2.5.2 Temps de rentat 43
- 2.6 Càlcul d'un filtre industrial a partir de dades de laboratori 45
- 2.7 Consideracions finals i recomanacions 47
- 2.8 Notació 49

3. Centrifugació 51
- 3.1 Velocitat terminal en un fluid per acció de la gravetat 53
  - 3.1.1 Moviment de la partícula en un camp centrífug 55
  - 3.1.2 Temps de sedimentació en una centrífuga 56
- 3.2 Centrífuga de cistella tubular 56
- 3.3 Centrífuga de discs 59
- 3.4 Teoria sigma 63
  - 3.4.1 Rendiment de la centrífuga 65
  - 3.4.2 Canvi d'escala. Proves en una màquina pilot 65
- 3.5 Centrífuga filtrant 67
- 3.6 Ultracentrifugació en biologia molecular i biotecnologia 69
  - 3.6.1 Coeficient de sedimentació 70
  - 3.6.2 Determinació del pes molecular amb la ultracentrífuga analítica 71
  - 3.6.3 Sedimentació en un gradient de densitat 72

3.7 Consideracions finals ... 72
3.8 Notació ... 74

4. Disrupció cel·lular ... 77
4.1 La membrana cel·lular ... 77
4.1.1 Resistència mecànica de la membrana: Osmosi i xoc osmòtic ... 80
4.2 Ruptura cel·lular amb reactius químics ... 83
4.2.1 Detergents ... 83
4.2.2 Solvents ... 83
4.2.3 Enzims i antibiòtics ... 84
4.3 Disrupció mecànica ... 84
4.3.1 Homogeneïtzació ... 84
4.3.2 Termodinàmica ... 87
4.3.3 Molins de boles ... 90
4.4 Consideracions finals ... 94
4.5 Notació ... 95

5. Floculació ... 97
5.1 Fonaments de la floculació ... 97
5.2 L'estabilitat dels col•loides liofòbics ... 100
5.2.1 La doble capa elèctrica ... 100
5.2.2 Concentració de coagulació: regla de Schulze-Hardy ... 103
5.3 Coagulació de col•loides industrials ... 107
5.4 Floculants sintètics industrials ... 109
5.4.1 Els floculants en biotecnologia ... 110
5.5. Consideracions finals: disseny dels floculadors ... 111
5.6 Notació ... 113

6. Precipitació ... 115
6.1 Solubilitat de les proteïnes ... 116
6.1.1. Estructura i grandària ... 117
6.1.2 Càrrega elèctrica de la proteïna en dissolució ... 118
6.1.3 Efecte dels solvents no-solvents en el medi ... 118
6.1.4 Precipitació per efecte salí ... 119
6.1.5 Més sobre l'efecte de les sals: l'equació de Cohn ... 120
6.1.6 Precipitació per calor ... 121
6.2 Cinètica de precipitació de proteïnes en un tanc amb agitació ... 122
6.2.1 Mescla ràpida ... 123
6.2.2 Nucleació ... 125
6.2.3 Floculació browniana (creixement pericinètic) ... 126
6.2.4 Floculació per esforços de tall de l'agitador (agregació ortocinètica) ... 127
6.2.5 Ruptura i degradació mecànica del precipitat ... 130
6.3 Precipitació de proteïnes a una escala més gran: les regles de canvi d'escala ... 131
6.3.1 Canvi d'escala mantenint P/V = constant: els gradients de tall màxims ... 132
6.3.2 Canvi d'escala mantenint el gradient de tall constant: valors de P/V que en resulten ... 133
6.4 Conclusions ... 135
6.5 Notació ... 136

7. Extracció líquid-líquid ... 139
7.1 Fonaments de l'extracció ... 140

7.1.1 Constants d'equilibri: solvents d'extracció 141
7.1.2 Selecció del dissolvent 142
7.1.3 Sistemes de tipus I i de tipus II: coordenades rectangulars 143
7.2 Càlcul del nombre d'etapes d'equilibri 145
7.2.1 Un mesclador-sedimentador continu o discontinu 145
7.2.2 Contactes amb corrents encreuats (o per càrregues successives) 145
7.2.3 Multietapa a contracorrent, líquids parcialment miscibles 147
7.2.4 Rendiment d'etapa i rendiment global 149
7.3 Dissolucions diluïdes, solvents totalment immiscibles 150
7.3.1 Aplicacions en biotecnologia 150
7.3.2 Factor d'extracció i equació de Kremser 151
7.4 Extracció d'antibiòtics, pH swing i extracció inversa o reextracció 152
7.5 Extracció diferencial amb contacte continu 155
7.5.1 Transferència de massa 155
7.5.2 Balanç de massa en un dz de torre 156
7.5.3 Càlcul de NTU_{Ox} 157
7.5.4 L'extractor com un bescanviador 157
7.6 Càlcul i selecció de columnes 160
7.6.1 Altura de l'etapa teòrica (o HETS) 160
7.6.2 Aparells industrials d'extracció 160
7.6.3 Especificació d'un extractor industrial i canvi d'escala 164
7.7 Extracció amb un solvent aquós bifàsic 166
7.7.1 Balanç de solut en l'extracció aquosa 167
7.7.2 Línies d'enllaç en un solvent bifàsic 169
7.8 Conclusions 173
7.9 Notació 175

8. Adsorció 177
8.1 Fonaments de l'adsorció i aplicacions a la biotecnologia 179
8.2 Velocitat i equilibri d'adsorció segons Langmuir 180
8.2.1 Altres isotermes: la isoterma lineal i la de Freundlich 182
8.2.2 Energètica 182
8.2.3 Regeneració tèrmica 184
8.2.4 Regeneració de l'adsorbent en biotecnologia 184
8.2.5 Isoterma de Freundlich 185
8.2.6 Isoterma generalitzada per carbó activat 185
8.3 Càlcul de les operacions d'adsorció 186
8.3.1 Una etapa o diverses etapes de contacte. Operacions per càrregues 186
8.3.2 Operació d'adsorció en llit fix, isoterma lineal 188
8.3.3 Perfil parabòlic intrapartícula i força impulsora lineal 189
8.3.4 Equilibri local (o en un centre actiu) 190
8.3.5 Model de l´adsorció en llit fix: Corba de ruptura 190
8.4 Operació de desorció de solut d'un llit fix, isoterma lineal 195
8.4.1 Resum de les solucions del models d´adsorció lineal 197
8.5 Pèrdua de càrrega per fricció en llits porosos 197
8.6 Càlcul empíric del canvi d'escala: mètode LUB 198
8.6.1. Càlcul de la LUB de proves a escala reduïda 198
8.7 Moments de la resposta temporal 201
8.8 Canvi d'escala basat en els paràmetres del model 203
8.8.1 Metodologia simple de canvi d'escala 203
8.8.2 Metodologia més elaborada de canvi d'escala 203
8.9 Adsorció no lineal: isoterma de Freundlich 205

8.9.1 Isoterma no-lineal: Càlcul del punt de ruptura 205
8.9.2 Estimació del punt de ruptura. Disseny de l'adsorbidor 206
8.10 Avaluació dels paràmetres i consideracions finals 209
8.11 Consideracions finals 210
8.12 Notació 212

9. Cromatografia 215
9.1 Fonaments de la cromatografia d'elució 217
9.1.1 Velocitat del front d'ona d'un component 218
9.2 Anàlisi d'una columna com una sèrie de N adsorbidors 220
9.2.1 Conseqüències 221
9.2.2 Efecte de la transferència de massa 222
9.3. Anàlisi d'una columna contínua 223
9.4 Eficàcia de la columna: equació de Van Deemter 225
9.5 Paràmetres que defineixen la separació de dos components 227
9.5.1 Resolució de dos pics 228
9.5.2 Control de la resolució 229
9.5.3 Control de l'amplada del pic 230
9.6 Disseny de la columna, separació de proteïnes i canvi d'escala 232
9.6.1 Velocitat d'operació de la columna i difusivitat dels soluts 232
9.6.2 Diàmetre de partícula 233
9.6.3 Disseny per canvi d'escala en cromatografia 233
9.6.4 Altres regles de canvi d'escala de columnes i llits fixos 235
9.6.5 Columnes de purificació de proteïnes: regla de Yamamoto 236
9.6.6 Utilització de columnes en paral•lel 240
9.7. Tipus de cromatografia més utilitzats en biotecnologia 241
9.7.1 Cromatografia de bescanvi iònic 241
9.7.2 Cromatografia d'afinitat 242
9.7.3 Permeació sobre gel (GPC o d'exclusió per mida) 243
9.8 Consideracions finals 244
9.9 Notació 245

10. Filtració tangencial 249
10.1 Processos de filtració tangencial 250
10.2 Fonaments de la filtració tangencial 253
10.2.1 Definicions: factor de concentració, rendiment, pressió osmòtica 254
10.2.2 Factor de retenció i propietats de la membrana 257
10.2.3 Membranes comercials 257
10.2.4 Disseny del procés d'UF 259
10.3 Models de transport de solut a través de la membrana 259
10.3.1 Model de resistències en sèrie: càlcul del flux 260
10.3.2 Model de transferència de massa: càlcul del flux 261
10.3.3 Polarització i concentració de gelificació 261
10.3.4 Coeficients de transferència de massa 267
10.4 Microfiltració 271
10.4.1 Flux de permeació en MF. 272
10.5 Operacions i processos de filtració tangencial en biotecnologia 274
10.5.1 Procés de concentració: operació per càrregues amb recirculació 274
10.5.2 Operació de concentració: procés per càrregues (amb recirculació) en cas de polarització 278
10.5.3 Procés de concentració en continu: 1 etapa o multietapes en sèrie 278
10.5.4 Procés de diafiltració: operacions de rentat o canvi de tampó 279
10.6. Mòduls comercials premuntats per a filtració tangencial 282

10.7. Canvi d'escala de la filtració tangencial ... 284
10.8 Consideracions finals i conclusions ... 285
10.9 Notació ... 286

11. Cristal·lització ... 289
11.1 Fonaments de la cristal·lització ... 291
11.1.1 Cristalls ... 292
11.1.2 Sobresaturació ... 294
11.1.3 Puresa ... 296
11.1.4 Velocitat de nucleació ... 301
11.1.5 Velocitat de creixement d'un cristall ... 301
11.2 Cristal·lització de bioproductes. Operacions per càrregues o contínues ... 303
11.3 Estadística de mides de cristalls, nombre de cristalls i densitat de població: DMC ... 304
11.3.1 Operacions de cristal·lització: procés continu ... 304
11.3.2 Funció de densitat de població ... 305
11.3.3 Moments ... 308
11.3.4 Mida de cristall predominant o més freqüent ... 310
11.3.5 Coeficients cinètics ... 310
11.3.6 Nombre de cristalls per kg de producte ... 311
11.3.7 Relació velocitat de nucleació vs. velocitat de producció ... 311
11.4. Cristal·lització discontínua ... 313
11.4.1 Refredament temperatura-temps a sobresaturació constant ... 314
11.4.2 Cristal·lització discontínua amb dilució ... 318
11.4.3 Model del procés de cristal·lització amb dilució ... 319
11.5 Cristal·litzadors industrials ... 324
11.6 Canvi d'escala dels cristal·litzadors ... 326
11.7 Notació ... 327

12. Assecatge ... 331
12.1. Els assecadors ... 331
12.1.1 El contacte gas-sòlid ... 334
12.1.2 Perfils de temperatura a l'assecador ... 334
12.2 Fonaments de l'assecatge de sòlids ... 335
12.2.2 Assecadors discontinus de contacte directe: règim de velocitat d'assecatge constant ... 338
12.3 Assecadors industrials ... 342
12.4 Assecadors discontinus de contacte indirecte ... 345
12.4.1 El cas més senzill: assecatge per conducció, temps d'assecatge ... 346
12.4.2 Assecador industrial de safates. Càlcul precís de la transmissió de calor ... 348
12.5 Assecadors adiabàtics continus ... 351
12.5.1 Balanços de massa i entalpia en assecadors continus ... 351
12.5.2 Fluïdització i assecadors de llit fluïditzat: model semiempíric ... 354
12.6. Consideracions finals ... 359
12.7 Notació ... 360

Annexes ... 365
Annex 1: Fòrmules de Van der Laan ... 365
Annex 2. Mides de partícula i anàlisi granulomètrica ... 366
Annex 3. Aire humit i diagrama psicromètric ... 367

Bibliografia ... 371

Prefaci

Aquest llibre tracta dels fonaments i de les aplicacions dels processos corrents per concentrar, separar i purificar, a escala de producció, els productes de les indústries biotecnològiques. S'adreça als estudiants interessats en els fonaments de la biotecnologia industrial i també als qui treballen en empreses biotecnològiques o de fabricació farmacèutica i que intervenen en les operacions unitàries del cos anomenat *enginyeria bioquímica*.

La biotecnologia moderna es basa en l'enginyeria genètica, entesa com la manipulació genètica d'organismes vius per tal que produeixin productes útils. Els bioproductes són sintetitzats per cèl·lules o per enzims en el bioreactor, o bé s'extreuen de plantes o d'animals. És indubtable que les persones interessades en la biotecnologia –estudiants, biòlegs, científics, farmacèutics, enginyers– se senten atretes principalment pels avenços i pel potencial de la biologia moderna, i també pel misteri de les "múltiples nines russes" que són les estructures de la vida. Són els aspectes biològics de la qüestió que resulten més atractius.

Tanmateix, si la biotecnologia vol ser efectiva ha de generar productes. Sense els processos de separació i purificació a escala de producció, cap bioproducte no pot esdevenir una realitat comercial, per molt brillant i revolucionària que sigui la idea biològica inicial. Els processos de separació s'inventen al laboratori a nivell de grams (o mil·ligrams), però acaben a la planta de producció a nivell de quilos.

Com succeeix en totes les indústries, els científics i els enginyers cooperen per dur a terme un producte o un procés eficient, segur, rendible, reproduïble, i que sigui útil per a la salut. Hi ha, però, una diferència molt important respecte de les altres indústries. En biotecnologia, els processos de recuperació i purificació del producte –l'anomenat *downstream processing* o processament posterior a la biosíntesi– poden arribar a representar més del 80 % del cost directe de fabricació, com és el cas de les proteïnes plasmàtiques i dels àcids nucleics i derivats.

La separació del bioproducte comprèn una llarga seqüència de passos, cadascun dels quals aplica un o diversos processos de purificació, com ara la filtració o diverses cromatografies, abans d'entrar en la producció farmacèutica convencional (preparats farmacèutics, comprimits, injectables, kits). Aquests processos s'han de posar a punt curosament al laboratori i traslladar a la planta industrial, acomplint una activitat multi-

disciplinària que és el canvi d'escala practicada o extrapolació, coneguda a totes les branques de l'enginyeria.

Els capítols d'aquest llibre presenten cadascuna d'aquestes etapes com a operacions diferenciades a partir del bioreactor, en el sentit d'incrementar la puresa del bioproducte, tal com es fa a la pràctica. Les bioseparacions s'esglaonen a partir del fermentador i s'exposen en els capítols que s'esmenten tot seguit.

Al capítol 1, s'expliquen quins són els bioproductes actuals i per què les bioseparacions són tan importants en l'escala de costos. A continuació, es dediquen cinc capítols, del 2 al 6, a la generació i a la separació de materials insolubles i partícules dels brous de fermentació: la filtració convencional, la centrifugació, la disrupció cel·lular, la floculació i la precipitació de proteïnes. Als capítols 7 i 8, s'estudien els processos d'aïllament del producte, com ara l'extracció líquid-líquid i l'adsorció-desorció, respectivament, que tenen com a objectiu preparar un concentrat de bioproducte, de prop del 10 % de matèria activa. Amb l'extracció i l'adsorció, tenim un bioproducte amb una concentració apreciable. A partir d'aquest punt, es passa als processos de purificació mitjançant diversos tipus de cromatografia d'elució en fase líquida. En aquests, aconseguim fins al 70-80 % de puresa.

Els tipus de cromatografia emprats són diversos: exclusió per mida o GPC, bescanvi iònic (aniònica o catiònica), adsorció HIC i cromatografia d'afinitat. Al capítol 9 es presenten en detall els procediments de canvi d'escala per passar a la planta de producció. A la indústria, són freqüents les columnes d'1 m de diàmetre.

Al capítol 10, es presenten els mètodes de filtració sobre membrana (o filtració tangencial, ultrafiltració i microfiltració), que s'empren a bastament per condicionar l'alimentació a una separació cromatogràfica posterior.

Després de les separacions cromatogràfiques, s'obté un producte preparat per a la cristal·lització, i després per a l'assecatge, si bé de vegades no es fa cap tipus d'assecatge. Aquestes dues operacions –cristal·lització i assecatge– són processos corrents de poliment del producte, que produeixen cristalls de puresa pròxima al 100 % i que generalment són presents en biotecnologia. Aquests dos processos, no específics de la biotecnologia, es tracten als capítols 11 i 12.

Aquest llibre és el resultat de l'experiència de l'autor en la docència i en el desenvolupament experimental de processos a la indústria química i de polímers, i en diferents empreses i universitats. A la UPC, l'autor ha col·laborat en l'ensenyament d'operacions bàsiques de planta pilot durant 27 cursos acadèmics i, al llarg de més de 35 anys, de processos químics unitaris en els ensenyaments reglats d'enginyeria industrial (intensificació química) i en la titulació d'enginyeria química a l'ETSEIB i, més recentment, en la docència de Biotecnologia Farmacèutica i Operacions de Separació al Màster d'Enginyeria Biotecnològica i d'altres de la UPC.

El nivell de coneixements d'aquest text és adequat a les assignatures de Grau en Biotecnología que tracten del Processos o Operacions de Separació en general. L'enfocament dels temes correspon al de les universitats més avançades que ensenyen la biotecnologia orientada a la producció, és a dir, no estrictament biològica. Com ja s'ha comentat, primer es fa especial èmfasi en el fonament de cada procés; després, es

resolen els problemes de disseny o de dimensionament dels aparells, i, finalment, s'estudien els mètodes de canvi d'escala i els aparells més adequats per a cada procés de separació.

Hi ha molts bioquímics, biotecnòlegs i farmacèutics de producció que treballen en la indústria, amb una formació fragmentària en enginyeria, que es troben en la necessitat de desenvolupar processos al laboratori i haver d'encarregar-se també d'especificar els equips i d'operar aparells en una planta més gran o en una planta de plena producció. Per aquest motiu, una part dels exemples s'han orientat a cobrir aquesta necessitat.

Agraïments

En primer lloc agraeixo al Prof. Juan J. Pérez, responsable del Màster d´Enginyeria Biotecnològica, l´oferiment d´impartir temes d´operacions de separació en diverses assignatures d´Enginyeria Biotecnològica i del Màster en Enginyeria Química, temes que he procurat recollir, endreçar i ordenar en aquest llibre. He d´agrair al Sr. Jordi Prats que va creure des del primer moment en el projecte d´edició per part de la Iniciativa Digital Politècnica de la UPC, d´un text de postgrau de la UPC. Vull expressar el meu agraïment a Ana Latorre (IDP-UPC) i a Àngela de la Rosa, que han col·laborat en diferents aspectes de l´edició. Finalment, agraeixo a la Laia Alonso, Marga Anglada, i Montse Tornés, de la biblioteca de l´ETSEIB, que m´han proveït de literatura i patents sovint de difícil localització, i m´han guiat al lloc adequat.

Si bé hem procurat de ser curosos en el text i en els exemples, si el lector hi troba errades, fallades d'impressió o punts obscurs, agrairem que ens els faci saber, com també qualsevol suggeriment per millorar-ne els aspectes tècnics.

Francesc Recasens Baxarias

Març de 2015

→1

Processos de bioseparació

En aquest llibre s´exposen els fonaments de les operacions unitàries més utilitzades per concentrar, separar i purificar a gran escala els productes de la biotecnologia industrial moderna. Els coneixements propis de les bioseparacions a escala de producció constitueixen el cos de l'enginyeria de les bioseparacions. A la literatura anglosaxona, aquest conjunt de processos reben el nom de *downstream processing*, que designa la recuperació i la purificació del bioproducte.

El processament previ (o *upstream processing*) correspon a les tècniques de biotecnologia actuals, que comprenen la posada a punt de soques i cèl·lules, el seu cultiu i el control del bioreactor a escala de producció. Podem avançar que aquestes tècniques biològiques conformen el nucli fonamental de la biotecnologia, i comprenen:

a) La selecció, el disseny i l'enginyeria molecular de les espècies, o les soques, i la modificació dels sistemes d'expressió genètica de la cèl·lula.

b) La millora de l'espècie o la soca o modificació genètica

c) La modificació del funcionament i l'optimització de la fermentació.

d) El pas a plena escala del fermentador.

Aquest darrer aspecte, o canvi d'escala, està relacionat amb la problemàtica industrial de les tècniques de bioseparació, perquè és una activitat pròpia de l'enginyeria, com ho són la resta de les operacions de separació.

Pel que fa al bioprocessament després del bioreactor, poden distingir-se dues activitats: el bioprocessament reactiu i el bioprocessament extractiu. Considerem el bioprocessament reactiu aquell procés en què el bioproducte és obtingut al fermentador. Com ja hem vist a la llista anterior, els aspectes biològics previs inclouen la selecció de biocatalitzadors i el seu enriquiment, l'aïllament, la propagació i la manipulació de cèl·lules mitjançant tècniques d'ADN recombinant i d'hibridació, com també l'optimització del medi i la seva formulació (pròpies de la tecnologia de l'ADN actual).

La fermentació no és necessàriament anaeròbia; en general, es produeix en presència d'oxigen (aeròbia) i consisteix en el creixement aerobi de bacteris i fongs, en el cultiu de cèl·lules vives d'origen animal i vegetal, i algues, o en el creixement biològic a fi de produir enzims.

El bioprocessament reactiu es compon, doncs, de tres etapes:
Bioprocessament previ → Creixement biològic → Operacions de bioseparació

1.1 Què separem en la bioseparació?

Els productes que separarem es poden classificar de diverses maneres. A la taula 1.1, es classifiquen segons la seva naturalesa química.

Taula 1.1
Productes de la biotecnologia (Ghosh, 2006)

Categories	Exemples
Dissolvents	Butanol, acetona, etanol, diols
Àcids orgànics	Àcids cítric, làctic, butíric, itacònic
Vitamines	Àcid ascòrbic, vitamina B12
Aminoàcids	Lisina, fenilalanina, glicina
Antibiòtics	Penicil·lines, estreptomicina, gentamicina, tetraciclina, cefalosporina, lincomicina
Sucres, polisacàrids	Glucosa, fructosa, dextrans, midó
Àcids nucleics	Plasmidis, ADN, vectors retrovirals, ribozims, enzims diagnòstics
Proteïnes purificades	Enzims terapèutics, anticossos monoclonals, insulina, interferó, factors de creixement humà, vacunes, citocines, interleucines, hormones
Proteïnes semipurificades	Industrials, proteïnes de l'ou, de la llet, de la soja o del sèrum
Cèl·lules	Llevat de pa, llevat de cervesa, lactobacil liofilitzat, algues
Extractes cel·lulars crus	De llevat, de soja, de teixit animal
Hidrolitzats	De soja, de sèrum, de teixits animals
Alcaloides i esteroides	Prednisolona, codeïna, morfina, quinina, estricnina, taxol

Aquests bioproductes tenen el seu mercat en forma de productes químics industrials, agroquímics, farmacèutics, alimentaris, nutricèutics, de diagnòstic, productes químics convencionals, especialitats, reactius de laboratori, productes per a cosmètica, etc.

En general, són productes d'alt valor afegit, superior al valor de les especialitats que la indústria química genera. Cal assenyalar que la incidència econòmica del cost de la

bioseparació sobre el cost directe del producte és, com a mínim, del 20 %, però pot arribar a ser el 80 % del cost total directe (primeres matèries, fermentació, energia i altres despeses directes). La taula 1.2 dóna una idea de la influència dels costos de separació sobre el cost de producció directe. A mesura que l'especialització del bioproducte és més gran, el cost de separació també augmenta, ja que les tècniques són menys convencionals. Aquesta tendència es pot veure a la figura 1.1, que mostra clarament una relació inversa entre la concentració inicial i el preu de venda final.

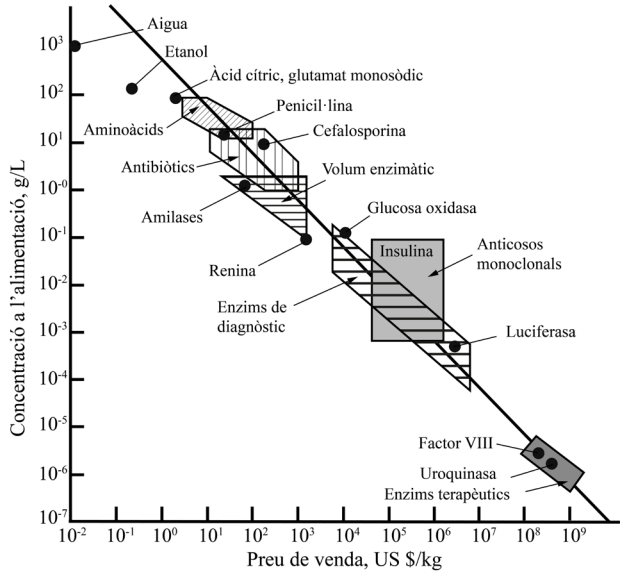


Fig. 1.1
Relació entre la concentració inicial del bioproducte i el preu final de venda (Blanch-Clark, 1997)

Producte	**Cost de la bioseparació, % del cost de producció directe**
Dissolvents	15-20
Cèl·lules i extractes cel·lulars crus	20-25
Àcids orgànics, vitamines i aminoàcids	30-40
Biopolímers	40-50
Antibiòtics	20-60
Enzims industrials	40-65
Proteïnes terapèutiques (no recombinants)	50-70
r-ADN	60-80
Anticossos monoclonals	50-70
Àcids nucleics i derivats	60-80
Proteïnes plasmàtiques	70-80

Taula 1.2
Incidència del cost de separació (Ghosh, 2006)

1.2 A què és degut un elevat cost de la bioseparació?

Podem esmentar-ne algunes causes:

1. La petita concentració del bioproducte en el brou final de les fermentacions; de vegades, d'uns quants mg per litre de brou.

2. El grau de puresa que es requereix en alguns bioproductes, que obliga a fer una sèrie d'etapes de separació, on es tracta una mescla complexa amb altres productes que hi interfereixen i que són considerats impureses que cal deixar de banda.

3. Les múltiples separacions i recuperacions, que impliquen utilitzar més aparells i personal especialitzat.

4. Alguns bioproductes poden desnaturalitzar-se per la calor i són sensibles a gradients de tall elevats; per tant, requereixen l'aplicació de tècniques "delicades", amb relació a la temperatura, el pH, la força iònica, etc.

5. Els bioproductes termolàbils s'han de trobar a temperatures per sota de l'ambiental.

En general, cal seguir una estratègia adequada de separacions, que permeti maximitzar-ne la puresa i minimitzar-ne el cost.

Pel que fa a la concentració final en el fermentador, és habitual obtenir concentracions de producte de l'ordre de 100 g/m^3, com és el cas dels antibiòtics, les quals afecten totes les operacions següents. Per exemple, en el cas de l'extracció d'antibiòtics mitjançant un solvent, l'estratègia es basa que el solut compleix les lleis de la dissolució diluïda, fet fonamental per calcular-ne les etapes d'extracció i la manera de fer-les funcionar. Això determina una logística complexa de dissolvents d'extracció i aigües residuals, a causa de les grans quantitats de líquids que es manegen.

A la taula 1.3, es recullen els requisits de puresa que han de complir alguns productes biotecnològics.

Taula 1.3
Puresa requerida en funció de la dosi (Blanch i Clark, 1997)

Utilització	**Dosi**	**Puresa**
Diagnòstic	*in vitro*	95%
Vacuna	100 mg	99%
Eritropoetina (EPO)	1 g	99,9%
Superòxid dismutasa (SOD)	3 g	99,99%
Hormona del creixement humà (HGH)	>10 g	99,999%

Les operacions que cal realitzar es poden decidir en funció del grau de puresa que es vulgui assolir. En els productes derivats de cèl·lules vives (com les proteïnes recombinants), la recuperació dependrà, en part, del microorganisme.

La localització de la proteïna després de la secreció és un factor molt important. En el cas dels bacteris, la proteïna pot ser intracel·lular; en aquest cas, cal alliberar-la al brou. En altres casos, però, ha estat secretada de forma soluble i es troba en el suc de fermentació final (amb una concentració petita). Això estalvia alguna operació costosa (homogeneïtzació), però n'introdueix d'altres que també comporten problemes associats.

Blanch i Clark (1997) assenyalen els principals microorganismes productors de proteïnes que es fan servir normalment per a la modificació genètica. Aquests són: *Escherichia coli, Bacillus subtilis* i *Saccharomyces cerevisiae.* A part, també es pot treballar amb algunes cèl·lules de mamífer. A més, es donen les característiques biològiques d'interès (velocitat de creixement, rendiment producte/substrat, etc.), però això ja pertany a l'activitat professional dels microbiòlegs industrials.

1.3 Característiques dels processos de separació: l'agent de separació

A la figura 1.1, es representa un procés de separació genèric elemental. L'alimentació consisteix en un o diversos corrents de massa entrants. Hi ha d'haver, almenys, dos corrents de sortida o producte de l'etapa de separació, que difereixen en composició i que generalment estan en fases diferents. La separació és causada per un *agent de separació* específic, que constitueix el fonament del procés. L'agent de separació pot ser un dissolvent, la calor, un camp de forces o una barrera (p. ex., una membrana semipermeable), i es representa mitjançant un altre corrent a la figura 1.2.

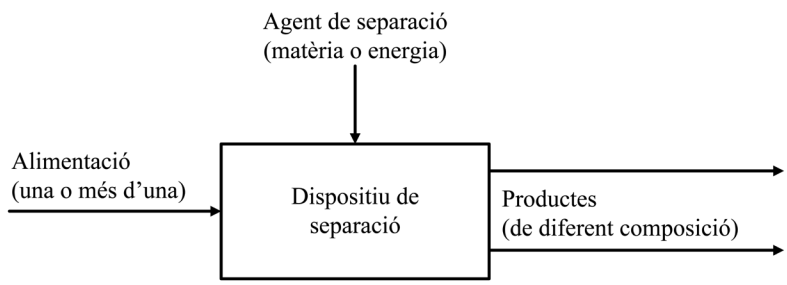


Fig. 1.2
Funcionament d'una etapa o dispositiu de separació. Alimentació, agent de separació, corrents de sortida (King, 1980)

Es distingeixen diversos tipus d'operacions de separació segons la naturalesa de l'agent de separació que es faci servir (King, 1980). Aquestes són:

– *Operacions mecàniques*. L'alimentació és heterogènia (conté 2 o 3 fases) i se n'obtenen 2 o 3 fases per separat.

– *Operacions d'etapes d'equilibri*. Un solut es transfereix d'una fase a una altra fins que s'assoleix l'equilibri de les fases respecte al solut. Aquestes operacions són reversibles. A la figura 1.2, els corrents de sortida es troben en equilibri respecte al solut. La fase lleugera s'ha enriquit respecte a l'alimentació.

– *Operacions governades per la velocitat de transferència de massa*. Un solut es transfereix més ràpidament que un altre. Aquestes operacions són irreversibles (p.ex. la diàlisi, etc.)

– Operacions de transferència simultània de massa i calor (p. ex., l'assecatge, la liofilització, etc.).

A diferència de l'enginyeria química, plantegem l'estudi de les operacions de separació en el mateix ordre en què tenen lloc en la planta de bioprocés, de manera seqüencial. Del fermentador en endavant, les operacions s'esglaonen per tal d'augmentar la fracció de la matèria activa i/o puresa fins al valor especificat final. Així doncs, hi ha (Harrison et al. 2003):

1. *Generació i separació de partícules*. Sedimentació, centrifugació, floculació, homogeneïtzació, filtració i precipitació.

2. *Aïllament del producte*. Adsorció-desorció, extracció líquid-líquid, ultrafiltració

3. *Purificació del producte*. Cromatografia, mètodes d´afinitat, cristal·lització

4. *Operacions d'acabat.* Deshidratació, assecatge.

Taula 1.4 Exemple: Etapes del processament dels antibiòtics (Belter et al. 1988)

		Producte	
Etapa	**Procés**	**Conc., g/L**	**Matèria activa, %**
Brou de cultiu	Fermentació	0,1-5	0,1-1
Separació d'insolubles	Filtració	1-5	0,2-2
Aïllament	Extracció	5-50	1-10
Purificació	Cromatografia	50-200	50-80
Acabat	Cristal·lització	50-200	90-100

La taula 1.4 estableix els processos anteriors per al cas de la fabricació d'antibiòtics, i la figura 1.3 il·lustra el diagrama de blocs de la fabricació d'un antibiòtic concret. Cal tenir en compte que no totes les operacions participen en tots els processos. Així, les operacions de fabricació de l'àcid cítric són unes altres, però s'assemblen a les esmentades. Les operacions enumerades més amunt, de la primera a la quarta, són representatives del conjunt de les operacions de la biotecnologia.

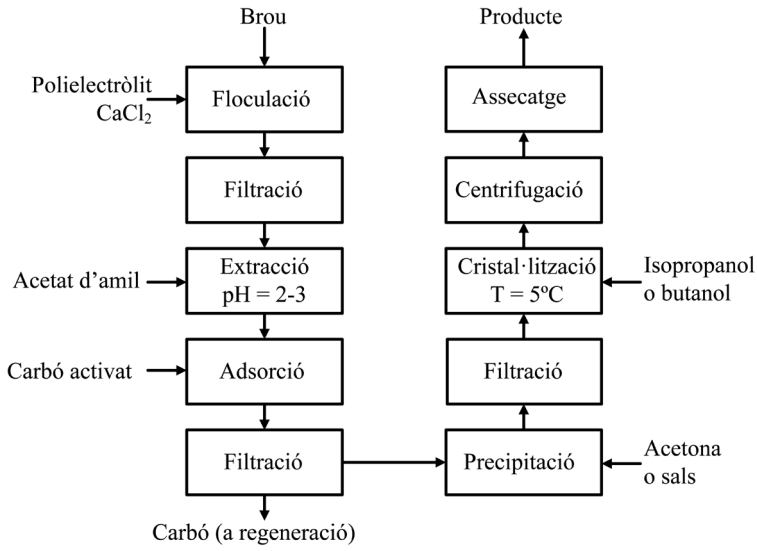


Fig. 1.3
Diagrama de blocs de les operacions de purificació d'un antibiòtic a partir del brou inicial

1.4 Diagrama de blocs d'un procés d'exemple: la recuperació dels antibiòtics

La producció d'antibiòtics es basa en el creixement aerobi de fongs molt especialitzats, segons l'antibiòtic de què es tracti. Com ja s'ha dit, la incidència de les bioseparacions sobre el cost dels antibiòtics pot representar ben bé el 50 % dels costos de fabricació.

La figura 1.3 il·lustra el diagrama de blocs de recuperació de la penicil·lina, i es comenten els aspectes que es presenten a la taula 1.4. L'etapa clau és l'extracció líquid-líquid mitjançant un solvent adequat (isopropanol o butanol). L'extractor és del tipus Podbielniak, de manera que el temps de contacte amb el solvent sigui mínim i evitar així la degradació de l'antibiòtic que es troba en contacte amb el solvent orgànic.

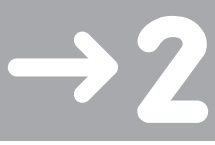
Normalment, s'empren colònies de molses (micelis) per fabricar la penicil·lina. Així doncs, s'utilitza un filtre rotatiu convencional per retirar el filtrat clar. A fi de tenir una suspensió filtrable, es fa la coagulació i floculació de la suspensió amb ions Ca i polielectròlits, que permeten obtenir un floc estable i més gran, de fàcil filtració. A continuació, la penicil·lina passa per un rentat fins a pH neutre. Fins aquí, aquestes operacions augmenten la matèria activa unes 100 vegades. Llavors, després de l'extracció, s'aplica un tractament amb carbó activat per tal de retirar impureses per adsorció. Per separar el carbó gastat, la solució de penicil·lina es prepara per a la precipitació en forma de sal sòdica o potàssica. Per ajudar a la formació de la sal insoluble, es dosifica acetona com a no-solvent i es renta amb un alcohol soluble en aigua, a fi de retirar-ne les impureses. Per raó dels diferents solvents utilitzats, l'economia del procés està determinada per la recuperació dels dissolvents.

Les últimes etapes del procés consisteixen a eliminar la humitat dels cristalls, primer mecànicament (centrifugació o filtració) i després per assecatge, mitjançant l'evaporació de l'aigua superficial amb aportació de calor.

Aquestes dues etapes finals són comunes a la majoria de processos; malgrat això, se n'hi poden incloure d'altres (p. ex., la liofilització).

1.5 Conclusions

A diferència de les operacions bàsiques de l'enginyeria de procés, les operacions de separació de la biotecnologia s'esglaonen a partir del fermentador. És cert que algunes operacions són comunes en ambdues tecnologies, però d'altres són específiques del camp de la biotecnologia i es dissenyen especialment per a cada cas en concret, com és el cas de l'adsorció, la cromatografia o la ultrafiltració.



Filtració

Aquest és el primer capítol que tracta de la separació sòlid-líquid. L'objectiu de la separació és recuperar el líquid filtrat o la biomassa, o tots dos. Molt sovint, el líquid conté el bioproducte volgut, però la biomassa també pot interessar. N'és un exemple la fermentació alcohòlica, en què es vol tant l'etanol com el llevat.

Les operacions de separació sòlid-líquid més importants en biotecnologia són la filtració i la sedimentació centrífuga. A part de la sedimentació per gravetat, la filtració de suspensions líquides s'aplica a la filtració de partícules sobre dos tipus de medis:

- Tela, paper, llit de partícules
- Membrana semipermeable

Aquests dos tipus de filtració tenen un fonament físic diferent, encara que totes dues estiguin induïdes per pressió mecànica. El primer tipus és l'operació de filtració convencional, amb flux de fluid perpendicular a la superfície del medi filtrant i retenció del sòlid en forma de *tortó*. En la filtració tangencial sobre membrana, el flux de filtrat es produeix també a través de la membrana, però la suspensió es fa fluir paral·lelament a la membrana. En ambdós casos, la força impulsora és la diferència de pressió entre un costat i l'altre del medi filtrant. En els filtres, el fluid es mou i les partícules formen un dipòsit porós. L'acumulació de material sòlid porós que es diposita sobre el medi filtrant que hem anomenat tortó. En la sedimentació centrífuga, les partícules es mouen en el sí del líquid, mogudes per una força de sedimentació creada externament.

La figura 2.1 il·lustra els dos processos de filtració. En aquest capítol, s'estudia la filtració convencional i, al capítol 10, els processos de filtració tangencial a través de membrana. La filtració normal es fa servir en les operacions inicials del bioprocés, quan interessa *separar grans volums de líquid* del fermentador, el qual conté petites quantitats de sòlids (del 2 al 4 %). En canvi, la filtració tangencial, sobre membrana, s'empra diverses vegades entre les operacions d'un mateix bioprocés, sobretot per fer el *canvi dels tampons* per a les diverses cromatografies. Aquesta operació s'anomena *ultrafiltració/diafiltració*. Vegeu l'exemple del procés de l'interferó que es presenta a la figura 10.2 del Capítol 10.

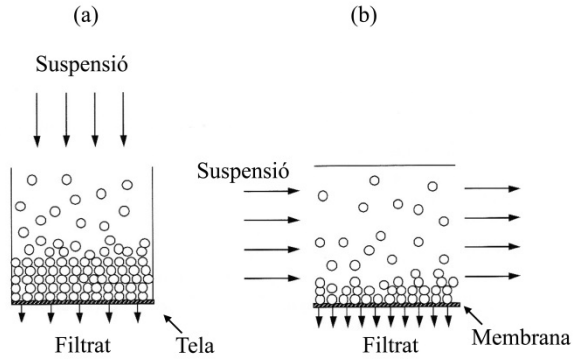


Fig. 2.1
Els dos tipus bàsics de filtració: *a*) filtració convencional a través de tela; *b*) filtració tangencial a través de membrana (v. cap 10)

En biotecnologia, la filtració és útil per separar partícules en suspensió, fonamentalment cèl·lules (animals, vegetals), deixant el bioproducte en el filtrat. S'utilitza en els processos de producció d'antibiòtics i en la filtració en condicions estèrils. Però també en la producció de biomassa (llevat de pa, *single cell protein*, etc.) com a producte.

En aquest capítol, tractem dels principis de la filtració mecànica convencional (v. fig. 12.1a). La teoria de la filtració comprèn els processos de filtració a:

- Pressió constant
- Cabal constant

Aquí només estudiarem el de pressió constant, que és el que interessa més en biotecnologia industrial.

Després d'una introducció general, veurem els medis filtrants i els aparells més importants en biotecnologia. Tot seguit, presentarem la teoria de la filtració i la caracterització experimental de laboratori de l'operació. Normalment, la filtració va seguida del rentat o l'esbandit del tortó, que estudiem a continuació. Després exposem els filtres rotatius, i com es dimensionen i com es fa el canvi d'escala. Els més comuns en biotecnologia són els filtres continus rotatius. Els filtres de premsa són menys utilitzats. Al capítol 10, s'estudia la filtració tangencial sobre membrana.

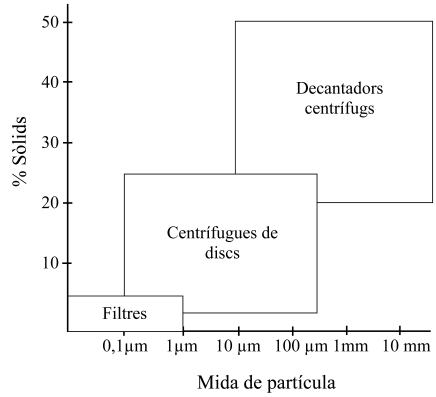


Fig. 2.2
Tipus d'aparells que s'utilitzen normalment per a la separació de sòlids i líquids. Ordenada: percentatge de sòlids (% de pes); abscissa: mida de les partícules. Els aparells d'aquest capítol s'empren per eliminar gran quantitat de líquid

A la taula 2.1, es resumeixen els aparells i els dispositius de filtració que s'empren per separar sòlids de fluids de forma general. En canvi, els separadors centrífugs permeten separar partícules més petites, d'una mida mínima d'1 μm. La centrifugació s'estudia al capítol 3. La figura 2.2 il·lustra els intervals aproximats de percentatges de sòlids i mides de partícula de filtres i centrífugues.

Taula 2.1 Aparells de filtració de partícules de l'aigua o l'aire

Aparell/dispositiu	**Interval de mides de partícula, micròmetres**
Membranes sintètiques	10^{-5}-10^{-4}
Ultracentrífuga	10^{-3}-1
Centrífuga	0,05-5
Col·lectors de tela	0,05-500
Panell de fibres o candeles	0,1-10.000
Filtres d'aire	2-50
Separadors centrífugs	1-1.000
Ciclons (alta eficàcia)	6-35
Filtre-premsa (tela)	10-50
Filtres de tela i fibres	20-10.000
Sedimentador per gravetat	45-10.000
Malles de tamisos	50-20.000

En alguns casos, s'utilitzen coadjuvants de filtració i formació de precapa per millorar-ne la velocitat, i floculants per augmentar la mida de partícula de la suspensió. A la taula 2.2, es descriuen els fluxos de filtració habituals segons si són fàcils o difícils. I, a la taula 2.3, es donen els valors d'alguns bioproductes i microorganismes relacionats amb els antibiòtics.

Taula 2.2 Classificació de la filtració segons el valor del flux (laboratori al buit)

Velocitat de filtració de líquid	Valor del flux, J
Ràpida	de 0,1 a 10 cm/s
Mitjana	de 0,1 a 10 cm/min
Lenta	de 0,1 a 10 cm/h

Taula 2.3 Velocitats de filtració[a] al buit típiques de bioproductes

Bioproducte	**Microorganisme**	**Flux de filtració normal, L/m² h**
Kanamicina	*S. kanamyceticus*	~ 0,7
Lincomicina	*S. lincolnensis*	2,6-3,8
Eritromicina	*S. eritreus*	2,9-5,7
Neomicina	*S. fradiae*	~ 1,1
Penicil·lina	--	12-16
Proteasa	*B. subtilis*	0,9-3,7

[*]Amb coadjuvant de filtració (precapa) i sobre filtre de fulles al buit

2.1 Factors que intervenen en la filtració

Hi ha tot un seguit de variables que afecten el procés de filtració i que cal tenir en compte a l'hora de seleccionar un filtre.

D'una banda, i com a variables del fluid i la suspensió, tenim:

- La concentració de sòlids en suspensió
- La mida de partícula dels sòlids
- La viscositat i la densitat del fluid, i la reologia
- El pH i la temperatura

Com a variables de disseny o per especificar, hem de considerar:

- L'àrea del filtre i la seva resistència
- El cabal que s'ha de tractar
- La caiguda de pressió que s'ha de vèncer
- La quantitat de sòlids que queden retinguts al filtre constituint el tortó
- La humitat final del tortó
- El temps de rentat després de formar el tortó

A continuació, s'expliquen els tipus d'aparells que es poden emprar per dur a terme la filtració, ja sigui convencional o bé per efectuar bioseparacions.

2.1.1 Medis filtrants i filtres industrials

Taula 2.4
Medis filtrants (s'hi inclouen membranes)

Tipus	Exemples	Mida de la partícula capturada, micròmetres
1. Fabricació de sòlids	Tubs de malla	5
2. Medi porós rígid	Ceràmica, metall sinteritzat	1 3
3. Metall	Plaques perforades, malla teixida	100 5
4. Plàstics porosos	Fulls, plaques, membranes	3 0,005
5. Teixit	Natural, sintètic, teixit de fibra	10
6. Teixit no-teixit	Feltre, paper, cel·lulosa	10 5
7. Cartutxos	Fibres especials	2
8. Sòlids solts	Fibres, asbest, cel·lulosa	Submicra

Font: quadre basat en Sinnott (1993)

Al laboratori, es fan servir normalment paper de filtre, Büchners o plaques de vidre porós per a les feines de filtració habituals. Tanmateix, es recomana tenir en compte les possibilitats industrials quan es desenvolupen les dades de selecció d'un filtre. La taula 2.4 resumeix els medis filtrants habituals en funció de la mida mínima de partícula retinguda. Avui dia, les teles de filtre són de teixit de polipropilè, amb diferent gramatge i porositat. Per sota de les 2 μm, es recomana pensar en un filtre de precapa amb coadjuvants de filtració (v. Perry). O bé cal pensar en un pretractament tèrmic o amb floculants. (Vegeu el capítol dedicat a la precipitació per al tema de la floculació.)

Pel que fa als filtres industrials, descriurem solament els més interessants en biotecnologia. Se'n pot trobar una descripció força completa a Coulson-Richardson (2003). Els principals tipus de filtres industrials són els següents:

Filtre Nutsche. És un filtre per càrregues simple. Consisteix en un tanc amb la base perforada que suporta el medi filtrant.

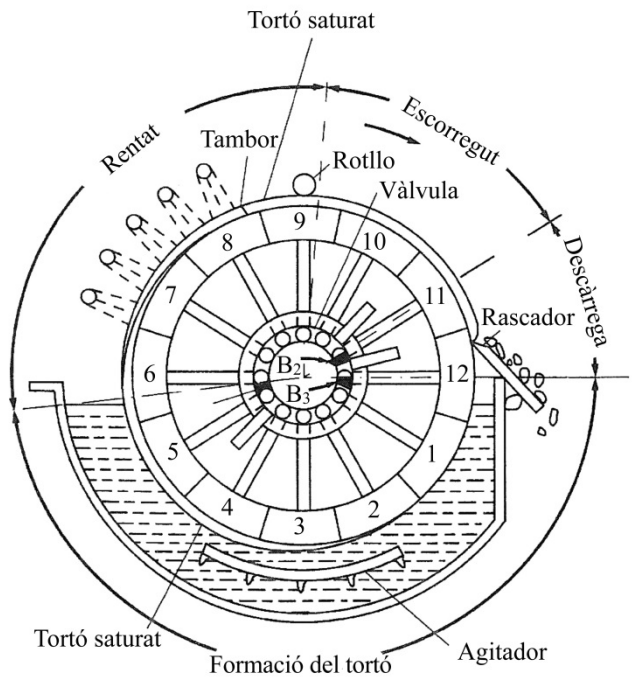


Fig. 2.3
Esquema d'un filtre rotatiu continu al buit (v. sentit de rotació). La tela filtrant està muntada sobre el tambor giratori i el buit es fa des del centre de l'aparell quan el tambor està submergit. La seqüència d'operacions és: formació del tortó (de 12 a 6), rentat del tortó (de 6 a 9), bufat (de 9 a 11) i descàrrega (12). La fracció submergida equival al 30-40 % de la superfície total de la tela

Filtre rotatiu al buit. És el tipus més corrent i econòmic de filtre continu (v. fig. 2.3). Essencialment, és un tambor giratori sobre el qual reposa la tela i que està suspès durant 1/3 del cicle per a la suspensió, i el filtrat és aspirat a través del medi gràcies al buit practicat des de dins del cilindre. Continua rodant i el tortó format s'esbandeix amb el rentat i és bufat per eliminar part de la humitat. Les pressions habituals són de fins a 0,9 bar (a). Per retirar el tortó de la màquina, s'empren ganivetes, jets d'aire o filferros, que fan desprendre el tortó escorregut. La freqüència de rotació és petita, de 5 rpm com a màxim. Admet grans produccions, de fins a 2.500 kg/m^{2}h. A la figura 2.4,

es mostra el diagrama de procés d'instal·lació d'un filtre al sistema de buit de la planta, a través d'un condensador baromètric.

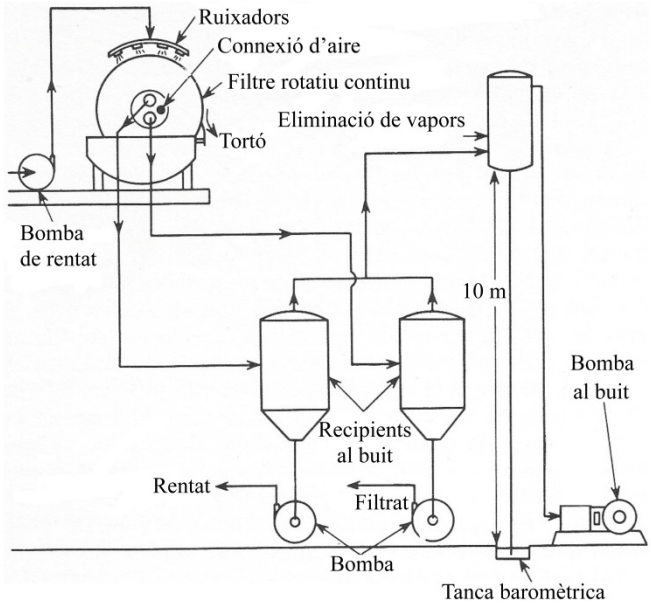


Fig. 2.4
Diagrama de flux del sistema de buit d'un filtre rotatiu (a dalt, a l'esquerra). El sistema de buit inclou: la captura dels vapors (condensador baromètric), la bomba de buit de la planta (a baix, a la dreta) i la columna de 10 m d'altura, que té la tanca baromètrica a nivell de terra, de la qual sobreïxen els vapors condensats. Font: diagrama adaptat de McCabe-Smith (1968)

Filtre de banda al buit. Una variant del filtre de buit continu és el filtre de banda. Essencialment, és com un filtre rotatiu estirat amb una tela sense fi, com en una màquina de paper. Es construeix entre 1,5 m^2 i 84 m^2 de superfície filtrant i, per tant, admet altes produccions. Les unitats de Pannevis-Larox s'empren per a la filtració de llevat, biomassa i biolignina. El seu manteniment és millor que el dels filtres rotatoris convencionals, gràcies al moviment de les caixes de buit i a una mecànica millorada.

Filtre de premsa. És un filtre de pressió, que pot operar fins a uns quants bars. És el tipus més antic de filtre industrial i opera per càrregues. Consisteix en un conjunt de fins a 20 o 30 filtres plans, alimentats en paral·lel. És molt versàtil i es fabrica des de plats-marcs de 10×10 cm fins a plats d'1×1 m o més. Permet treballar amb suspensions de gran resistència i viscositat alta. Actualment, es fan màquines de gran precisió i automatització. Pot abastar un rang de partícules molt gran. Treballa a pressions de 2 a 4 bar, i amb fluxos de 0,5 a 10 m^3/m^2h, segons les característiques del tortó (v. fig. 2.5 i 2.6).

Per a unitats de planta pilot, no cal fer servir condensador al baromètric. En aquests casos, n'hi ha prou a utilitzar una bomba de buit d'anella líquida, acoblada directament als col·lectors de buit del filtre, sempre que operem amb vapors a baixa temperatura. El líquid fred del de la bomba serveix per condensar els vapors.

Un aspecte important dels filtres és el percentatge de sòlids en el tortó que hi ha al final de la filtració. Industrialment, és més econòmic retirar mecànicament la humitat en un

filtre o una centrífuga amb un escorregut vigorós, que retirar la humitat per assecatge, que és un procés més car. En els filtres al buit continus, els percentatges de sòlids no superen el 40-50 %. Aquest és un factor important a l'hora de calcular l'economia d'un filtre.

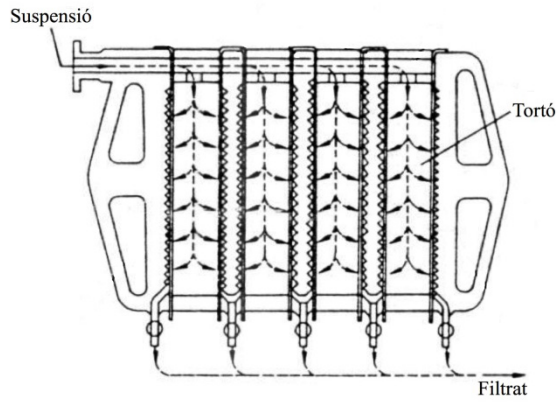


Fig. 2.5
Filtre premsa. Consisteix en un conjunt de filtres que s´alimenten en paral.lel. Quan l´espai entre plaques filtrants està plè, els marcs/plats s´obren automàticament, i s´expulsen els tortons formats. Les plaques i marcs poden fer des de 50x50cm fins 2x2m. La suspensió es comprimeix amb bomba a 4-6 bar.

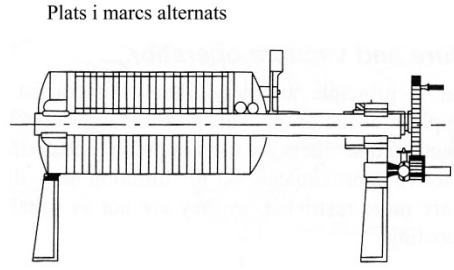


Fig. 2.6
Vista exterior d´un filtre premsa, amb tanca manual dels marcs i plats muntats sobre un bastidor.

2.2 Teoria de la filtració

Anomenarem *flux de filtració* el volum de líquid clar produït per unitat de temps i per unitat d'àrea de filtre. El designem per J i representa la velocitat superficial del líquid en el filtre:

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

J s'expressa en m^3/m^2s (= m/s).

En condicions laminars, el cabal de líquid és directament proporcional a l'àrea filtrant i la caiguda de pressió, i inversament proporcional al gruix del filtre L i a la viscositat del fluid. Aquesta és l'anomenada llei de Darcy. És a dir:

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

vàlida per a condicions laminars. Tenint en compte que J = u,

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

El nombre de Reynolds a través d'un llit fix de partícules cal que sigui laminar, en aquest cas:

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

on d_p= diàmetre de les partícules, en m; u = J = velocitat superficial, en m/s. Aquesta condició es compleix en les bioseparacions, que molt sovint tenen viscositat superior a l'aigua (fins a 40 cP, aigua = 1 cP). Diversos investigadors han demostrat que, en els llits fixos, quan Re_p >100, comença la turbulència, que es detecta per la separació de la capa límit darrere de les partícules.

Durant la filtració, les partícules rígides es dipositen sobre el medi filtrant i formen un tortó porós. El gruix del tortó va augmentant, al mateix temps que es formen canals o capil·lars entre els sòlids pels quals el filtrat flueix en règim laminar. Com que la quantitat de sòlid va augmentant, el cabal de líquid filtrat a pressió constant disminueix. L'equació que relaciona el flux de filtració a través d'un llit porós de sòlids amb la caiguda de pressió es:

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

on u = velocitat superficial del líquid, en m/s; (-Δp) caiguda de pressió en el filtre, en Pa; μ = viscositat del fluid, en Pa·s; L = gruix de tortó, en m. La constant k és la constant de Darcy expressada en m^2, que s'anomena *permeabilitat*. La resistència total és la combinació de la del medi filtrant i la del tortó, ja que són resistències en sèrie:

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

on R_m és la resistència de la tela i R_c, la resistència del propi tortó, en m^{-1}. La primera és fixa i depèn de si la tela és més o menys atapeïda, mentre que la segona és variable i augmenta amb el temps de filtració, a mesura que s'hi van dipositant partícules i el tortó augmenta de gruix. Combinant les equacions anteriors, la llei de Darcy es pot expressar com:

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

A continuació, es dedueixen les equacions de la teoria de la filtració, tant per a tortons incompressibles com compressibles. I, tot seguit, aquestes equacions s'apliquen a un filtre de buit rotatiu, que, com ja s'ha comentat a l'apartat anterior, s'empra per a bioseparacions a escala industrial.

2.3. Filtració a pressió constant. Tortó incompressible

Si el tortó que es forma durant la filtració és incompressible, el seu gruix és directament proporcional al volum del líquid filtrat i inversament proporcional a l'àrea del filtre. Per tant, en aquest cas, la resistència del tortó es pot expressar com:

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

on α = resistència específica del tortó, en m/kg; C = massa de sòlid dipositat per unitat del volum de filtrat, en kg/m^3 (= concentració de sòlids a la suspensió per unitat de volum de líquid filtrat), i CV = sòlids dipositats sobre el filtre quan ha passat un volum de filtrat V, en kg. Així, doncs, R_c s'expressa en m^{-1}.

Si substituïm les equacions anteriors a l'equació bàsica per a la filtració (eq. 2.7), tenim:

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

Invertint aquesta equació, separant variables i integrant amb -Δp = constant, si V(0) = 0, s'obté:

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

Les equacions (2.9) i (2.10) són les equacions fonamentals de la filtració. L'equació 2.10 relaciona el volum de filtrat V, durant un temps t, mantenint constant la caiguda de pressió en el filtre, en funció de la resistència combinada del filtre (medi + tortó). L'altura del tortó format, h(t), està relacionada amb els valors de V i t, a través de l'equació de R_c (eq. 2.8). Així, doncs:

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

on la densitat del tortó es pot calcular a partir de:

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

Alguns autors introdueixen els paràmetres a i b, definits com:

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

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

El paràmetre *a* està relacionat amb la resistència del tortó, R_c, i el paràmetre *b* està relacionat amb la resistència del medi, R_m. Amb aquests paràmetres, l'equació diferencial de la filtració (eq. 2.10) passa a ser:

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

que es pot integrar entre t = 0, i V = 0, i t = t, i V. D'on el volum de filtrat al cap d'un temps, t, val:

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

Inversament, el temps t en funció del volum filtrat V es pot expressar com:

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

Conseqüències pràctiques:

1. La primera i més important és que, si disposem de dades experimentals de volum filtrat V en funció del temps, t, a pressió constant, i α = constant, es poden caracteritzar els paràmetres del filtre, α i R_m. L'equació 2.10 suggereix que la regressió de dades de t/V enfront de V, obtingudes a (-Δp) constant, és una recta. El pendent de la recta és funció de la caiguda de pressió i també de les propietats del tortó. En canvi, l'ordenada a l'origen és independent de les propietats del tortó, però és proporcional a la resistència del medi filtrant. Fent diferents proves de filtració en un filtre, a buits constants diferents, s'obtenen línies rectes diferents (v. exemple 2.1). En resum, per al gràfic de t/V *vs*. V el pendent és:

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

   i l' ordenada a l'origen:

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

2. Sovint, la resistència deguda a la tela és negligible; llavors, l'equació es pot simplificar fent $R_m = 0$, i b/a = 0. Aleshores:

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

Per tant, el temps de filtració és proporcional al quadrat del volum filtrat. I, inversament, V és proporcional a $\sqrt{t}$

Les equacions bàsiques per al dimensionament de filtres d'acord amb la teoria de la filtració, amb a = constant, seran les següents. Per a tortons incompressibles, podem estimar el valor de *a* de les dades de filtració, com es veu a l'exemple 2.1. Si no tenim

dades experimentals, podem estimar *a* a partir de l'equació de Kozeny-Carman per a *partícules rígides iguals*, amb l'expressió teòrica (McCabe *et al*., 1993) següent:

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

corresponent a fluxos de fluids en règim laminar en llits de partícules d'àrea específica a_p, amb una porositat del llit ε i una densitat de la partícula ρ_p.

Per a la compressibilitat de llits de microorganismes, α, pot variar ampliament amb (-Δp). La majoria dels microorganismes d'interès donen valors de α variables. Vegeu la gràfica de la fig 2.7 en que es dóna α en funció del diàmetre de partícula de d_p (vegeu Exemple 2.2). Encara que les dades de la gràfica no son molt extenses, son útils per a un càlcul inicial d´un filtre. El diàmetre de la fig 2.7, es

$$d_p = \frac{6V_p}{A_0} \tag{2.21}$$

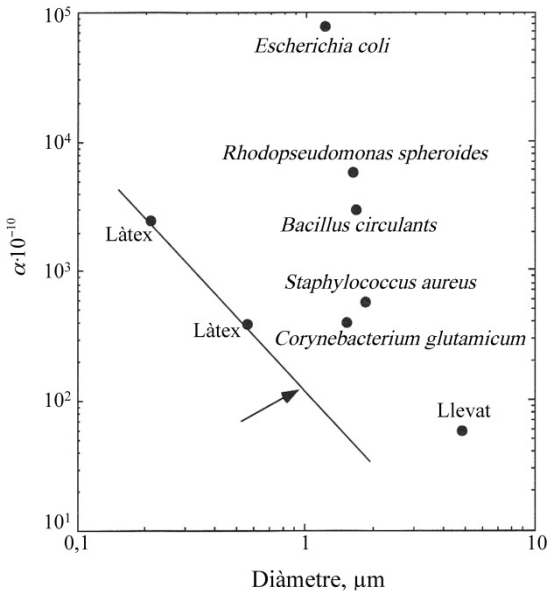


Fig 2.7
Valors de la resistència específica, α, per a tortons de diversos microorganismes corrents en les fermentacions, de mides de 1 a 5 μm de diàmetre. La línia recta de l´esquerra del gràfic correspon a l´eq de Kozeny-Carman per a esferes incompressibles. Les unitats de α, son m/kg (Kato; Yoshifa, 2013.

Als exemples que segueixen s'il·lustra la teoria de la filtració.

Exemple 2.1. Paràmetres d'un filtre.

Un dels filtres continus que s'utilitzen més en biotecnologia és el filtre rotatori. Per obtenir dades de selecció d'un filtre industrial, es poden fer servir les dades d'un embut Büchner. En aquest cas, fem servir una tela circular de 20 cm de diàmetre. La caiguda de pressió a través del tortó és de -Δp = 0,7 bar, per connexió a una bomba de buit a pressió constant. Per a un problema de filtració d'una suspensió de *Streptomyces*, tenim una densitat de 1.050 kg/m^3, viscositat de 32 mPa·s, i una concentració de biomassa

(partícules) de 30 kg/m^3. En una prova amb l'embut de laboratori, s'obtenen les lectures de filtrat següents (en cm^3), en funció del temps (s):

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. Representeu les dades de t/V en funció de V, essent V volums de filtrat.

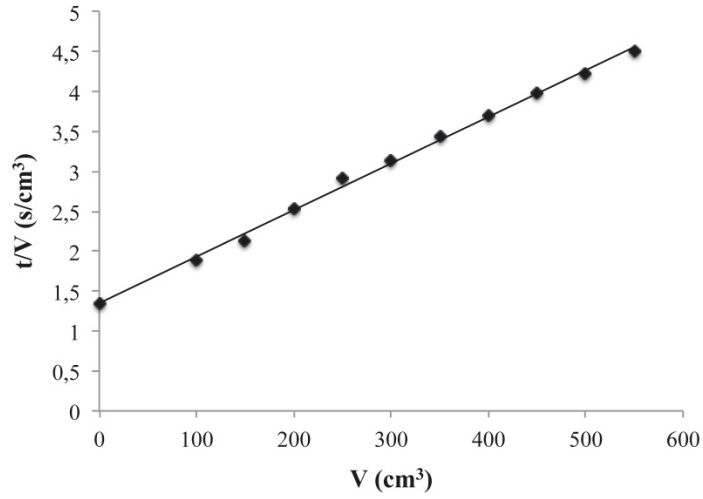
2. Per al filtre Büchner, determineu la resistència específica del tortó, α (en m/kg), i la resistència del medi filtrant R_m (en m^{-1}).

1) L'equació de filtració integrada és la 2.10. Fent la representació de t/V *vs*. V, obtenim el gràfic de la figura de l'exemple 2.1, que dóna:

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

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

Figura Exemple 2.1. Regressió de les dades de t/V vs V, d´on es llegeix el pendent i la ordenada a l´origen de la recta.



2) Els valors del filtre de laboratori són: -Δp= 0,7×10^5 Pa, A= 314 cm^2 (= 314×10^{-4}m^2), C = 30 kg/m^3, d'on els valors de α i R_m, expressats en unitats SI, seran:

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

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

Exemple 2.2. Estimació aproximada del temps de filtrat.

Per a un filtre per a una suspensió de microorganismes ben caracteritzats, es pot calcular *a priori* el temps de filtració sobre el filtre si admetem que α es pot avaluar de la figura 2.9, i el valor de R_m s'estima a partir del seu ordre de magnitud, que és 10^{11} m^{-1}. Així, doncs, per a llevat de pa (*Saccharomyces cerevisiae*), 500 L de suspensió, amb una concentració de 10 kg/m^3 (viscositat = 1 cP), es vol filtrar a una caiguda de pressió de (-Δp) = 1 bar. Disposem d'un filtre de A = 1 m^2 de superfície total. De la fig. 2.9, per a llevat, $\alpha = 7,5\times10^{11}\, m/kg$

1. Calculeu la corba de filtració prevista, V(t).

2. Segons els criteris de la taula 2.2, com qualificaríeu la dificultat de la filtració?

1) Les dades són A = 1 m^2, μ = 10^{-3} mPa·s, (-Δp) = 10^5 Pa. Utilitzarem l'equació bàsica de la filtració (eq. 2.10):

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

i calcularem t:

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

d'on:

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

per a V = 0,5 m^3, t = 11.250 s = 3,02 h. Podem representar la gràfica V(t) de l'equació anterior. Vegeu fig Exemple 2.2

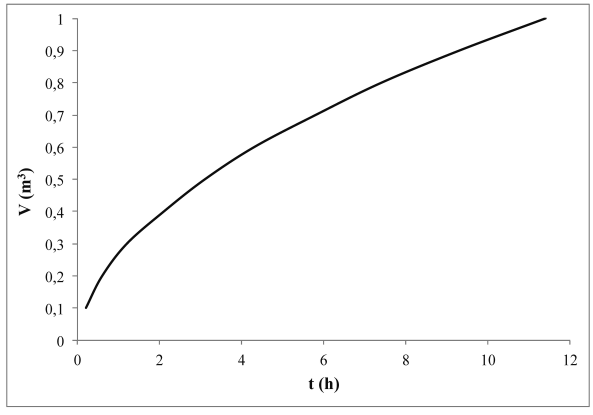


Figura 2.7. Estimació de la corba de filtració a pressió constant, per a 1 m^3 de brou.

2) El flux total mitjà serà:

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

que és una velocitat de filtració *mitjana*.

2.3.1 Tortó incompressible i compressible: dades de compressibilitat

La majoria de microorganismes son compressibles. Així doncs per a poder aplicar les equacions vistes fins ara, s´ha de corregir la compressibilitat, α. Per tal d'estimar els efectes de compressió, es suposa que la resistència del tortó, α, és funció de la caiguda de pressió, ja que al augmentar la pressió augmenta la resistència específica. Una de les expressions acceptades és la seguent:

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

On, S és el factor de compressibilitat del tortó que depèn de la mida i forma de les partícules. En la pràctica, S acostuma a variar entre 0,1 i 0,8. Si la compressibilitat del tortó fos elevada, s'hauria de considerar fer un pre-tractament de l'alimentació.

Els valors de S i α poden determinar-se representant el logaritme d'α enfront del logaritme de Δp, com es mostra a la figs 2.8. i 2.9. Les dades de la fig anterior, serveixen per a determinar S, per a un ampli interval de pressions (vegeu McCabe-Smith, 1968).

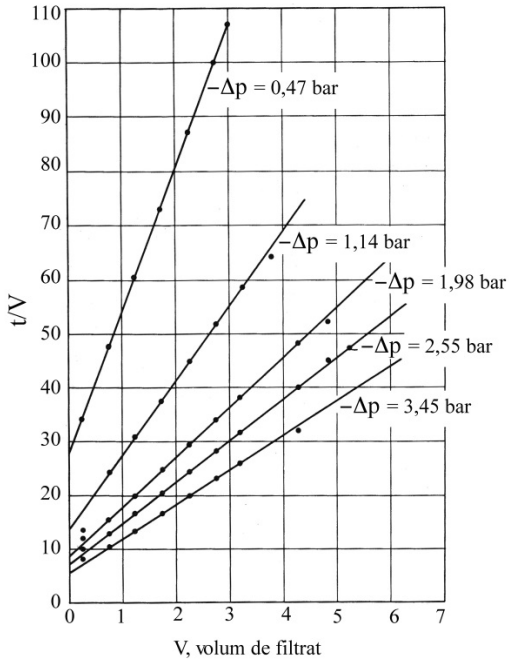


Fig 2.8 Regressions de t/V, temps/volum filtrat, vs volum de filtrat, per a un filtre operant a diverses caigudes de pressió, amb tortó compressible. Cada recta correspon a una (-Δp) = const. Al llarg de cada recta el valor de α és constant. Així doncs, la dependència de α vs (-Δp) és pot obtenir del pendent de cada recta. Vegeu text.

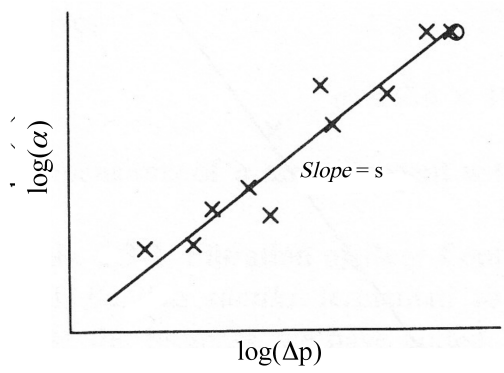


Fig. 2.9
Correlació logarítmica de a *vs.* (-Δp) per a tortons compressibles. En funció de (-Δp), A s'obté de la regressió de la figura 2.8 i és del tipus $\alpha = \alpha_0 (-\Delta p)^S$. La majoria dels tortons de microorganismes són compressibles (v. Fig. 2.9). S = 0,1 a 0,9

2.3.2 Millora de la velocitat de filtració

De la teoria de la filtració es desprenen algunes possibilitats per augmentar la velocitat de filtració per al cas de les suspensions de microorganismes:

1. Augmentar l'àrea del filtre.
2. Augmentar la caiguda de pressió, -Δp.
3. Reduir el gruix del tortó.
4. Reduir la viscositat del filtrat.
5. Reduir la resistència específica, α.
6. Augmentar la porositat del tortó.
7. Reduir la superfície específica de les partícules, $a_p = S_p/V_p$.
8. Augmentar la temperatura.

A l'exemple que es dóna ara, es mostra quantitativament un d'aquests efectes.

Exemple 2.3 Tortó compressible. Filtració en un embut Büchner d'un brou de micel·lis: efecte de Δp.

Una mostra de 30 cm^3 de brou es filtra al buit (caiguda de pressió = 0,33 bar) en un filtre de 3 cm^2 de superfície filtrant. El temps de filtració és de 4,5 min. Estudis previs mostren que el tortó de *Penicillium chrysogenum* és compressible amb un factor $\alpha = \alpha_0 (-\Delta p)^{0,5}$.

Hem d'especificar un filtre al buit per a una fermentació semiindustrial. Disposem d'una hora de temps de filtració, per a un volum de 500 L.

Seleccioneu un filtre si la caiguda de pressió de treball val: *a*) 0,33 bar, *b*) 0,67 bar

NOTA: Negligiu la resistència deguda a la tela.

a) Dades: t = 4,5 min; V = 30 cm^3; S = 0,5; -Δp = 0,33 bar; A = 3 cm^2. L'equació bàsica de la filtració és l'equació 2.10, que escriurem negligint la resistència de la tela, $R_m = 0$:

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

Observeu que, tant en petita escala (laboratori) com en gran, el factor $\mu C\alpha_0$ és constant. Per tant, podem escriure la condició següent com a invariant.

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

Per al filtre de laboratori (anomenat 1), tardem 4,5 min a filtrar 30 cm^3. I, per al filtre gran (2), imposem que el temps sigui de 60 min. Així, doncs, igualant la constant anterior per als dos filtres:

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

d'on l'àrea del filtre gran serà $A_2 = 1,37\ m^2$ (a 0,33 bar).

b) Per a -Δp = 0,67 bar del filtre gran, haurem de fer:

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

d'on $A_2 = 1,16\ m^2$ (a 0,67 bar); és a dir, hi ha una reducció d'àrea de sols el 15 % duplicant la pressió.

2.4 Selecció de filtres continus a pressió constant: Càlcul del cabal mitjà

En un filtre rotatori, l'alimentació, el filtrat i el tortó flueixen a velocitat constant. Tanmateix, les condicions d'un element de superfície filtrant no són estacionàries, de manera que la formació del tortó i el filtrat estan en estat transitori. En canvi, sí que és constant la caiguda de pressió a través del filtre. Per tant, farem servir l'equació 2.9 o la 2.10 per caracteritzar el primer dels processos en sèrie que transcorren en el filtre.

En biotecnologia, els filtres rotatoris continus s'utilitzen àmpliament, sobretot en la fabricació d'antibiòtics (v. taula 2.3). En aquests filtres, s'esdevenen les diferents eta-

pes en sèrie: 1) formació del tortó, 2) rentat/esbandit del tortó, 3) bufat/aspirat del trotó, 4) expulsió del sòlid. Molt sovint disposem a la planta d'un o dos filtres multipropòsit i hem de valorar la capacitat que tenen per a una fabricació determinada. Per tant, hem de fer estimacions de la seva capacitat d'acord amb unes condicions de sòlids, viscositat i temps disponible per a l'operació.

Prenent com a base l'equació 2.9 i negligint la resistència del tortó, R_m, tenim:

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

Integrant aquesta equació entre t = 0 i V = 0, i t = t i V = V, durant l'etapa de formació del tortó dóna:

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

I, inversament:

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

És important observar que, en aquestes equacions, el temps t és el que es dedica a la formació del tortó, és a dir, t és una fracció del temps de rotació del tambor i A és la fracció d'àrea de tambor submergida (v. fig. 2.3), i d'acord amb les equacions anteriors hem d'admetre que, si f és la fracció efectiva, tindrem:

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

on A_T és l'àrea total; N és la freqüència de gir del tambor, i t_c és el temps d'una rotació del tambor. Normalment, la velocitat de rotació d'un filtre és petita, de 2 a 4 rpm. Fent servir t_c a l'equació eq.(2.25), tindrem:

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

on A = f A_T és l'àrea submergida i t_c és el temps de cicle. Quan es tracta de llits compressibles:

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

Aquestes dues equacions *ens donen el cabal mitjà de filtrat per unitat d'àrea*, per a tortons no- compressibles i compressibles, respectivament. Ambdues expressions serveixen per a filtres de buit i filtres de pressió. Observeu que el flux de filtrat mitjà és inversament proporcional a l'arrel quadrada de la viscositat i del temps de cicle. Les equacions anteriors permeten calcular l'àrea necessària d'un filtre en un procés (v. exemple 2.3).

2.5 Càlcul del rentat

Un cop el tortó s'ha format, aquest conté una quantitat de solvent i solut que pot resultar de valor. Aquest es pot desplaçar rentant el tortó. Aquest rentat té dos objectius: en primer lloc, desplaçar el solut present en els porus i, posteriorment, permetre la difusió del solut cap enfora del tortó.

És clar que el rentat s'ha de fer amb més volum d'aigua que el volum de líquid retingut al tortó si es vol recuperar. Això és degut al fet que el producte acumulat a les zones de retenció i la seva transferència a l'aigua de rentat té lloc per difusió. Aquesta difusió és més lenta que el flux convectiu de rentat; per tant, caldrà considerar dos factors: 1) volum de rentat i 2) temps.

2.5.1 Volum de rentat.

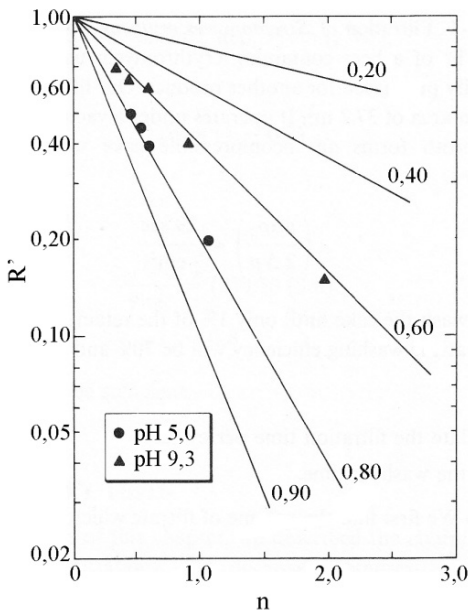


Fig. 2.10 Eficàcia de rentat d'un filtre convencional a (-Δp) = constant. Aquesta representació és la prova experimental de l'equació empírica de rentat donada al text. R´ és la fracció de solut que queda i n és la relació V_w/V_t. Font: figura adaptada de Belter *et al.* (1988)

Choudhury i Dahlstrom (Harrison, 2003) van introduir i comprovar l'equació empírica següent, per al rentat de tortons de filtres:

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

on R' és la fracció en pes de solut que roman en el tortó després de rentar (R' = 1, abans de rentar; R' = 0, rentat perfecte), o sigui:

$$R' = \frac{Solut\ retingut}{Solut\ inicial} \tag{2.30}$$

on E és l'eficàcia del rentat. Els límits de E segons els autors són de 0,35 i 0,86 (0,35 rentat ràpid i 0,86 rentat poc a poc). La figura 2.11 mostra el valor de R enfront de n, que es defineix com:

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

on V_w és el volum d'aigua de rentat i V_r és el volum de líquid retingut al tortó. A la figura 2.10, es mostra el rentat d'un brou que conté antibiòtic (lincomicina) a dos pH diferents, sobre un gràfic semilogarítmic, a les eficàcies de rentat E, amb constants entre 0,9 i 0,2. Els punts de la figura 2.11 validarien l'expressió empírica.

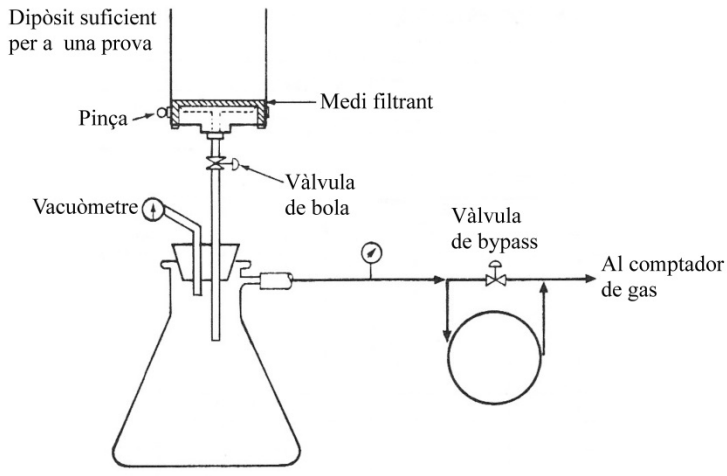


Fig 2.11
Muntatge d´un Büchner per al disseny d´un filtre rotatori.

A cada filtrada, tractem un volum de suspensió igual al del volum del contenidor superior, que té instal·lada la tela filtrant. La bomba de buit es representa a baix a la dreta. El buit es mesura amb un vacuòmetre. També es pot mesurar el cabal d´aire amb un comptador de gas (a la dreta). La vàlvula prop de la bomba serveix per regular el buit. Els temps per a filtrar una copa superior és igual al temps que triga la tela submergida a la suspensió (v. Fig 2.3). Per a extrapolar els resultats a un filtre gran, cal només ampliar l´àrea. Vegeu exemple 2.5

2.5.2 Temps de rentat

Considereu un tortó no compressible. Volem calcular ara el temps i el volum de rentat. L'aigua no conté sòlids nous. Se suposa que el cabal de rentat el fem igual que el cabal del final de la filtració, a temps t_f. És a dir:

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

Dividint per A ambdós costats, i utilitzant l'equació del flux amb $R_m = 0$, es tindrà:

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

Substituint R_c de l'equació 2.8 a l'equació anterior, tindrem:

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

Al final del temps t_f, V_f val:

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

Inserint V_f/A d'aquesta equació a l'anterior equació 2.34, i dividint-les, tindrem:

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

on V_r és el volum de líquid retingut pel tortó; F és la relació entre V_r i V_f, i n és definida per l'equació 2.31. Aquesta equació es pot utilitzar fàcilment amb l'equació que dóna R' i el gràfic corresponent. Vegeu l'exemple següent.

Exemple 2.4. Temps de filtració i de rentat en un filtre rotatiu.

Volem fer una estimació ràpida d'un filtre per a un brou que filtrarà 15.000 L/h d'eritromicina. A la planta, tenim un filtre de 37 m^2 (àrea de tela submergida). Un cicle del tambor triga 50 s. El sistema de buit de la planta (semblant al de la figura 2.4) pot treballar bé a 500 mmHg de pressió absoluta. El microorganisme és l'*Streptomyces erythreus*, que hem de separar del líquid del brou. Segons dades de laboratori, el valor usual del paràmetre que s'indica és de 30 s/cm^2, calculat a partir de tortons no compressibles semblants, és a dir:

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

Suposant que la fracció d'àrea submergida és generalment d'1/3 del tambor, calculeu:

a) El temps de filtració, t_f, en el filtre de planta.

b) El temps de rentat per a un residu de l'1 %, si l'eficàcia és de E = 0,7.

a) Temps de filtració. Fem servir l'equació 2.10, amb $R_m = 0$. Tindrem:

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

L'àrea útil és A = 37 m^2 i el volum filtrat per cicle = 15.000 L/h (1/3.600)50 s = 208 L.

Tenim:

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

d'on el temps de filtració per filtrar V = 208 L valdrà:

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

aproximadament el 20 % del cicle en aspiració.

b) Temps de rentat. La recuperació es fixa en un 99 %. R' = 0,01 i E = 0,7, d'on, aplicant l'equació 2.29:

$$R' = (1-E)^n$$

$$0,01 = (1-0,7)^n$$

$$n = \frac{\log 0,01}{\log 0,3} = 3,82$$

aplicarem l'equació 2.36, amb un valor de $F = V_r/V_f = 0,1$

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

Per tant, el temps de rentat serà $t_w = 0,8 \times 9,5 = 7,6$ s.

2.6 Càlcul d'un filtre industrial a partir de dades de laboratori

La instal·lació d'un filtre Büchner de la figura 2.11 és la que farem servir al laboratori per treure les dades del flux de filtració que utilitzarem en els càlculs de canvi d'escala. L'exemple 2.1 indica com podem obtenir els paràmetres α i R_m d'un filtre al buit, per bé que, a la pràctica, un filtre no es dissenya amb aquests paràmetres, sinó que s'utilitzen directament les dades del filtre de laboratori, extrapolant-les a flux constant.

Hem de disposar d'un mètode per fer les mesures experimentals següents: el volum de filtrat, el temps, la pressió del filtre i la temperatura del filtrat. A part, necessitem saber C, la concentració de les partícules en la suspensió. Els fluxos obtinguts en funció del temps, a buit constant*, sobre una àrea reduïda, són els mateixos que es produiran en el filtre industrial, sobre una àrea més gran amb el mateix buit.* Així, doncs, el mètode d'extrapolació és senzill. Per al filtre gran, només caldrà augmentar l'àrea del filtre, ja que la seqüència de formació del trotó, l'aspirat, la velocitat, el gruix, etc., es mantindran constants.

Així doncs, els factors que cal mantenir constants a la planta i al laboratori són:

– La mateixa alimentació
– El mateix medi filtrant
– La mateixa caiguda de pressió
– El mateix temps de filtració
– La mateixa temperatura
– Els mateixos microorganismes i la seva concentració

En aquestes condicions, podrem calcular l'àrea necessària del filtre gran per fer la feina que volem. Vegeu el càlcul de l'exemple següent.

Exemple 2.5. Avaluació d'un filtre industrial a partir de les dades de laboratori.

Necessitem saber si un filtre rotatori podrà filtrar una suspensió de *Saccharomyces* d'una fermentació. El filtrat és de 50 m^3 (per a cada càrrega de fermentador). El filtre industrial de la planta té una longitud de L = 4 m i un diàmetre de D = 2 m. La caiguda de pressió és de 0,5 bar. L'àrea submergida correspon a un angle de 120º (fracció f = 0,34) i l'àrea total de la tela és de 25,1 m^2. La freqüència de gir del tambor és de N = 2 rpm.

Les proves de laboratori en un Büchner es fan en les condicions següents: tela circular de 10 cm de diàmetre (igual que el filtre industrial), (-Δp) = 0,5 bar; les dades de volum filtrat *vs*. temps són les següents:

Temps, s	7	10	19	36	58	86	119
Volum, cm^3	40	50	80	120	160	200	240

a. Per al filtre industrial, calculeu el temps de filtració de què disposarem per tenir un flux de filtració igual al del Büchner.

b. Calculeu l'àrea útil per a la filtració i el temps necessari per a filtrar 50 m^3 de líquid del fermentador.

a) La freqüència de rotació del filtre és de N = 2 rpm i la fracció d'àrea filtrant val f = 0,34. El temps que triga a formar-se el tortó i filtrar va des de que se submergeix el tambor a la suspensió fins que en surt. A la figura 2.3 es veu el filtre que gira en el sentit de les agulles del rellotge. Es veu que l'angle aproximat és de 120º, des del punt 12 fins al punt 3 del tambor, i el temps de filtració t_f disponible serà:

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

i l'àrea filtrant val = 0,34 × 25,1 m^2 = 8,53 m^2. El filtre, doncs, ha de treballar aspirant durant 10 s, a través d'una àrea de tela de 8,53 m^2. Aquestes condicions corresponen,

aproximadament, al segon punt de la taula de valors de Büchner i, per tant, hi podem admetre el mateix flux.

b) Anomenem l'aparell de laboratori amb el subíndex 1, i el filtre gran, 2. Les dades del laboratori són:

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

i el flux val:

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

Imposem $J_1 = J_2$. El cabal que el filtre gran ha de filtrar serà, doncs:

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

L'àrea útil del filtre val 8,53 m^2 i el temps de l'operació per obtenir un filtrat de 50m^3 serà:

$$temps = \frac{50}{19,4} = 2,57 h$$

Per tant, hem de comptar que, amb el filtre disponible a la planta, esmercem 2,6 hores per filtrar el fermentador.

Aquesta filtració té una velocitat de 0,063 cm/s = 3,6 cm/min < 10 cm/min. Es tracta, doncs, d'una filtració de dificultat *mitjana*.

NOTA: Les dades del filtre (R_m i α) obtingudes de la regressió de t/V *vs*. V de la taula anterior permeten aplicar l'equació de la filtració i obtenir el mateix flux que el que s'ha calculat aquí.

2.7 Consideracions finals i recomanacions

En aquest capítol, hem estudiat la filtració convencional a pressió constant, que és el cas més corrent en el tractament de suspensions en biotecnologia. La filtració és el procés inicial més comú per separar cèl·lules del brou de fermentació. L'operació de filtració és de les més conegudes en enginyeria de procés (v. Perry, Coulson-Richardson) i permet fer un càlcul acurat d'un filtre, ja sigui per extrapolació directa o bé a través dels paràmetres del filtre, amb tortons compressibles. El filtre més capaç és el filtre rotatiu o filtre de banda, que treballa al buit. En aquest capítol, s'han donat exemples de càlcul de disseny o s'han avaluat els filtres existents. La filtració sobre tela s'aplica amb avantatge en alimentacions diluïdes (2-5 % sòlids), que és el cas dels brous de fermentació, en què cal eliminar grans volums de líquid.

Els proveïdors de filtres al buit disposen d'unitats de planta pilot transportables (amb sistema de buit autònom) per realitzar proves a la planta del client, que asseguren la idoneïtat del filtre que es vol adquirir.

Al capítol següent, s'estudia amb detall la centrifugació, que és la tècnica més adequada quan es tenen suspensions més concentrades, que filtren malament, procedents de disrupció cel·lular, pretractament per floculació, etc., o bé quan es volen separar dues fases líquides després de l'extracció. Al capítol 10, s'estudien la filtració tangencial sobre membrana i la microfiltració, que són operacions que es basen en principis físics diferents del que s'ha estudiat aquí, però també fonamentals per a la purificació de proteïnes.

2.8 Notació

A	Superfície de tela filtrant, m^2
a	Const. Eq 2.13, m^6/s
a_p	Area especìfica de la partícula, m^2/m^3
A_T	Area total, m^2
b	Const. Eq 2.14,m^3
C	Concentració, kg/m^3
d_p	Diámetre de la partícula,m
E	Eficàcia de rentat,
f	Fracció de temps de rotació util filtrat
F	Fracció V_r/V_f
h	Gruix del trotó, m
J	Flux de filtració, m/s
k	Permeabilitat, m^2
L	Gruix filtre,m
N	Freqüència de rotació, Hz
n	V_w/V_r
p	Pressió, Pa
R	Resistència, Rc, del tortó, Rm, del medi, m^{-1}
R´	Fracció retinguda,
S	Exponent de l´eq2.22,-
t	Temps de filtració,s
tc	Temps de cicle, s
tf	Temps de filtrat, s
tw	Temps de rentat, s
u	Velocitat superficial, m/s
V,V_f	Volum de filtrat, m^3
V_p	Volum de la partícula, m^3

α	Resistència especifica del tortó, m/kg
ρ	Densitat, kg/m3
μ	Viscositat, Pa s
α_0	Coef. Const. De la resistència específica, m/(kg PaS)
Δπ	Caiguda de pressió, Pa

→3

Centrifugació

La separació de cèl·lules, detritus cel·lulars o materials cel·lulars sòlids es pot fer en alguns casos, com hem vist, per filtració convencional. A vegades però, s'utilitza la sedimentació, la centrifugació o la flotació. Aquestes operacions depenen de la diferència de densitats entre les partícules i el fluid. A la taula 3.1, es presenta un resum de les densitats de les biopartícules i molècules més importants. La sedimentació és deguda a l'acció de la gravetat, per exemple, en el tractament de fangs activats en els decantadors de tractament de l'aigua. Com és sabut, l'àrea de decantadors ocupa enormes superfícies de terreny. Una estació depuradora ocupa una gran superfície, a causa de l'àrea transversal dels sedimentadors, decantadors i reactors d'oxidació, realitzada per microorganismes. Aquestes superfícies són grans perquè la velocitat de sedimentació per gravetat és molt petita, com veurem en aquest capítol.

Partícula	**Diàmetre de sedimentació, μm**	**Densitat, kg/m^3**	**Acceleració relativa, G**	**Velocitat de sedimentació V_g*, cm/h**	**Re**
Llevat	5	1.100	1	0,5	7 x 10^{-6}
Bacteris	1	1.100	1	0,02	6 x 10^{-8}
Proteïna	0,010	1.300	10.000	0,06	2 x 10^{-9}

* Eq. 3.4

Taula 3.1 Velocitats de sedimentació calculades i nombre de Reynolds (per a $\rho = 10^3$ kg/m^3; $\mu = 1$ mPa·s)

En la producció biofarmacèutica, s'utilitzen aparells de centrifugació en què el camp de força pot ser 100.000 vegades o més l'acceleració de la gravetat; per tant, en tan sols uns pocs m^2, podem tenir concentrada una superfície enorme de sedimentació, a costa de treballar amb velocitats de rotació molt grans. El camp de força s'obté per rotació de tubs i canals en els quals es crea un camp de força centrífuga, aplicant velocitats de rotació elevades. La centrífuga industrial la va inventar DeLaval al segle XIX a Suècia per al descrematge de la llet. Es va aplicar de seguida a la preparació de plasma (durant les guerres mundials), penicil·lina, proteïnes animals i vegetals, i a la fabricació de llevat de pa i altres microorganismes.

Avui dia, la centrífuga és una màquina essencial en biotecnologia industrial, que s'utilitza quan la filtració no és aplicable per raó de la naturalesa gelatinosa d'algunes proteïnes o col·loides, que els fa intractables per filtració convencional. A la figura 3.1 es representen els tipus de centrífugues més corrents. A la figura 2.2 del capítol 2, hem vist que les mides mínimes de les partícules centrifugables van des de 0,1 μm fins a 100 μm, i les fraccions de sòlids, del 0,5 % al 30 % o més, amb centrífugues de decantació (tipus *e* de la figura 3.1). El tipus més emprat en biotecnologia és la centrífuga de discs, que és un invent de 1888. Les seves capacitats de tractament són elevades, des de 40 L/min a 15.000 rpm fins a 1.500 L/min a 5.000 rpm. Les unitats de laboratori utilitzen el mateix principi que les industrials. La centrífuga de discs és la més comuna (tipus *c* i *d* de la figura 3.1), tant a la planta pilot com a la planta industrial.

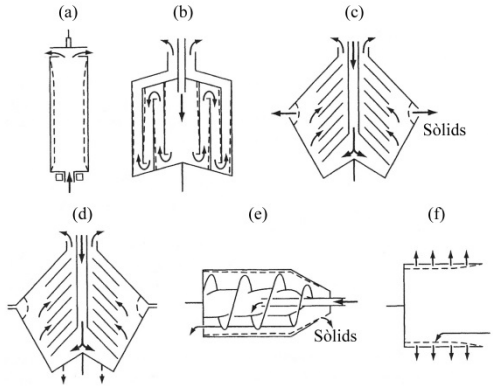


Fig. 3.1
Tipus corrents de centrífugues de producció: *a*) cistella tubular, *b*) multicambra, *c*) de disc amb tovera, *d*) de disc, amb descàrrega intermitent, *e*) decantador centrífug, *f*) de cistella horitzontal

L'objectiu d'aquest capítol és explicar els fonaments de la centrifugació. Analitzar el funcionament dels tipus bàsics (centrífuga de cistella tubular, de discs, etc.), a fi de: 1) poder seleccionar el tipus que utilitzarem en una planta, o bé 2) avaluar les màquines que ja tenim a la planta, per veure si són adequades per a una nova fabricació. Farem els càlculs de canvi d'escala basats en la teoria Sigma. També tractarem la filtració centrífuga, la de laboratori, etc., amb diversos exemples d'interès en biotecnologia. Addicionalment, estudiarem la ultracentrífuga analítica d'interès en biofísica.

Taula 3.2
Tipus de centrífugues per capturar biomassa

Microorganisme	**Tipus**	**Mida, μm**	**Cabal relatiu al llevat de pa**	**Tipus de centrífuga de discs**
Llevat de pa	*Saccharomyces*	7-10	100	Tovera
Llevat de cervesa	*Saccharomyces*	5-8	70	Tovera, ejecció de sòlids
Llevat d'alcohol	*Saccharomyces*	5-8	60	Íd.
Proteïna unicel·lular	*Candida*	4-7	50	Tovera, decantador
Antibiòtics	Fongs	...	10-20	Decantador
Antibiòtics	*Actinomyces*	10-20	7	Ejecció de sòlids
Enzims	*Bacillus*	1-3	7	Tovera i ejecció
Vacunes	*Clostridia*	1-3	5	Cistella sòlida, ejecció de sòlids

En aquest capítol, tractem de la centrifugació en condicions de no equilibri. Tanmateix, en biologia molecular, la centrifugació de vegades es fa en condicions d'equilibri, en un gradient de concentració creat amb una substància dissolta adient. Això permet determinar la densitat d'una partícula. La sedimentació d'equilibri es diu que s'esdevé en condicions isopícniques, però aquest no és el cas de la centrifugació industrial. En ciència de polímers i en biofísica, la ultracentrífuga analítica s'empra per determinar pesos moleculars, coeficients de sedimentació, etc. Alguns gràmuls citoplasmàtics (p. ex., els ribosomes) es caracteritzen pel seu coeficient de sedimentació.

En aquest capítol, s'adopta la teoria Sigma, atribuïda a Ambler (1952). El mètode Σ ha estat acceptat per la majoria de constructors de centrífugues (Alfa Laval, Flottweg, Westfalia Separator) des de fa temps. Si en el futur s'empra la simulació fluidodinàmica per estudiar els fenòmens de sedimentació, s'ha d'introduir el moviment relatiu respecte d'un sistema de referència giratori. La simulació permet predir la influència de determinats factors geomètrics que la teoria sigma no permet.

3.1 Velocitat terminal en un fluid per acció de la gravetat

La mida de les partícules que separarem per centrifugació són:

- precipitats (de 0,1 mm a 1 mm),
- cèl·lules (de 1 μm a 10 μm),
- residus cel·lulars i virus (de 0,1 μm a 1 μm).

Partícula/molècula	**Densitat, kg/m^3**
Microorganismes	1.020
Partícules cel·lulars	1.150-1.200
Proteïnes	1.370
Ribosomes*	1.570
ADN*	1.680
ARN*	2.000

* Valors mitjans

Taula 3.3 Densitats d'algunes partícules i molècules d'interès (Harrison *et al.*, 2003)

Les densitats de les partícules i macromolècules van de 1.200 a 2.000 kg/m^3. I les velocitats de sedimentació normals es poden veure a les taules 3.1 i 3.2, i a la figura 3.2. Així doncs, per a un líquid com l'aigua (1 cP, 1g/cm^3), s'obtenen nombres de Reynolds de sedimentació, Re < 0,1, que és laminar. En el camp gravitatori, les partícules sedimenten, doncs, en l'anomenat *règim de Stokes* (v. fig. 3.2), és a dir, la força d'arrossegament/fricció (suposant esferes de diàmetre d i velocitat u) val:

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

El volum de la partícula val:

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

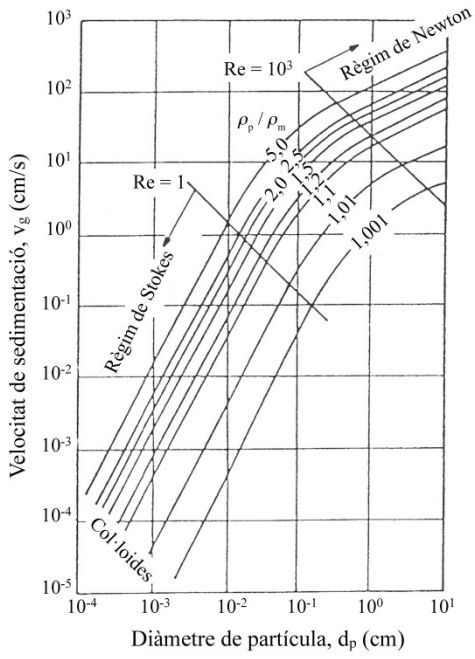


Fig. 3.2
Velocitats de sedimentació de les partícules en aigua a 10ºC, segons la relació densitat de la partícula/medi

Suposant que es tracta de partícules esfèriques de densitat més gran que l'aigua, les forces que actuen sobre una partícula en la direcció del moviment són:

- El pes, en sentit cap al centre de la Terra.
- L'empenta d'Arquímedes, a sentit contrari al pes.
- La força d'arrossegament de Stokes, en sentit contrari al vector velocitat.

En la sedimentació, es compleix, en general, la segona llei de Newton:

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

essent el primer membre la suma de forces i el segon, la massa per l'acceleració. Així doncs, la partícula s'accelera fins que el fregament va augmentant i s'iguala el pes efectiu, i la sedimentació es realitza a velocitat constant, anomenada *velocitat de caiguda lliure o terminal*, u_t. Fent du/dt = 0 a l'equació anterior, s'obté:

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

amb la condició que Re < 1. A la figura 3.2, es veu que, si Re és més gran, el règim passa a ser de Newton. L'equació 3.4 que dóna V_g és vàlida, sempre que (1) les altres

partícules no ho impedeixin, (2) no hi hagi difusió, (3) les parets no entorpeixin i (4) estiguem al règim de Stokes. Aiba *et al*. (1973) van calcular que, quan un conjunt de partícules sedimenten, s'ha d'introduir una correcció deguda a l'impediment:

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

on V_h és la velocitat terminal en condicions de sedimentació impedida, ε és la fracció en volum de partícules i β = 1-2 per a ε =< 0,15.

La velocitat de caiguda lliure, V_g, donada per l'equació 3.4 és una equació fonamental.

3.1.1 Moviment de la partícula en un camp centrífug

El moviment circular de la centrífuga indueix una força centrífuga que és deguda a la inèrcia. Sobre una massa puntual m, aquesta força val:

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

que apareix per efecte de la inèrcia en anar canviant de direcció en una rotació. El sentit de la força centrífuga és des de r = 0 (centre de rotació) cap enfora, r > 0, en la direcció del radi. Així, l'acceleració centrífuga, a = ω^2r, augmenta amb el radi r durant la sedimentació de la partícula en el camp. Escrivint la segona llei de Newton en aquest cas, tindrem:

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

Podem assumir ara que l'acceleració té lloc al principi de la sedimentació, és a dir, que de seguida es fa $d^2r/dt^2 = 0$. Tanmateix, a diferència del que passa en el camp gravitatori, la força centrífuga *augmenta sempre* en augmentar el radi i, per tant, no s'arriba a una velocitat terminal constant, sinó que la partícula cau al fons del tub a la màxima velocitat. Si negligim el terme d'inèrcia de l'equació 3.7 i aïllem la derivada dr/dt, tindrem la velocitat de sedimentació:

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

que ens indica que la velocitat augmenta amb el radi r. Inserint la V_g donada per l'equació 3.4, en aquesta última resulta:

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

on V_g és una constant. Aquesta última relació (v. eq. 3.9) indica un fet simple: la velocitat de sedimentació en una centrífuga és la velocitat terminal en el camp gravitatori, incrementada en un factor variable adimensional, G:

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

que s'anomena *força de sedimentació relativa.*

3.1.2 Temps de sedimentació en una centrífuga

Amb les mateixes hipòtesis que fins ara, podem calcular el temps a recórrer una distància establerta. Separant variables i integrant l'equació anterior amb límits d'integració $t = 0$, $r = r_0$ i $t = t$, $r = R$ (fons del tub o un altre radi), es tindrà:

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

amb V_g donat per l'equació 3.4. De la comparació d'aquestes dues equacions, tenim:

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

3.2 Centrífuga de cistella tubular

A la figura 3.1 *a*, es representa una centrífuga de cistella tubular. És un aparell que treballa en semicontinu. S'alimenta suspensió per baix, i per dalt; va decantant líquid clarificat. El sòlid roman dins la centrífuga al llarg de la longitud de la cambra de sedimentació (v. fig. 3.3 i 3.4). A la figura 3.4, es mostren les coordenades del sistema pla. Considerem una partícula que entra per baix. Els components del vector velocitat seran:

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

on Q és el cabal de suspensió i V_z és la component axial de la velocitat deguda a la convecció. I la component de sedimentació radial o circumferencial és la deguda al fregament de Stokes, V_r:

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

A la figura 3.4, s'observa que la suma dels dos vectors dóna lloc a la trajectòria tangent al vector suma. L'equació diferencial de la trajectòria s'obtindrà fent el quocient escalar de:

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

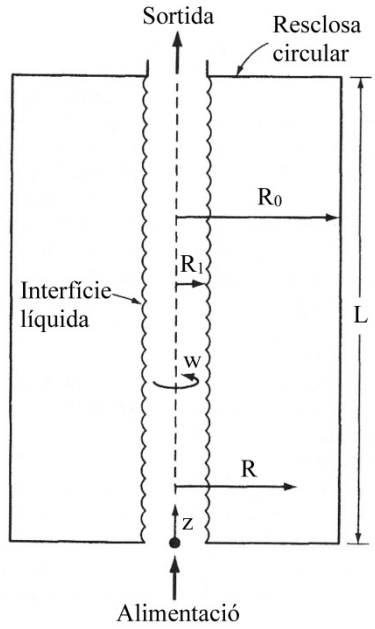


Fig. 3.3
Secció d'una centrífuga de cistella tubular. Entrada inferior i sortida pel sobreeixidor circular de dalt. Altura = L

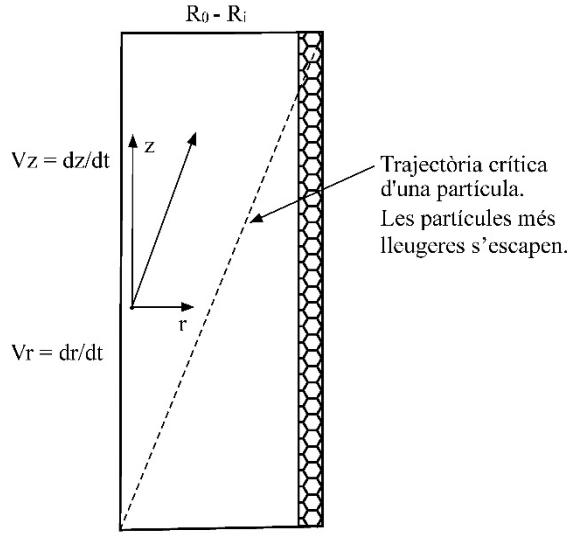


Fig. 3.4
Capa líquida d'una centrífuga tubular que mostra la trajectòria d'una partícula capturada quan z = L

La trajectòria de la partícula al pla x-y serà la corba r(z), que és tangent a la velocitat resultant. La trajectòria complirà que, per a V_g gran, la partícula sedimenta ràpidament només entrar en la centrífuga i, inversament, per a Q gran, la partícula entra a $r = R_o$ i roman a R_o en tot el seu trajecte i, per tant, no hi sedimenta i s'escapa de la màquina. Vegeu l'exemple 3.2, en què les pròpies cèl·lules determinen el cabal de ruptura.

Separant variables a l'expressió dr/dz, i integrant i aïllant Q, s'obté:

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

on R_m^2 és la mitjana següent:

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

Es coneix com a valor sigma Σ d'una centrífuga, a l'expressió que multiplica V_g a fórmula del cabal 3.16. Així doncs, Q = VΣ. Els valors Sigma de diverses màquines es donen a la taula 3.4. La significació de Σ es comenta a 3.4

Taula 3.4
Resum de les sigma calculades

Tipus de centrífuga	Expressió de Σ	Símbols	Observacions
1. Cistella 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 = radi exterior; R_1 = interior R_m = radi mitjà L= longitud del cilindre	
2. Centrífuga de discs cònics	$\Sigma = \frac{2\pi(Z-1)\omega^2 \cot\theta}{3g}\left(R_o^3 - R_1^3\right)$	Radis R_o,R_1 *ídem.* tipus 1. Z nombre de discs	
3. Decantador	$\Sigma = \frac{\pi\omega^2}{g}\left[L_1\left(\frac{3}{2}R_2^2 + \frac{1}{2}R_1^2\right)\right] + \left[L_2\left(\frac{R_2^2 + 3R_2R_1 + 4R_1^2}{4}\right)\right]$	L_1 = long. part cilíndrica L_2 = long. part cònica. R_1= radi interior del líquid; R_2 = radi interior de la cistella	*Vid.* Axelsson (2013)
4. Centrífuga lab. cistella cònica	$\Sigma = \frac{\pi\omega^2}{g} L_{con} R_1 (R_o^2 - R_1^2)$	L_{con}= long. generatriu del con	*Vid.* Ottens *et al* (2006)
5. Centrífuga lab. tubs basculants (clínica)	$t = \frac{g}{V_g \omega^2} \ln \frac{R_2}{R_1}$	R_1 = radi menisc líquid; R_2 = fons del tub. t= temps de desplaçament de R_1 a R_2	Axelsson (2013)

ω = 2πN; N = freqüència de rotació, Hz

Exemple 3.1 Càlcul d'una centrífuga a partir de les dades de laboratori.

Volem saber si una centrífuga de planta (de cistella tubular) podrà tractar una certa alimentació. A aquest efecte, fem una prova amb una centrífuga de tubs basculants de laboratori, que té les característiques següents:

Radi mitjà: $\frac{R1+R2}{2}=10$ Distància de sedimentació R_2-R_1= 12 cm

El temps de clarificació és de 4 min. La centrífuga de planta té un valor Σ =1.200 m^2. Calculeu el cabal que podrà tractar la centrífuga de planta.

El cabal que pot tractar una centrífuga ve donat per l'equació $Q = V_g\Sigma$. Per tant, només cal calcular V_g de les proves de laboratori. Per a la centrífuga de laboratori:

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

Al laboratori, tenim un temps de sedimentació de t = 4 min = 240 s. De les relacions entre els radis donades, obtenim R_1 = 4 cm, R_2 = 16 cm. La N = 1.200 rpm = 1200/60 = 20 Hz, $\omega = 2\ \pi N = 2\ \pi 20 = 125$ rad/s. De l'equació anterior V_g valdrà:

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

d'on $Q = V_g\Sigma = 3,58 \times 10^{-6} \times 1.200 = 4 \times 10^{-3}$ m^3/s = $15 m^3/h$, que serà el cabal que podrem tractar amb la centrífuga gran.

3.3 Centrífuga de discs

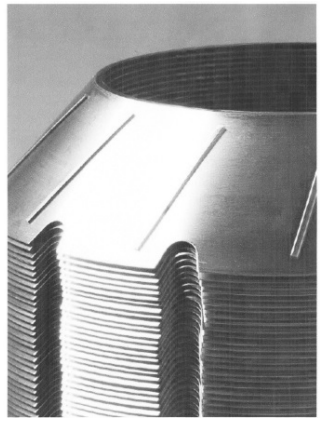


Fig. 3.5
Pila de discs concèntrics d'una centrífuga de discs. Els bafles rectes són per evitar la rotació del sediment a les cambres entre els cons. El nombre Z de discs és de 30 a 200

La centrífuga contínua de discs apilats (v. fig. 3.1 *c* i *d*, fig. 3.5) és una de les més utilitzades no sols en biotecnologia, sinó en moltes indústries de procés per a la separació de sòlids, en el nostre cas, cèl·lules, partícules cel·lulars, etc. També s'utilitza per a la

separació de dues fases líquides immiscibles, per exemple, després de l'extracció amb solvent, o bé com a separador de tres fases (*tricanter* de Westfàlia). Com es veu a les figures 3.5 i 3.6, consta d'un conjunt de discos cònics coaxials muntats sobre un eix giratori a alta velocitat de rotació. El nombre de discs és d'uns 50-250. A la figura 3.7, es veu el cabal de líquid entrant, que passa per l'entreferro dels discs en direcció ascendent, a mesura que el sòlid es mou contra la paret del disc superior, i s'escola en sentit contrari al líquid, i així es realitza la separació.

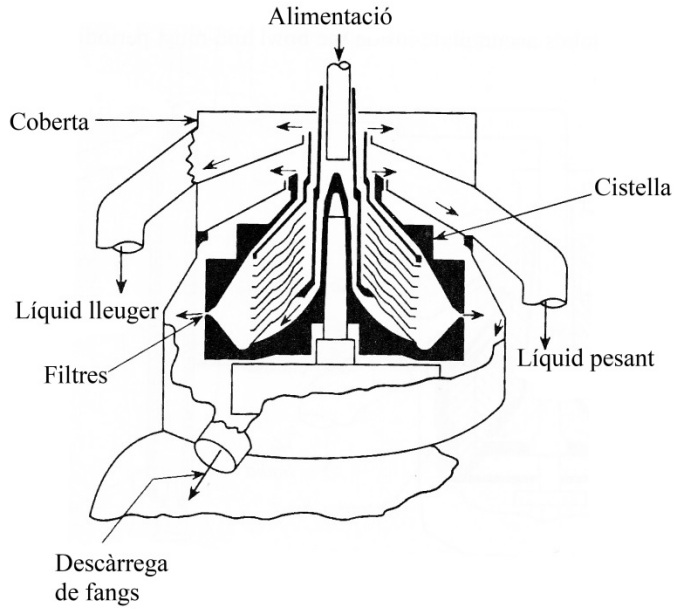


Fig. 3.6
Disposició dels cons en una centrífuga de discs, amb descàrrega per

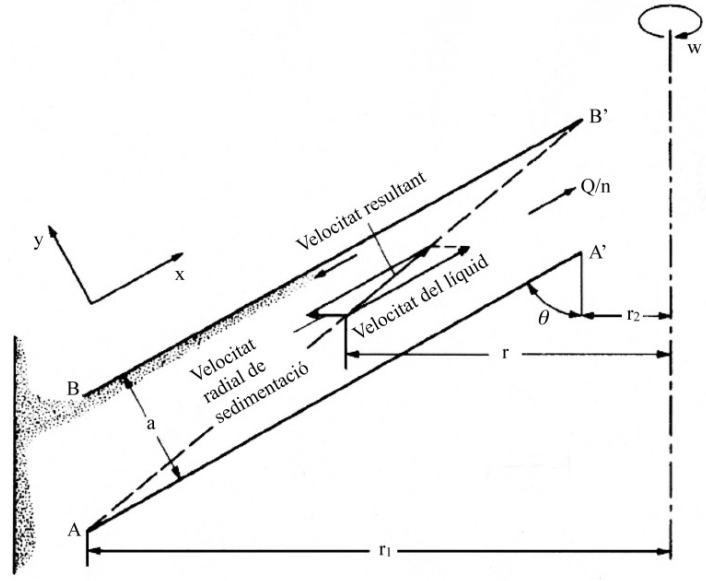


Fig. 3.7
Velocitats d'una partícula que sedimenta. Velocitat radial, V_r; velocitat al llarg del canal, V_x, i velocitat resultant. La trajectòria AB´ seria crítica. Diagrama basat en Coulson-Richardson (2003). El sistema de referència xy està sotmès a rotació. Els bafles de la figura 3.5 tendeixen a evitar la rotació

A continuació, analitzem les velocitats de la partícula dins els canals. A la figura 3.7, es representa la geometria del canal, en què el punt d'entrada de la partícula és $r = r_1$ i el de sortida, $r = r_2$. Prenent com a eixos x i y els indicats, considerem el problema bidimensional en el pla x-y. Tenim les propietats geomètriques següents:

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

on θ és l'angle dels cons amb l'eix de rotació. La secció de pas del cabal de líquid que entra a la centrífuga, en un entreferro cònic d'amplada *a* (= separació entre dos cons), serà:

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

i el cabal que passa *per cada entreferro* valdrà Q/*n*, en què *n* és el nombre de espais cònics i *n = Z-1,* essent Z el nombre de cons. Per tant, la velocitat d'arrossegament de la partícula pel cabal de líquid al llarg del canal val:

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

ja que la secció recta de cada canal val $A = 2\pi ra$ i la velocitat radial de la partícula és la corresponent al règim de sedimentació centrífuga (Stokes), és a dir:

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

Aquestes velocitats són instantànies i, per tant, depenen de la posició r de la partícula a cada temps. Vegeu que el vector suma resultant:

$$\mathbf{V}_s = \mathbf{V}_x + \mathbf{V}_r \tag{3.22}$$

representa la velocitat de sedimentació efectiva respecte al canal. Observeu que la partícula tendeix a anar-se'n cap a la paret del disc superior i sedimentar. Com que l'amplada del canal és molt petita (aproximadament, 1 mm), la sedimentació té lloc de seguida. Una vegada allí, la partícula cau a causa de la component del pes al llarg de la paret, fins a sortir per baix.

Com que volem que la partícula sigui capturada abans de sortir del canal:

1) En calculem la trajectòria.

2) Imposem que a $r = r_2$, $y = a$

Càlcul de la trajectòria críitica. La velocitat d'una partícula que entra a r_1 en el sentit de $y > 0$ complirà:

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

d'on l'equació diferencial de la trajectòria sobre el pla, dy/dr, emprant les expressions anteriors per les derivades respecte de t, es calcularà en funció d'aquestes com:

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

Per tal d'obtenir l'equació de la trajectòria en el canal, separem variables i integrem l'equació 3.24, d'on

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

El límit superior de y és igual a *a*, és a dir, imposem que la partícula *arriba a la paret just* a r = r_2. L'expressió anterior integrada dóna, doncs, la *trajectòria crítica y(r)*. De l'equació anterior, es dedueix que el cabal de la centrífuga de discs i la seva sigma valdran, respectivament:

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

on V_g és la velocitat de sedimentació per gravetat. És interessant notar que les equacions de la centrífuga de discs són independents de la distància entre discs, *a*.

Exemple 3.2 Centrífuga de discs per al procés de la insulina humana.

En les etapes inicials del procés de la insulina humana, cal fer una operació de clarificació per recuperar els cossos d' inclusió i el precipitat de proinsulina (TrpE-Meth-proinsulina). La nostra planta té diverses centrífugues de discs (amb descàrrega per tovera). Volem saber quina és la més adequada. Les dades d'una màquina són: nombre de discs = 200, angle θ = 50º, radi exterior r_1 = 0,25 m; radi intern r_2 = 0,08 m, distància entre discs = 1 mm; màxima freqüència de rotació = 5.000 rpm.

Característiques de l'alimentació. Medi líquid de densitat = 1.025 kg/m^3, densitat dels sòlids = 1.090 kg/m^3, viscositat del líquid = 31 mPa.s, conc. de producte dissolt = 1 g/L, diàmetre cel·lular = 2 μm, concentració de cèl·lules = 2,5 % del pes, alimentació = 25.000 kg a tractar en 5 hores.

Calculeu la capacitat de la centrífuga per a la suspensió que es vol separar:

Quantes màquines com l'especificada treballant en paral·lel es necessitaran per processar l'alimentació en 5 hores?

Dades de la màquina

n = 200 entreferros (201 discs), R_o = 0,25 m, R_1 = 0,08 m; semiangle del con, θ = 50º, distància entre cons = 1 mm, N = 5.000 rpm

Dades de l'alimentació

$\mu = 31\times10^{-3}$ Pa·s, $\rho = 1.025$ kg/m^3, $\rho_p = 1.090$ kg/m^3, conc. X = 1 g/L, $d_p = 2$ µm, *cell conc.* = 2,5 % pes

A continuació, calculem la V_g de les cèl·lules i després la sigma de la màquina

$$V_g = \frac{d_p^2(\rho_p - \rho)g}{18\mu} = \frac{(2\times10^{-6})^2(1.090-1.025)\times9,81}{18\times31\times10^{-3}} = 4,7\times10^{-9}\ m/s$$

Per a la sigma, el valor de Σ de la taula 3.4, $\omega = 2\pi N = 2x\pi\times\frac{5.000}{60} = 523\,rad/s$

$$tg\theta = 1,19$$

$$\Sigma = \frac{2\pi(Z-1)\omega^2\cot\theta}{3g}\left(R_o^3 - R_1^3\right) = \frac{2\pi\times200\times(523)^2}{3\times1,19\times9,81}\left(0,25^3 - 0,08^3\right) = 148.405m^2$$

Cabal de treball màxim d'una centrífuga:

$$Q = V_g\Sigma = 4,7\times10^{-9}\times0,148\times10^6\times3600 = 2,63\,m^3/h$$

Per tant, per filtrar 25m^3 en 5 hores (5 m^3/h), hem de connectar dues centrífugues en paral·lel, cada una de les quals rebi 2,63 m^3/h de brou des del fermentador.

3.4 Teoria sigma

A l'exemple anterior, ja hem vist què significa la Sigma d'una centrífuga. El concepte de sigma va ser introduït com una manera pràctica de relacionar la capacitat d'una centrífuga amb les seves dimensions. A les equacions 3.26 i 3.27, es defineix Σ com la superfície teòrica que, junt amb V_g dóna el cabal de filtració Q de la màquina:

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

en aquesta equació, V_g és la velocitat de sedimentació en el règim de Stokes, a la mateixa temperatura i viscositat de la màquina, a una força gravitatòria g = 9,81 m/s^2, donada per l'equació 3.4. A la taula 3.4, es resumeixen els valors de sigma deduïts en aquest capítol.

Respecte als termes, cal retenir el significat de cadascun:

– V_g = funció de la partícula i el fluid (V_g, mida d_p, fluid, densitats, viscositat)

– Σ = funció de la màquina (longitud, radis de treball, angle, distàncies, rpm)

– Q = cabal d'un sedimentador per gravetat equivalent, que separi partícules que sedimenten en una superfície igual a Σ m^2, a una velocitat V_g, m/s. Com que

l'ordre de magnitud de V_g és de 10^{-7} m/s, la magnitud de Σ és de milers a cents de milers de m^2.

Exemple 3.3 Determinació de la sigma a partir del cabal de ruptura.

Volem caracteritzar una centrífuga de la planta pilot que hem adquirit de segona mà. Fem una alimentació d'una suspensió de llevat, que treballa a 500 g constant, i anem augmentant el cabal alimentat a la màquina fins que en comença a sortir llevat, és a dir, determinem el que anomenem *cabal de ruptura*. La ruptura es produeix quan el cabal val Q = 10 L/min. En aquestes condicions, la velocitat de sedimentació del llevat en la centrífuga val V = 100 μm/s. A partir d'aquestes dades, determineu el valor sigma de la centrífuga.

Com hem vist a la teoria de la centrífuga tubular, el cabal de ruptura o màxim, Q, s'estableix com aquell en què totes les partícules són retingudes per sedimentació (v. eq. 3.16 i taula 3.3). S'anomena valor Σ de la màquina el valor de l'àrea que fa que:

$$Q = V_g \Sigma$$

La Q s'estableix a una velocitat de rotació donada i tracta una suspensió de llevat fins a funcionament estable sense llevat a la sortida. Llavors, es va augmentant Q i s'observa el cabal en el qual en el llevat comença a fugir per la sortida.

La relació entre V i V_g ve donada per l'equació 3.9, d'on $Q = V_g \Sigma$ i la velocitat de sedimentació a la màquina val $V = V_g \frac{\omega^2 r}{g}$. I, com que sabem que V = 100μm/min i que la força de la màquina és 500 g, tindrem:

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

on la velocitat és V = 100 μm/s. Passant a m/s, tindrem que V= 10^{-4} m/s. Llavors:

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

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

I, per tant, sigma valdrà:

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

3.4.1 Rendiment de la centrífuga

La teoria de la Sigma no es compleix totalment, de forma que necessita factors de correcció. El més necessari és el que es defineix com a rendiment respecte al cabal teòric. Així doncs,

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

essent Q el cabal teòric (el de les equacions) i Q_{real} el que admet realment la màquina per a una certa mida de partícula. Els valors del rendiment depenen del tipus de centrífuga i són els de la taula 3.5, que molts autors recomanen a l'hora d'especificar una màquina. A l'exemple 3.5 s'il·lustra com s'especifica una centrífuga amb aquest rendiment.

Màquina	Rendiment, η%	Cabal, Q, m^3/h	Valor de Q_{real}/Σ, m/s
Cistella tubular	90	0,4 - 4	$0,5 - 3,5\times10^{-7}$
Discs	45	0,1 - 110	$0,7 - 4,5\times10^{-7}$
Decantador	60	0,7 - 15	$0,15 - 1,5\times10^{-5}$
Centríf. cistella	75	0,4 - 10*	$0,05 - 4\times10^{-4}$

Rendiment definit per l'eq. 3.29. *Dades de Sinnott (1998)

Taula 3.5
Taula de selecció de la centrífuga basat en el cabal, Q, Q_{real}/Σ, i rendiments recomanats (Sinnott, 1998)

3.4.2 Canvi d'escala. Proves en una màquina pilot

De les proves preliminars en una centrífuga pilot, ens farem una idea del valor que s'obté de la variable Q_{real}/Σ. La magnitud Q/Σ s'utilitza com a criteri de canvi d'escala, ja que representa la velocitat de la partícula que sedimenta, i aquesta és constant.

Llavors, per fer un estudi d'extrapolació, es realitzen els passos següents, basats en l'experimentació en una màquina pilot, i *veient què haurà de complir la màquina gran* o industrial.

Fem les proves en una màquina de planta pilot a la qual li imposem una sèrie de condicions o les imposem a l'aparell industrial:

1) Igual tipus de centrífuga que la gran

2) Igual geometria

3) Iguals valors fluidodinàmics i Δp a les tubuladures d'entrada i sortida

4) I hi apliquem l'equació de canvi d'escala

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

on 1 i 2 fan referència a la màquina 1 i a la 2. D'aquesta equació, generalment coneixem tres de les quatre variables que hi apareixen –per exemple, de la màquina pilot (1),

en sabem el cabal i la sigma, i de la màquina gran (2), només el cabal que ha de tractar, però no en sabem la sigma. D'acord amb els catàlegs de màquina gran, especifiquem la centrífuga que tingui el valor donat per l'equació. L'equació 3.30 pressuposa que el rendiment de les dues màquines és el mateix. Així, el rendiment de la màquina de catàleg serà el mateix que el de la màquina 1; per tant, es complirà exactament l'equació 3.30.

Margaritis (2007) afegeix dues condicions prèvies que són regles pràctiques que cal considerar:

a) La centrifugació en un bioprocés és aplicable sempre que al laboratori es fa la sedimentació en un temps màxim de 10 min a 3.000 g. Pel que fa al pretractament del brou, és interessant la regla següent:

b) Si Q_{real}/Σ és $< 10^{-8}$ m/s, cal considerar el condicionament del brou amb floculació.

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

En el cas *b*, cal tenir en compte com afecta la floculació a la separació, ja que tant la mida de partícula com la viscositat queden afectades per la coagulació, i V_g canvia dràsticament (v. exemple 3.6).

Exemple 3.4 Seleccó d'una centrifuga amb la taula 3.5.

Aquesta taula resumeix els rendiments i els intervals de cabal de les diferents màquines. Vegem un exemple de selecció d'una centrífuga. Suposem que volem separar en continu un precipitat (mida de partícula = 10 μm). El cabal de suspensió és de 5,5 m^3/h i conté un 5 % de precipitat. Les dades són: densitat de la partícula = 2.300 kg/m^3, densitat del fluid = 1.050 kg/m^3, viscositat del líquid = 4 mPa·s, d_p = 10 μm.

En principi, recomanem, per exemple, una centrífuga de cistella contínua, però cal veure si és adequada segons la taula 3.5.

Suposem que és possible triar una centrífuga de cistella, per a la qual la taula 3.5 dóna η = 0,75 (75 %).

Cabal de clarificat = Q_{real} = 0,95 × 5,5 = 5,23 m^3/h = 1,45 × 10^{-3} m^3/s. El valor de V_g, per l'equació 3.4, valdrà:

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

Per tant, apliquem l'equació de sigma amb el rendiment suposat fins ara (75 %):

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

Podem trobar una cistella adequada al catàleg (v. taula 3.5). Pel marge de cabals, 0,4 < 5,23 m^3/h < 10. El nostre cabal seria acceptable segons la taula 3.5. Pel que fa a la

velocitat de sedimentació, la velocitat que tenim cau dins l'interval de $5 \times 10^{-6} < 1,7 \times 10^{-5} < 40 \times 10^{-5}$ per a màquines de cistella. Les màquines de cistella contínues existeixen, però no les hem presentat aquí (v. fig. 3.1, cas *f*). Són d'eix horitzontal i descàrrega sense parar de rodar (mitjançant rascador o empenta).

Exemple 3.5 Efectes del tractament de disrupció en la capacitat d'una centrífuga.

Volem utilitzar una centrífuga de cistella tubular per concentrar una suspensió d'*Escherichia coli* abans de passar a la seva disrupció. La cistella té les dimensions següents: 12,7 cm de radi i 73 cm de longitud. La freqüència de rotació és de 16.000 rpm i la capacitat és de 200 L/h. *a*) Calculeu la velocitat V*g* de l'*E. coli*. *b*) Després del procés de disrupció, la mida de les cèl·lules es redueix a la meitat i la viscositat augmenta quatre vegades. Calculeu la reducció de capacitat de la màquina.

Dades de la centrífuga: R_o = 12,7 cm, L = 73 cm, N = 16.000/60 = 267 Hz, ω = 2 π 267 = 1.674 rad/s

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

Vegem ara la relació de cabals:

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

Aplicant aquesta equació als dos casos. Notacions amb primes, després del tractament. Q' = noves condicions, dp' = nou diàmetre, μ' = nova viscositat:

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

És a dir, la capacitat passa a ser un 6,25 % de la capacitat inicial.

3.5 Centrífuga filtrant

En moltes aplicacions industrials, es fa servir la centrífuga de cistella com a filtre. Per a aquest filtre, es munta una tela dins de la cistella, i aquesta és un cilindre metàl·lic de parets perforades que opera amb l'eix de gir vertical. La cistella filtrant s'alimenta per la boca de la centrífuga, de manera semicontínua (v. fig. 2.2, *f*) però vertical (v. fig. 3.8). Quan el tortó s'ha format, rentat i escorregut, es para la màquina o bé s'expulsa el trotó relativament més sec fora de la cistella. Així doncs, s'aprofita la força centrífuga per fer fluir el filtrat a través del tortó. A les centrífugues filtrants (fig, 3.1, tipus *f*) de rascador o d'empenta, no cal parar de girar per descarregar el sòlid.

A la figura 3.8, es mostra la geometria cilíndrica, de radis R_o i R_1, i la variable r. Recordem que la caiguda de pressió a través del llit fix (tortó), en funció de la resistència del tortó i la viscositat (cap. 2), valdrà:

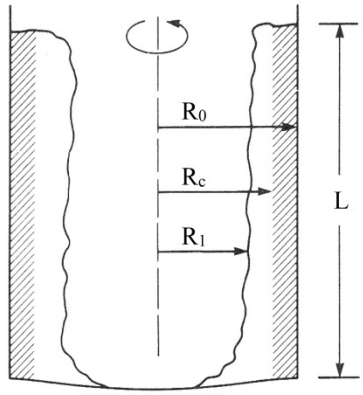


Fig. 3.8
Filtre centrífug discontinu

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

i el cabal de filtrat en funció de u valdrà:

$$2\pi r L u = Q \tag{3.32}$$

on L és l'altura de la cistella. I, combinant les dues equacions anteriors, tindrem:

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

que es pot integrar per trobar la pressió sobre el tortó. D'altra banda, sabem que la caiguda de pressió total Δp pràcticament és deguda a la força centrífuga aplicada a una massa igual a la massa de tortó; per tant, Δp valdrà:

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

Combinant les equacions anteriors, 3.31, 3.32 i 3.33, tindrem el cabal de filtrat:

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

on r és el radi del tortó, que és variable. Per tant, el cabal no és constant. De manera que

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

A més, es compleix:

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

essent r el radi del tortó quan t = t. Substituint aquestes dues últimes equacions a l'equació que dóna Q(r), obtenim una expressió del temps de filtració necessari per calcular el gruix de tortó. Amb alguna simplificació, l'expressió final del temps t (r) és (Belter *et al*., 1988):

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

que és el temps necessari per tenir un gruix de tortó R_o - r. L'expressió anterior, si bé utilitza conceptes físics ben establerts (α, ρ_c, etc.), és d'utilitat limitada. És preferible establir t experimentalment.

3.6 Ultracentrifugació en biologia molecular i biotecnologia

En fisicoquímica de macromolècules, s'utilitza la ultracentrifugació per determinar pesos moleculars i coeficients de sedimentació i difusió. La ultracentrífuga va ser desenvolupada per Svedberg i col·laboradors seus a Uppsala, a principi del segle XX, per la qual cosa va rebre el premi Nobel. La ultracentrífuga és un mètode exacte per a la determinació del pes molecular de macromolècules (naturals o sintètiques) i partícules intracel·lulars. La velocitat de gir del rotor és de fins a 70.000 rpm, en una cambra refrigerada al buit, per tal d'alleujar l'escalfament degut al fregament (v. fig 3.9, en què se'n mostra un esquema). Les unitats modernes poden operar amb acceleracions de 600.000 g.

Hi ha dos tipus principals d'ultracentrífuga, l'analítica i la preparativa. Les analítiques estan equipades amb un sistema òptic d'observació i fotografia (v. fig. 3.9), o basat en l'índex de refracció de la cel·la de sedimentació, que permet determinar la posició del front de sedimentació-difusió en un gradient de concentració i determinar-ne la dispersió. En biotecnologia, s'empren per determinar el coeficient de sedimentació de partícules, com ara en una suspensió de fraccions de ribosomes, i recollir-los en la centrífuga preparativa (v. exemple 3.5).

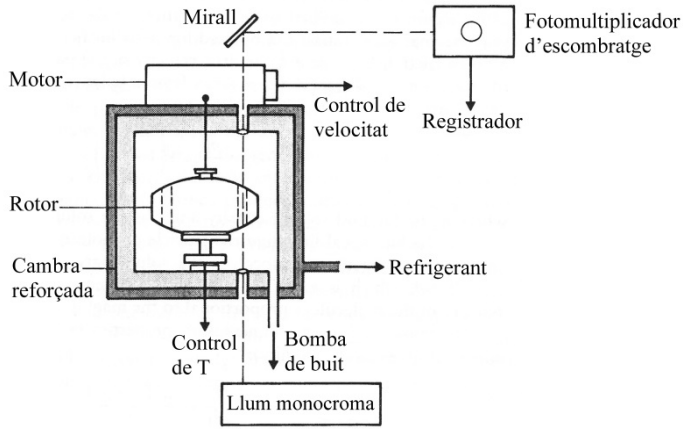


Fig. 3.9
Esquema d'una ultracentrifuga analítica

3.6.1 Coeficient de sedimentació

Es defineix com:

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

És a dir, la velocitat V que agafa una partícula respecte al camp existent a r, $\omega^2 r$. Segons la definició, les unitats del sistema internacional del coeficient s són segons. A la pràctica, la unitat habitual de s són unitats Svedberg, que es denoten per S, de manera que 1 Svedberg, 1 S = 10^{-13} s. Vegem ara que la constant s es relaciona directament amb les propietats del sistema partícula-camp centrífug. Utilitzant ara l'equació 3.4 per a V a l'equació anterior, tenim que l'expressió de s serà:

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

que defineix s en funció de les propietats de la partícula (ρ_p, R_p) i del fluid (μ, ρ).

Exemple 3.6 Preparació d'un concentrat de ribosomes 70 S.

Com és conegut, els ribosomes són les unitats citoplasmàtiques de la maquinària cel·lular que tradueix l'ARN-m a proteïna. En aquest exemple, volem veure si podem fer un preparat en una centrífuga relativament petita (una Sorvall refrigerada d'altes prestacions), treballant a N = 10.000 rpm. Volem determinar el temps per clarificar una suspensió de ribosomes 70 S. La distància radial és d'1 cm i el radi del menisc inicial, de 4 cm. El medi de sedimentació és aigua (1 cP, densitat = 1 g/cm^3).

A l'equació 3.37, podem substituir s per l'expressió de la velocitat i es tindrà:

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

o bé:

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

que, integrada entre 0 i t, i r i r_o, respectivament, dóna:

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

amb r_o= 4 cm i r = 5 cm. Expressant el temps en segons, $\omega = 2\pi N = 2\times\pi\times 10.000/60$, s = 70×10^{-13} s, el temps de clarificació necessari valdrà:

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

que és un temps no exagerat. Caldrà tenir cura només que la refrigeració no falli.

3.6.2 Determinació del pes molecular amb la ultracentrífuga analítica

Considerem el cas simple en què l'anàlisi es basa en les equacions 3.5 i 3.7 que donen l'equilibri de forces en un camp centrífug, a través de la segona llei de Newton, per a una partícula (esfera o molècula gran) de volum V_p, densitat ρ_s i massa m. En condicions de sedimentació a la ultracentrífuga, caldrà considerar el pes efectiu (el pes menys l'empenta) i la força d'arrossegament/fricció de Stokes. Considerant el terme d'inèrcia zero, tindrem:

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

que és equivalent a l'equació 3.5, expressada ara en funció de la massa, m:

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

Si considerem el volum específic del component macromolecular (que és el volum específic parcial de la solució de polímer), podem escriure, aproximadament:

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

d'on:

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

Posant la massa a l'equació 3.39 i aïllant m, tenim:

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

que ens donaria la massa m o M_{ap} de la macromolècula. Tanmateix, la centrifugació no es fa en condicions infinitament diluïdes. Per tant, l'aglomeració de partícules a la cel·la de sedimentació té una viscositat com si fos una suspensió d'esferes descrita per l'equació de Stokes-Einstein (Reid *et al*., 1999).

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

que ens indica que la suspensió està subjecta a difusió. Per tant, a l'equació que en resulta hi intervindrà el coeficient de difusió. És a dir, aïllant M_{ap}, tindrem:

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

anomenada equació de Svedberg.

3.6.3 Sedimentació en un gradient de densitat

Diversos soluts (sacarosa, alguns polisacàrids, sílice col·loïdal, sals, etc.) permeten crear un gradient de densitat a la cel·la de la ultracentrífuga rodant a gran velocitat. Un dels més utilitzats és el CsCl, que permet crear un gradient d'1,0 a 1,9 g/cm^3 per a una concentració de sal de 7,7 M a una velocitat de 45.000 rpm. Cal esperar (v. eq. 3.44) que, si centrifuguem una dissolució de la macromolècula del problema en un gradient de densitat, s'estabilitzarà en un radi r_0 tal que la densitat del medi compleixi que $v\rho = 1$. I s'observarà un pic de sedimentació, que indica la densitat de la macromolècula i, indirectament, el seu pes molecular.

Es demostra que la concentració de polímer entorn del radi $r = r_o$ on té lloc l'equilibri de sedimentació és una distribució normal, o sigui:

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

essent C les concentracions de solut a la cel·la de sedimentació entorn del màxim de C. La variància del pic de la macromolècula depèn de variables conegudes i del M_{ap} (Tanford, 1961):

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

Aquesta expressió indica que, mesurant la variància (per exemple, per mètodes òptics), es pot calcular M_{ap}, ja que totes les variables de l'equació 3.49 estan disponibles en un experiment d'equilibri. El gradient de densitat és conegut i r_o i ω, mesurats *in situ*, i el volum específic ve donat per la densitat a $r = r_o$ d'equilibri.

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

3.7 Consideracions finals

En aquest capítol, hem estudiat les centrífugues que s'utilitzen més en biotecnologia. La centrifugació és un dels mètodes més importants per retirar els sòlids com a primera opció en les bioseparacions. En la indústria, les centrífugues de discos cònics i de cistella tubular són les que resolen la major part de les separacions. A la figura 3.10, es mostren les àrees de selecció. Es representa el nombre d'acceleracions de la gravetat, G, en funció del diàmetre de les centrífugues. Com es veu, la capacitat màxima és de 60.000 g i 80 cm de diàmetre. Això vol dir que la superfície que ocupen les centrífugues és relativament petita.

Per a filtres centrífugs de gran diàmetre en treball discontinu i d'altres aparells de gran velocitat, cal tenir en compte primer la seguretat, pel que fa a la instal·lació. És prudent instal·lar i operar una centrífuga gran a la planta baixa, ja que això permet un bon anco-

ratge de la base a terra. Això és important si considerem l'energia de la cistella a plena càrrega. Molt sovint pot haver-hi una distribució irregular de la càrrega que pot causar accidents. Cal demanar consell al proveïdor per a l'obra d'instal·lació d'una centrífuga.

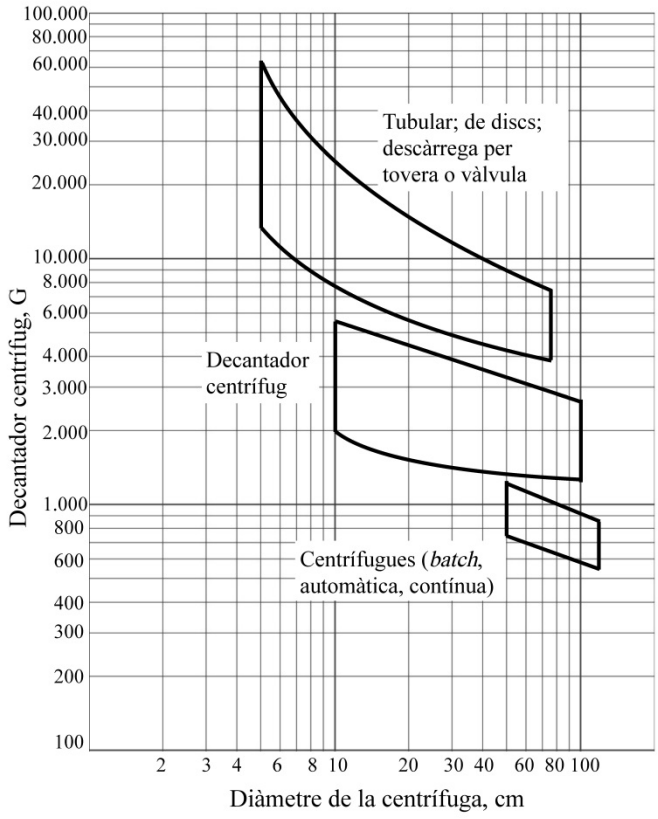


Fig. 3.10
Relació entre les dimensions de les centrífugues (abscisses) i el nombre de gravetats, G, a què treballen (en ordenades). (Perry-Green, 1998)

3.8 Notació

a	Distància entre discs,m
C	Concentració, kg/m3
d	Diàmetre, m
D	Difusivitat, m^2/s
d_p	Diàmetre esfera, m
F_c	Força centrífuga, N
F_D	Força de fricció i arrossegament sobre una partícula,N
g	Acceleració de la gravetat, 9,81 m/s^2
L	Longitut, m
M_{ap}	Pes molecular aparent, kg/kmol
N	Freqüència, Hz
Q	Cabal teòric,m^3/s
Q_{real}	Cabal de la màquina, m^3/s
r	Radi de gir d´una partícula, m
R	Radi, m
R_g	Constant gas ideal, 8,314 J/mol.K
R_m	Radi mitjà,m
r_o	Radi inicial, m
R_p	Radi partícula,m
s	Coeficient de sedimentació, s
t	temps, s
u	Velocitat, m/s
ut	Velocitat terminal a l´aigua, m/s
V	Velocitat dr/dt, m/s
v	Volum parcial especific, m^3/kg
V_g	Velocitat de caiguda lliure a l´aigua, m/s
V_p	Volum d´una partícula, m^3
V_r	Component radial, m/s
V_z	Component axial, m/s
Z	Nombre de discs
α	Coef específic de fltració, m/kg
ε	Fracció en volum
η	Rendiment
μ	Viscositat, Pa.s
θ	Semiangle del con, graus
ρ	Densitat fluid, kg/m^3
ρ_p	Densitat partícula, kg/m^3
Σ	Sigma d´una centrífuga, m^2
σ	Desviació tipus,kg/m^3

Disrupció cel·lular

Els bioproductes se sintetitzen i s'alliberen al citoplasma de les cèl·lules. En alguns casos, s'alliberen al medi de cultiu per secreció a través de la membrana cel·lular. Molt sovint, però, queden retinguts al citoplasma, ja sigui lliures en dissolució o en inclusions cel·lulars adaptades a l'efecte, o en els ribosomes i les mitocòndries, estructures intracel·lulars fonamentals. No cal dir que és preferible tenir el producte extracel·lular, ja que simplifica les operacions de recuperació. En alguns casos, els genetistes saben com obtenir mutants que secretin el producte, i això resol el problema de la disponibilitat d'aquest. En general, però, cal aplicar tècniques de disrupció o de ruptura cel·lular que alliberin el producte. L'estudi d'aquestes tècniques és l'objectiu d'aquest capítol.

Els procediments de ruptura cel·lular es resumeixen a la taula 4.1. En aquest capítol, analitzem primer l'estructura de la membrana cel·lular, per poder tenir alguna idea de com trencar-la. Després, veiem el procediments químics de trencament de la membrana (pressió osmòtica, detergents, solvents, etc.). Entre els processos mecànics, estudiem l'homogeneïtzació, la seva eficàcia i la selecció de l'equip, i la mòlta mitjançant un molí de boles, que són les tècniques més freqüents. Donem exemples dels processos que s'han d'implementar per a la disrupció de les cèl·lules. Cal dir que es dedica una gran quantitat d'energia als processos d'homogeneïtzació, mòlta, etc., que afecten sensiblement l'escandall del producte, com a conseqüència de les quantitats de medi que s'han de tractar i de l'energia específica.

4.1 La membrana cel·lular

S'ha investigat molt sobre la membrana cel·lular, sobretot per les seves propietats de transport actiu. Se'n coneix amb bastant detall l'estructura. Però no se'n deriva una guia directa de com destruir-la. Les cèl·lules més interessants per a l'enginyeria i la manipulació genètica són les procariotes, com ara l'*Escherichia coli.* Aquesta cèl·lula no té nucli i la seva dotació genètica està continguda a l'ADN més o menys lliure en el citoplasma. Avui dia, utilitzem *E. coli* com a organisme clau per modificar-ne l'ADN, transferir-lo i fer-lo expressar.

Els microorganismes i les cèl·lules que s'utilitzen en biotecnologia són molt simples (procariotes), o bé més complexes (eucariotes). La distinció entre elles és l'absència o la presència d'un nucli cel·lular organitzat i envoltat per una membrana nuclear. En la majoria dels casos, són bacteris i llevats. Els bacteris tenen una mida d'1 μm, aproximadament, mentre que les cèl·lules del llevat poden arribar a tenir 10 μm de diàmetre.

La membrana cel·lular té 1 nm de gruix en el cas dels bacteris, i uns 10 nm en el cas dels llevats. La complexitat estructural de la membrana és mínima en el cas de les cèl·lules Gram-positives; més complexa en els bacteris Gram-negatius, i força més complexa i resistent en els fongs i les cèl·lules vegetals. Això es representa a la figura 4.1, on es veuen els diversos embolcalls que en constitueixen la membrana.

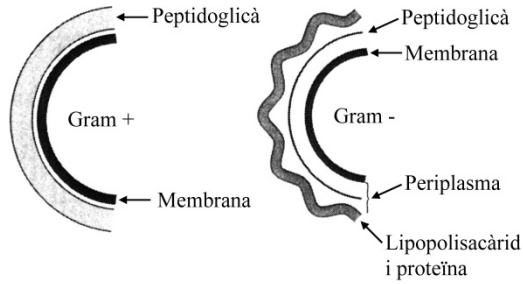


Fig. 4.1 Esquema dels embolcalls cel·lulars dels bacteris, els llevats i els fongs que es fan servir en biotecnologia. El gruix dels embolcalls dels bacteris és de 10 nm. El gruix dels llevats és 100 nm. Font: Belter *et al.* (1987)

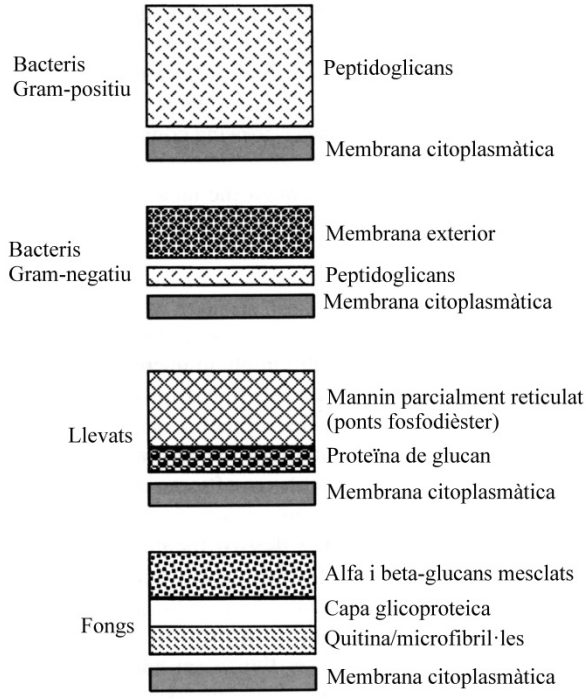


Fig. 4.2 Estructura detallada de la membrana plasmàtica, que mostra la doble capa de fosfolípids i les cadenes hidrofòbiques. Font: García *et al.* (1999): *Bioseparation Process Science*

Els microorganismes més senzills son els bacteris Gram-positius, que tenen una capa lipídica interna de fosfolípids, i, a fora, una capa externa de proteïna o polisacàrid anomenada *mureïna*. Els bacteris Gram-negatius tenen dues capes de fosfolípids (interna i externa) amb un rebliment de mureïna. Les capes de fosfolípids són hidrofòbiques, i, per a ser ser solubilitzades amb aigua, cal l ´'acció d´'un detergent potent, que dissolgui o emulsifiqui les capes olioses (v. taula 4.1).

Com s'ha dit, els llevats són de mida més gran (10 μm). La membrana té diverses capes: la interior és lipídica i les altres es basen en glucan i mannan (dos polisacàrids) amb inclusions de proteïna entremig (v. figura 4.2). Com és ben sabut, la dissolució dels polisacàrids és difícil d'acomplir (penseu en el procés de fabricació de pasta de paper i cel·lulosa a partir de la fusta); per tant, en els llevats, és més difícil desmuntarne la membrana. A vegades, es recorre a la digestió enzimàtica com una operació especial. Asenjo *et al*., (1985) descriuen un model de digestió enzimàtica de membranes de llevats com una operació unitària més.

A la figura 4.3 es representa un esquema d'estructura detallada de la membrana plasmàtica. S'hi veu un ordenament vertical de cadenes de fosfolípids amb una zona comuna de cadenes hidrocarbonades hidrofòbiques i uns caps inferiors i superiors de grups hidrofílics (zwitterions). Incloses a la membrana, hi ha proteïnes globulars que tenen funcions específiques, possiblement relacionades amb el transport de sucres, aminoàcids, aigua i ions, a través de la membrana.

Taula 4.1
Tècniques de ruptura cel·lular (Belter *et al*., 1988)

Mètodes	Tècnica	Fonament	Agressió al bioproducte	Cost	Exemples
Químics					
	Xoc osmòtic	Pressió interna	Suau	Poc cost	Ruptura de glòbuls rojos
	R. enzimàtica	Digestió paret	Suau	Car	*Micrococcus Lysodeikticus* amb lisozim d'ou
	Solubilització	Detergent	Suau	Bastant car	Sals biliars sobre *E. coli*
	Dis. de lípids	Solvent orgànic	Moderada	Poc car	Disrupció de llevat amb toluè
	Tractament alcalí	Hidròlisi de lípids	Violent	Poc car	
Mecànics					
	Tall (ganivets)	Túrmix/ Minipímer	Moderat	Moderat	Teixits animals i cèl·lules
	Mòlta	Molí amb abrasius	Moderat	Poc car	
	Sonicació	Cavitació amb ultrasons	Violent	Car	Suspensió de cèl·lules a escala de lab.
	Homogeneïtzació	Cisalla, cavitació	Violent	Moderat	A gran escala, excepte bacteris
	Molí de boles	Cèl·lules trencades, boles (vidre, acer)	Violent	Poc car	A gran escala de suspensions de cèl·lules i teixits vegetals

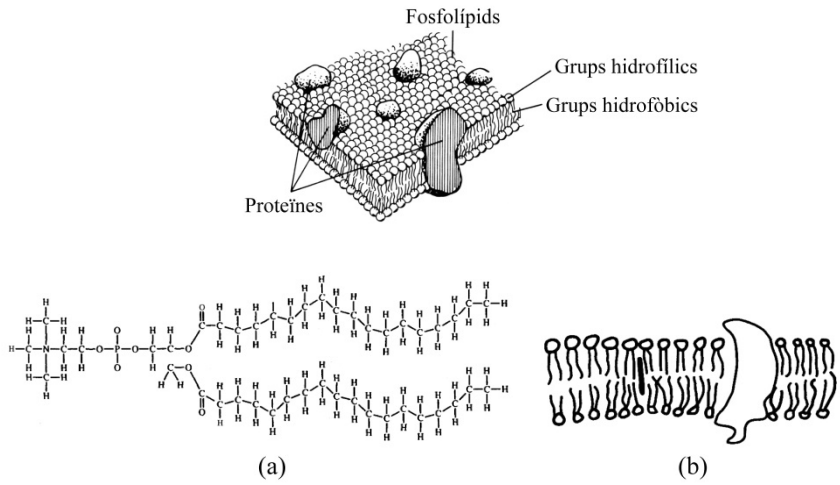


Fig. 4.3
a) Molècula de fosfolípid que mostra l'extrem iònic i les cadenes hidrofòbiques. *b*) Disposició més o menys ordenada. Les molècules són de 2,5 nm. Vegeu la inclusió de colesterol (barra negra vertical) i la inclusió de proteïna. Font: Harrison *et al.* (2003): *Bioseparation Science and Engineering*. Oxford University Press

4.1.1 Resistència mecànica de la membrana: Osmosi i xoc osmòtic

Un mètode senzill de fer explotar les cèl·lules és posar-les en contacte amb una dissolució hipotònica, de forma que la pròpia membrana cel·lular actuï de membrana semipermeable, absorbint aigua cap endins de la cèl·lula. Són dissolucions de diferent concentració, que entren en contacte a través d'una membrana i bescanvien solvent, cosa que genera una pressió al costat d'alta concentració. Aquest pas d'aigua equilibra els potencials químics del component aigua als dos costats de la membrana. La pressió generada s'anomena *pressió osmòtica*. La pressió osmòtica és una propietat col·ligativa de les dissolucions líquides, separades per una membrana semipermeable. Recordeu que les propietats col·ligatives depenen del nombre d'espècies en la solució.

Volem calcular la pressió osmòtica (v. figura 4.4). L'aigua pura i l'aigua de mar estan separades inicialment per una membrana semipermeable, de manera que les seves pressions són iguals. Però, quan s'ha assolit l'equilibri d'osmosi, al costat de la solució de l'aigua de mar (esquerre) hi ha una pressió p_1 superior, mentre que al costat de l'aigua pura (dret) hi ha una pressió p_2. Al moment de l'equilibri, hi ha una pressió $p_1 > p_2$, en què la diferència $p_1 - p_2 = \Pi$

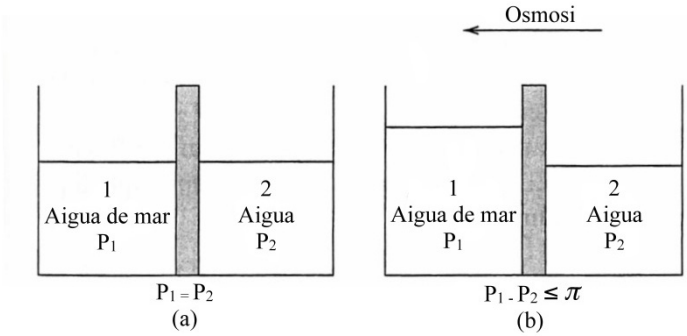


Fig. 4.4
El contacte a través d'una membrana semipermeable de dos solucions (una d'aigua de mar i l'altra d'aigua pura) provoca el transport d'aigua pura, que tendeix a diluir la més concentrada fins a la pressió osmòtica d'equilibri

Designem per 2 el component aigua i per 1 la sal. Considerem ara que les dissolucions són ideals i calculem el potencial químic de l'aigua (2) als dos costats de la membrana. Una mescla líquida és ideal quan la dependència del potencial químic de la composició és del tipus $\mu_2 = G_2 + R_g T \ln x_2$, on G_2 és el potencial del component 2 quan és pur, i està a p i T (Smith-Van Ness, 1987). Així, a temperatura constant T, tenim:

a) El potencial químic del component 2 en la dissolució a fracció molar = x_2 serà:

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

b) El potencial químic de l'aigua, component 2, a l'aigua pura, $x_2 = 1$, serà:

$$\mu_2 = G_2(T, p_1) + R_g T \ln 1 \tag{4.2}$$

on les G_2 de l'aigua corresponen a l'estat de referència de l'aigua pura líquida a T, a p_1 i p_2, respectivament, en què $p_1 > p_2$.

D'on, igualant els potencials de l'aigua (2) als dos costats de la membrana, resulta:

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

Tenint en compte que la derivada de G_2 és volum molar parcial de l'aigua pura, tindrem:

$$\left(\frac{\partial G_2}{\partial p}\right)_{T, n_1, n_2} = V_2 \tag{4.4}$$

Com que l'aigua líquida és incompressible, V_2 és independent de la pressió; així doncs, tindrem:

$$R_g T \ln x_2 = V_2(p_2 - p_1) = -V_2 \Pi \tag{4.5}$$

Com que la solució és binaria, $\ln x_2 = \ln (1 - x_1)$. Desenvolupant ln en sèrie i prenent $\ln (1 - x_1) \sim (-x_1)$, ja que la x_1 és petita:

$$\Pi = R_g T \frac{x_1}{V_2} = R_g T C_1 \tag{4.6}$$

que és l'expressió de van't Hoff de la pressió osmòtica, vàlida per a solucions diluïdes, on C_1 és la concentració molar del solut en kmol/m^3, T és la temperatura absoluta en K, R_g = 0,0831 bar m^3/(kmol K) i Π serà la pressió en bar. Si les solucions no són ideals, la variable x_2 s'ha de substituir per $\gamma_2 x_2$, on γ_2 és el coeficient d'activitat de l'aigua a la solució concentrada.

Volem saber quina és la concentració efectiva de les sals i els soluts dins les cèl·lules. Tenint en compte la vida de les espècies marines, la concentració a les cèl·lules ha de ser similar a la salinitat de l'aigua de mar, a fi de mantenir l'equilibri de la membrana cel·lular. La salinitat de l'aigua de mar es pren com el 3,45 % NaCl. S'estima que la concentració citoplasmàtica de soluts és de l'ordre de 0,2 M (Belter *et al.*, 1988), és a

dir, una pressió osmòtica de > 10 bar enfront d'aigua pura. L'exemple següent en dóna un valor més precís.

Exemple 4.1 Pressió osmòtica de les cèl·lules.

Una anàlisi aproximada del contingut cel·lular ens diu que el citoplasma conté un 5% en pes soluts, del qual un 1 % és proteïna de pes molecular 45.000; un 1 %, lípids solubles de pes molecular 400; un 1 %, sucres de pes molecular 170, i un 2 %, sals com ara KCl (PM 74,5 g/mol). Calculeu la pressió osmòtica del fluid a l'interior de la cèl·lula respecte a aigua pura a 37ºC (310 K).

Recordeu que les propietats col·ligatives depenen del nombre de partícules dissoltes; per tant, hem de considerar els mols de cada component, incloent-hi els de cada ió, quan tinguem una sal ionitzable. Suposem que la densitat és d'1 kg/L. La concentració de cada component serà:

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

Per al KCl (PM 74), suposem que la sal està completament ionitzada; per tant, un mol de sal dóna un mol de K^+ i un mol de Cl^-, és a dir, dos mols de partícules; per tant, per al KCl, $\Pi=2\times RTC_{\alpha\kappa}=2\times0{,}0831\times(37+273)\times0{,}27=13{,}9 bar$

En resum, tindrem:

	Pes molecular, PM	**% de pes**	**Conc. molar, M**	**Pressió osmòtica, bar**
Proteïna	45.000	1 %	$0{,}222\times10^{-3}$	0,006
Lípids	400	1 %	0,025	0,64
Sucres	170	1 %	0,058	1,49
KCl	74	2 %	0,27	13,9
			TOTAL	*16,03 bar*

La pressió osmòtica total davant d'aigua pura és, doncs, de 16,03 bar.

Exemple 4.2 Determinació del pes molecular per osmometria.

El mesurament de la pressió osmòtica de solucions que contenen proteïnes i altres macromolècules és un mètode relativament senzill i ràpid per determinar el pes molecular d'una macromolècula. Un exemple és el de l'hemoglobina (Hb). Es pesen 4 g de Hb en un matràs aforat i s'enrasa a 100 cm^3 amb aigua destil·lada. Es posa a l'aparell d'osmosi a 25ºC i es registra una pressió de 1.600 Pa relativa a aigua pura. Calculeu, a partir d'aquest experiment, el pes molecular de l'hemoglobina, suposant que la solució és prou diluïda.

$$\Pi=R_gTC=R_gT\frac{C_w}{M}$$

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

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

Tanford (1961) reporta per la Hb un PM = 67.000, mesurat per osmometria extrapolant a dilució infinita. El mateix autor dóna un PM de 60.000 a partir del coeficient de sedimentació en ultracentrífuga.

Xoc osmòtic. El xoc osmòtic s'utilitza per obtenir hemoglobina de la sang humana o d'altres animals. Les cèl·lules roges tenen una membrana molt senzilla i són isotòniques davant de NaCl a 0,3 M a temperatura ambient (300 K).

4.2 Ruptura cel·lular amb reactius químics

Els mètodes químics de disrupció es basen en la possible reacció de la membrana davant dels agents següents. En primer lloc, la pressió interna, que es pot augmentar posant en contacte les cèl·lules amb solucions salines hipotòniques, com acabem de veure. En segon lloc, tres tipus de solvents químics: un és el cas dels solvents aromàtics (com benzè el i el toluè), que dissolen els greixos de la membrana; els altres tipus d'agents són els tensioactius, que no són exactament dissolvents però que emulsionen la membrana. I un quart tipus, més agressiu, són els àlcalis (la sosa, la potassa), que hidrolitzen els lípids. Un altre tipus cel·lular d'acció és degut als enzims i als antibiòtics.

4.2.1 Detergents

Generalment, els tensioactius no iònics i aniònics són capaços de trencar la membrana cel·lular animal. Són més dràstics els tensioactius aniònics que contenen grups -SO_3- o -COO-. Els que són no iònics, es basen en grups polietoxietanol a l'extrem hidrofílic i s'obtenen per addició d'uns 10 mols d'òxid d'etilè a l'extrem de la cadena hidrocarbonada (octil- o nonilfenol, per exemple). Els típics són el Triton-X 100, el Tween-20, etc., que tenen un cert renom en biologia i una àmplia aplicació industrial. La dosi efectiva de detergent és molt petita, per exemple, de 0,1 % a 0,3 % de Triton-X 100 per a 50 milions de cèl·lules/cm^3. Tant amb Triton com amb els sulfonats o els sulfats, s'ha de controlar l'espuma i també afegir glicerol per estabilitzar les proteïnes. La utilització de tensioactius es basa en proves experimentals, tant per seleccionar el millor tipus com per determinar-ne la dosi.

4.2.2 Solvents

Especialment per a les eucariotes, s'han emprat solvents a fi de trencar la membrana. Sobretot, s'ha utilitzat toluè, però a vegades no és molt efectiu amb els llevats. Amb cèl·lules animals, s'ha utilitzat acetona, que a més contribueix a la precipitació de les proteïnes i provoca el que s'anomena "pols de proteïna" després de l'assecatge. El procés es fa a 0ºC, en què les proteïnes retenen la conformació nativa. La pols es pot guardar i després dissoldre en un tampó escalfant-la lleugerament.

4.2.3 Enzims i antibiòtics

Per als bacteris, es fa servir lisozim per digerir la paret cel·lular, el qual permet el xoc osmòtic posterior. La utilització de lisozim es fa a una concentració d'1 g/L. S'empra lisozim preferentment a d'altres enzims, com les proteases i les hidrolases.

Pel que fa als antibiòtics, es poden fer servir les penicil·lines per a les cèl·lules procariotes. La simple incubació d'una població bacteriana durant unes quantes hores per sobre de la concentració mínima d'inhibició produeix divisions cel·lulars en què la síntesi de la paret cel·lular està inhibida, i el cultiu cel·lular consistirà bàsicament en protoplasts.

4.3 Disrupció mecànica

La ruptura mecànica es fa a escala de laboratori amb diversos estris: Dounces, Minipimer™, ultrasons, molí vibrant, etc., però el consum unitari de potència és tan gran que no es pot extrapolar a les operacions industrials. Per exemple, el sonicador desenvolupa una potència de 500 kW/m^3, impensable en gran.

Industrialment, la disrupció mecànica es realitza per homogeneïtzació o per mòlta en un molí de boles. La primera tècnica –l'homogeneïtzació– es fa en un aparell en continu, mentre que la mòlta es fa generalment per càrregues. A continuació, en referim a aquests dos processos.

4.3.1 Homogeneïtzació

L'instrument de laboratori és la vàlvula que es representa a la figura 4.5, que conté els elements de la màquina industrial: una restricció per on es fa circular el brou de les cèl·lules des d'una bomba contra el seient d'un pistó sotmès a una pressió fixada amb la molla i el cargol d'ajustament. La versió industrial contínua es representa esquemàticament a la figura 4.6. Consisteix en una bomba de pistons, un bescanviador de calor i una vàlvula de contrapressió on té lloc l'expansió del fluid a pressió atmosfèrica. La vàlvula permet controlar la caiguda de pressió a la vàlvula. A vegades, el bescanviador de calor va després de l'expansió, però es pot posar primer. Els elements del procés de compressió i expansió són una bomba a 500-1.500 bar multicilíndrica, amb cabals d'uns 10 m^3/h, i cavitació induïda al seient de la vàlvula amb una velocitat del fluid d'uns 300 m/s. L'eficàcia de l'homogeneïtzador es defineix, respecte de la proteïna específica que es vol alliberar, com la fracció:

$$R = \frac{\text{Cèl·lules trencades}}{\text{Cèl·lules totals}} \tag{4.7}$$

Ho podem referir també a la proteïna alliberada. Així, després de passar per l'homogeneïtzador, calcularem R en funció de les concentracions de proteïna alliberada i màxima com:

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

en què el numerador és la concentració de proteïna alliberada en un pas.

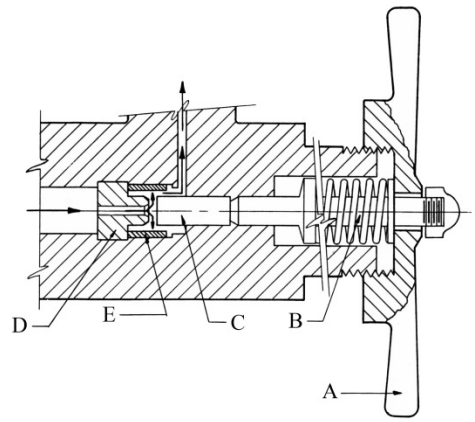


Fig. 4.5
Vàlvula d'homogeneïtzador d'alta pressió. *a*) Control de la pressió. *b*) Molla de compressió. *c*) Vareta de la vàlvula. *d*) Seient. *e*) Anell d'impacte. Font: Engels (1994): *Protein Purification Process Eng.*

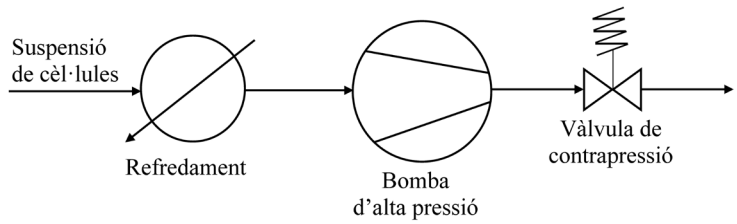


Fig. 4.6
Esquema d'un homogeneïtzador continu. Refredador a 0-4ºC, bomba de pistons, alimentació de 100 a 1.500 bar, vàlvula d'alta pressió (velocitat del fluid ~300 m/s)

Cinètica de disrupció. L'extensió del procés depèn de la pressió; del nombre de passos, N, a través de la vàlvula; del disseny de la vàlvula, i, en menor grau, de la temperatura. També depèn del microorganisme i les seves condicions de creixement. Engler indica els efectes del nombre de passos i diferents caigudes de pressió a la figura 4.7. De la figura, queda clar que el procés és lineal amb N. A la figura 4.8, s'indiquen els efectes de la disrupció segons els tipus de cèl·lules *S. Cerevisiae* o *Candida utilis*, en funció de la caiguda de pressió. A la figura 4.9 es mostra la dependència de la constant de primer ordre respecte a la pressió total. Vegeu-ne les equacions següents. Dels estudis d'Engler (1980-1990), es resumeixen els efectes següents de les variables. La cinètica és de primer ordre respecte al nombre de passos per la màquina, N (v. Fig. 4.7), amb una constant cinètica de primer ordre, K. La constant de primer ordre depèn exponencialment de la caiguda de pressió, Δp (v. figura 4.8), és a dir:

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

on l'exponent *a* bé donat pel tipus de microorganisme i la màquina (v. taula 4.2), que varia entre 0,8 i 2,9.

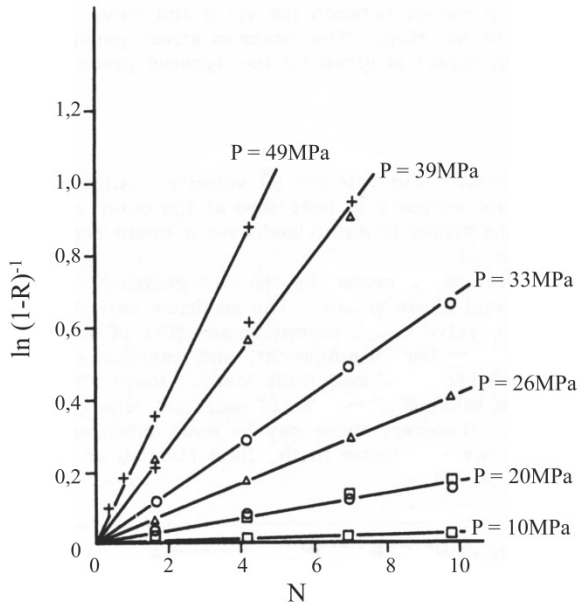


Fig. 4.7 Cinètica de ruptura de primer ordre de llevat en funció del nombre de passos N i la caiguda de pressió (Δp, en MPa). Font: Engler (1999)

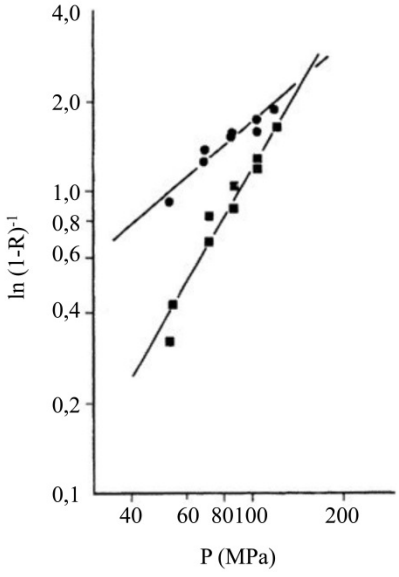


Fig. 4.8 (esq.) Ruptura de *S. cerevisiae* (cercles) i de *C. utilis* (quadrats) cultivades en continu en condicions iguals. Font: Engler (1999)

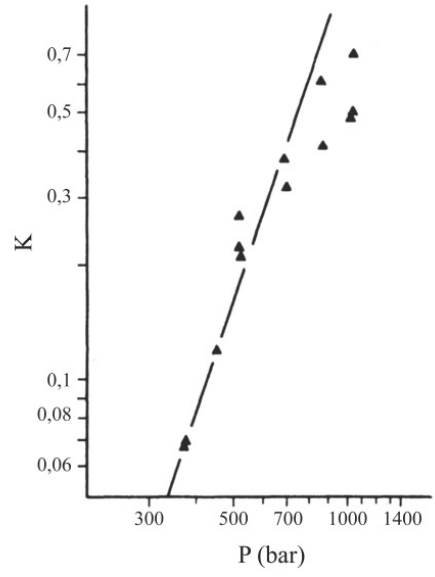


Fig. 4.9 (drta.) Ruptura de llevat. Constant de disrupció K en funció de la pressió. Font: Engler (1999)

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

on l'exponent *a* bé donat pel tipus de microorganisme i la màquina (v. taula 4.2), que varia entre 0,8 i 2,9.

Microorganisme	Exponent a
Llevat de pa*	2,9
*Bacillus brevis**	1,8
*E. coli**	2,2
Candida utilis	1,8
S. cerevisiae	0,86
Bacillus subtilis	1,07

*Homogeneïtzador de Manton-Gaulin APV

Taula 4.2
Valors de l'exponent de la pressió a de l'homogeneïtzador (Engler, 1987)

Tenint en compte com hi influeixen els factors, podem escriure una equació cinètica empírica de la forma següent, que relaciona la R (v. equació 4.7) amb el nombre de passos, N:

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

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

on les unitats de -ΔP són bar i les de K´ són bar $^{-a}$. Alguns autors inclouen un denominador, ΔP_0, com a paràmetre, a l'equació anterior:

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

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

on $(1\text{-}R)^N$ representa les cèl·lules que queden per trencar després de N passos. Normalment, a la indústria, N = 2 com a màxim. Vegeu a l'exemple 1.3 com es manegen les equacions.

4.3.2 Termodinàmica

Ens referim a l'esquema de la figura 4.6 pel que fa al procés d'homogeneïtzació en una màquina comercial. Es tracta d'un sistema a flux continu, en què hi ha una compressió adiabàtica (bombament del líquid) i una expansió a la vàlvula. Ambdós processos són irreversibles i fan un consum net d'energia. Primer, calculem l'escalfament a la vàlvula de disrupció de laminat.

Escalfament a la vàlvula. L'experiència mostra un escalfament apreciable durant l'expansió, que cal controlar, ja que moltes proteïnes poden desnaturalitzar-se per sobre dels 35ºC. Sigui p_1- p_2 la caiguda de pressió a la vàlvula. Apliquem l'equació de l'energia mecànica (Bernoulli) a dos punts hipotètics: 1 abans de la vàlvula i 2 després, de manera que les elevacions i les velocitats del fluid siguin iguals en aquests dos

punts. No hi ha vaporització d'aigua i la densitat del líquid és aproximadament constant. L'energia mecànica perduda en la fricció, -ΔE (J/kg), valdrà:

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

que correspon a la pèrdua de càrrega del fluid que es transforma en calor. Aquesta calor s'utilitza per escalfar el líquid adiabàticament (no hi ha refrigeració de la vàlvula). Amb les hipòtesis anteriors, l'escalfament de T_1 a T_2 valdrà:

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

d'on l'escalfament del fluid a la vàlvula es pot calcular com:

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

en què C_p és la calor específica del líquid, $C_p = C_v = 4.184$ J/kg°C, i ρ, la seva densitat,1 .000 kg/m^3; p_1 i p_2 són les pressions abans i després de la vàlvula, en Pa. Amb les dades de pressió de la màquina, es pot estimar aquest escalfament i si cal instal·lar-hi un bescanviador de calor per compensar-lo. Vegeu que, a la figura 4.6, el bescanviador és situat abans de la vàlvula.

Potència del homogeneïtzador. Considerarem que el fluid passa per la bomba de manera isotèrmica, és a dir, negligim el petit augment de T. Per calcular la potència de la bomba, apliquem la primera llei en flux continu estacionari, de forma completa. Entre les brides 1 i 2 de la bomba, tindrem:

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

on W és el treball mecànic fet per la bomba. En el nostre cas, Q = 0, perquè no escalfem el fluid externament. Posant l'entalpia en funció de l'energia interna i la pressió, ΔH = ΔU+Δ (pV), el treball comunicat a 1 kg de fluid serà:

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

i, amb les hipòtesis habituals ($u_1 = u_2$, $z_1 = z_2$), la potència comunicada a m´ kg/s de líquid serà:

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

Suposant un rendiment del 75 % de la bomba, se'n pot calcular la potència:

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

en què les pressions s'expressen en Pa; ρ, en kg/m^3, i la potència, en W.

Exemple 4.3 Selecció d'un homogeneïtzador i condicions de treball.

Unes proves amb el nostre homogeneïtzador de cèl·lules indiquen que recuperem un 40 % per pas d'una proteïna amb una caiguda de pressió de 400 bar. La proteïna es desnaturalitza a partir dels 35 ºC. Suposem a = 3.

1. Calculeu el nombre de passos de la suspensió per la màquina per tal de recuperar-ne el 95 %, amb pressions de treball de 400, 600, 800 i 900 bar.

2. Calculeu l'augment de temperatura per pas del fluid a la vàlvula.

3. Suposem que volem tractar el volum del nostre fermentador (100 m^3) en un dia en continu, amb un homogeneïtzador comercial. Escollim una caiguda de pressió de 800 bar. Sospitem que consumirà molta potència. Calculeu la potència de l'homogeneïtzador si el rendiment de la bomba és del 75 %.

1. Primer calculem els paràmetres de l'equació:

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

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

$$Pot=\frac{\Delta p\ m}{\rho\ 0,75}=\frac{800\times10^5\times1,16}{1.000\times0,75}\approx 123.700W=124kW$$

per a N = 1, recuperem el 40 %; així doncs, podem avaluar K:

$$1-0,4=\exp\left[-K\times1\times400^3\right]$$

$$K=-\frac{\ln 0,6}{400^3}=7,9\times10^{-9}$$

Amb aquesta K, per a una recuperació del 95 %, a 400 bar, necessitarem fer els passos següents:

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

d'on obtenim:

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

Repetint el càlcul per a diferents pressions, tenim:

Caiguda de pressió de la vàlvula, bar	Passos necessaris, N
400	6
600	2
800	1
1.000	menys d'un pas

2. Vegem ara l'escalfament a cada pressió de treball. Per a 600 bar, tindrem:

$$T_2 - T_1 = \frac{p_2 - p_1}{\rho C_p} = \frac{600 \times 10^5}{1.000 \times 4,184} = 14,3°C$$

Els augments de T a la vàlvula per a les diferents pressions, per a $C/C_{màx} = 0,95$, seran:

ΔPressió, en bar	ΔT_v, en ºC
400	9,5
600	14,3
800	19,0

Cal fer atenció ja que, a la temperatura d'entrada a la vàlvula, s'hi suma ΔT_v, i T_2 no pot superar els 35ºC per no desnaturalitzar la proteïna. S'haurà d'instal·lar un bescanviador de calor per refredar la suspensió abans d'entrar a la vàlvula.

3. Tot el volum del fermentador s'ha de tractar en 24 hores a l'homogeneïtzador. Així doncs, per a una pressió de 800 bar, la potència absorbida per la bomba per tractar m' = 100 t/d = 1,16 kg/s seria:

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

que és molt gran però ens permet fer l'operació en un sol pas. La decisió final és un òptim econòmic.

4.3.3 Molins de boles

En el sector, es fan servir els molins de boles, en general, per disgregar sòlids i reduir-los fins a pols impalpable. Per als sòlids més difícils de moldre s'utilitzen molins de boles d'esteatita de fins 2 o 2,5 polzades de diàmetre o d'altres materials de gran duresa (vidre dur, òxid d'alumini, silicat o òxid de zirconi, etc.). Per als microorganismes, els molins de laboratori són de boles de vidre més petites, de 0,2 a 1,5 mm de diàmetre. Els molins acostumen a ser horitzontals i els agitadors coaxials giren a una velocitat perifèrica a uns 10 m/s. La figura 4.10 il·lustra, de manera esquemàtica, un aparell d'aquests. I la figura 4.11 mostra amb detall els agitadors del molí i els ganivets que fan la feina. La cambra de mòlta és plena de suspensió i boles en un 90 %.

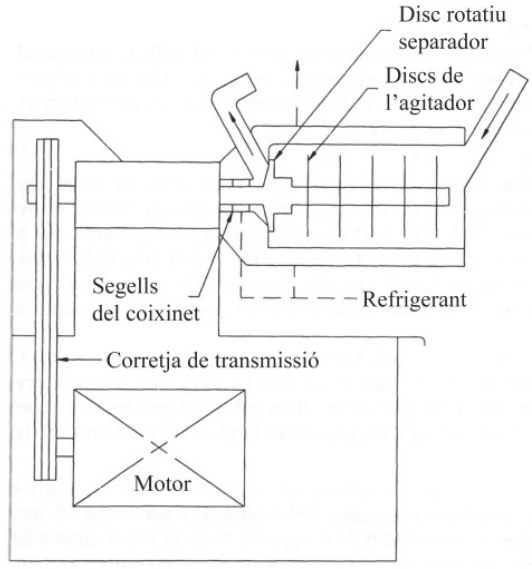


Fig. 4.10
Disposició d'un molí de boles que s'empra en biotecnologia (Dyno-Mill™ Bachofen, Basilea). El tambor mesclat per l'agitador pot tenir de 6 a 600 L, amb boles de 0,3 a 2,5 mm

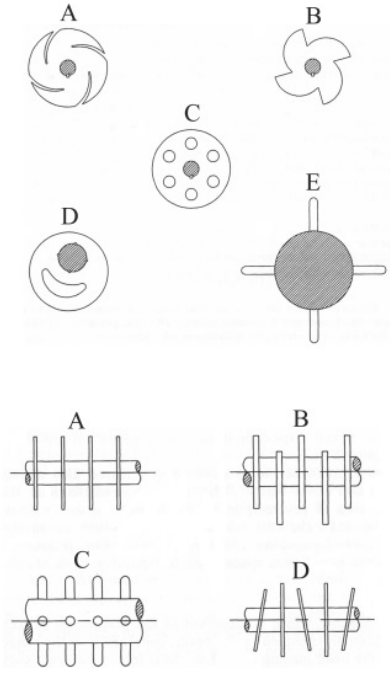


Fig. 4.11
Elements d'agitació i de tall muntats sobre l'eix d'un molí de boles

Per al nostre treball, ens interessen tres aspectes dels molins: el temps d'operació necessari, la potència que s'hi ha de subministrar i el temps i la temperatura d'escalfament en el cas d'una operació adiabàtica.

El temps d'operació és de l'ordre dels 10 minuts (no gaire més) i es pot estimar a partir de l'equació següent. Per a molins que treballen *per càrregues*:

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

I, per a molins que treballen en *continu amb flux de pistó*, amb n elements en sèrie:

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

on t_m és el temps mitjà d'estada del fluid en el molí i n és el nombre d'elements de mescla en sèrie (aproximadament, el nombre d'agitadors). En realitat, n i k s'han de determinar experimentalment a partir d'un estudi amb traçadors aplicat al molí.

L'eficàcia del molí depèn dels factors següents: disseny de la cambra de mescla, velocitat de rotació, grandària de les boles, temps d'estada i temperatura, i microorganisme.

A l'exemple següent, es mostren alguns càlculs bàsics del molí de boles.

Exemple 4.5 Disrupció de cèl·lules de llevat de pa en un molí de boles.

A la nostra planta pilot, tenim un molí de boles Dyno-Mill™ de la sèrie KD 6, que té les característiques següents:

Té un motor d'inducció trifàsic de 15 kW de potència nominal, a 380 V, que té un rendiment elèctric del 87 % (Klöckner-Moeller, 1976). La capacitat del molí és de 6 kg de líquid i té una massa de carcassa més un agitador de 20 kg. L'arrossegament del molí s'endú un altre 2 % de potència del molí. Pràcticament el 100 % de la potència elèctrica comunicada es fa servir en arrossegament i la fricció de les boles i el líquid. Tingueu en compte que un molí de boles treballa amb una cambra plena en un 85-90 % de boles i suspensió de cèl·lules. Suposeu, a més, que la distribució de la calor dins del molí escalfa tots els objectes presents igualment i a la mateixa temperatura.

1. Suposant que el rendiment de mòlta pròpiament dit és negligible, calculeu el cabal d'aigua de refrigeració que gastarà el molí, si opera a una temperatura constant de la biomassa de 20ºC.

2. Si la constant de primer ordre de disrupció del molí a 20ºC és de $k = 6{,}6 \times 10^{-3}\ s^{-1}$, calculeu el temps que tarda amb la refrigeració en funcionament a assolir el 98 % de disrupció de les cèl·lules del llevat.

3. Volem saber (per seguretat) si, arrencant el molí a 4ºC i fallant la refrigeració, disposaríem de temps suficient per salvar la proteïna que estem produint. Aquesta proteïna es desnaturalitza a partir dels 35ºC; per tant, ens interessa calcular el temps que es triga a assolir aquesta temperatura quan el molí treballa sense refrigeració.

1. La potència mecànica neta que es dissipa per fregar les cèl·lules serà:

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

Si treballem a una temperatura i una pressió constants, el balanç d'energia ens indica el treball del motor que s'utilitza en generar calor gairebé totalment:

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

Per tal que ΔU = 0, s'ha de retirar una quantitat de calor de

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

El cabal de refrigeració del molí, si la temperatura inicial de l'aigua és de 15ºC i la final, de 35ºC, serà:

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

d'on el cabal d'aigua és de m' = 0,152 kg/s = 549 L/h, que és considerable per a 6 L de molí, però coherent amb el fet que un molí només escalfa.

2. Vegem ara com funciona el molí a temperatura constant, amb k = 6,6 × 10^{-3} s^{-1} i quan tarda el molí a operar fins al 98 % de ruptura. L'equació cinètica és:

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

i doncs:

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

és a dir, uns 10 min.

3. Ara volem saber la velocitat a què augmenta la temperatura del molí sense aigua de refrigeració, des d'una temperatura inicial de 5ºC. Escrivim el balanç amb diferencials, dT i dt:

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

$$W = 12,75kW$$

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

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

d'on tindrem:

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

Per arribar als 35ºC des dels 5ºC, es necessiten 82 s. Així doncs, és absolutament necessari que la refrigeració funcioni; si no, perdrem la proteïna.

4.4 Consideracions finals

Quan el bioproducte de les fermentacions es troba localitzat en el citoplasma cel·lular, la primera operació que cal fer és destruir l'embolcall cel·lular. Si bé hi ha mètodes químics i biològics per destruir la membrana, per a les grans produccions es recorre a la disrupció mecànica, operació que és també de laboratori. Tanmateix, a gran escala, cal ser molt curosos a l'hora d'estimar, l'energia que es posarà en joc.

La tècnica més corrent és l'homogeneïtzació a alta pressió. Consisteix a comprimir la suspensió que es vol tractar i fer-la expandir en una vàlvula de pressió controlada. Les pressions poden arribar als 1.500 bar. Amb una combinació d'esforços de tall i cavitació a alta velocitat, es té un alt rendiment de ruptura, amb augments de temperatura moderats que, en qualsevol cas, hem demostrat que es poden estimar.

També es fa servir la mòlta en un molí de boles amb refrigeració, que té també una alta eficàcia. Tant a l'homogeneïtzador com al molí, la suspensió de les cèl·lules es refreda a 0º- 4ºC, a fi d'evitar la desnaturalització de les proteïnes. També hem mostrat com es pot calcular l'escalfament que es produeix.

4.5 Notació

a	Exponent
C	Concentració molar, mol/m3
C_p, C_v	Calors específiques a P o V constant, J/kgK
G_2	Energia lliure molar del component 2 pur, J/mol
g	Acceleració gravetat, 9,81m/s^2
H	Entalpia, J/kg
K, K´	Constants eq 2.9
m	Massa, kg
N	Nombre de passos
p	Pressió, Pa
Q	Calor J
Q_f	Calor de fricció, J
R	Eficàcia homogenitzador
R_g	Const.gas ideal, = 8,314 J/mol K
T	Temperatura, K
u	Velocitat, m/s
U	Energia interna, J/kg
V	Volum molar, m3/mol
W	Treball, J
x_2	Fracció molar, component 2
z	Elevació, m

Δp	Caiguda de pressió a la vàlvula, Pa
γ	Coeficient d´activitat,
μ	Potencial químic component 2, a la disolució, J/mol
Π	Pressió osmòtica, Pa
ρ	Densitat, kg/m3

→5

Floculació

Fins ara, hem estudiat operacions mecàniques de separació sòlid-líquid en què les dimensions de partícula eren de la mida de les cèl·lules. Se sotmetien a centrifugació, o bé es trencaven mecànicament a fi d'alliberar-ne el bioproducte que hi havia al citoplasma. Tant en un cas com en l'altre, la dimensió de les partícules no es modificava. Abans o després de la ruptura cel·lular, és interessant incrementar la mida dels fragments a fi de millorar l'efectivitat de la separació sòlid-fluid. Fins i tot és interessant coagular o flocular el brou a fi de concentrar-lo, però abans flocular la suspensió de cèl·lules. Després de la fermentació, el brou no sedimenta de forma espontània, de manera que se n'ha de provocar la inestabilitat. La coagulació/floculació produeix partícules més grans, de fins a 0,5-1 cm de diàmetre o més, que són més fàcils de separar en un filtre, una centrífuga o un sedimentador per gravetat.

Aquest capítol continua amb la lisi cel·lular i el tractament de la suspensió cel·lular del brou. Primer, es fa una introducció general sobre l' estabilitat dels col·loides i, després, dels processos. A continuació, estudia l'estabilitat elèctrica dels col·loides liofòbics, des d'un punt de vista físic. Finalment, s'estudia la coagulació des del un punt de vista químic i s'exposa l'ús dels floculants sintètics que s'empren actualment a la indústria.

5.1 Fonaments de la floculació

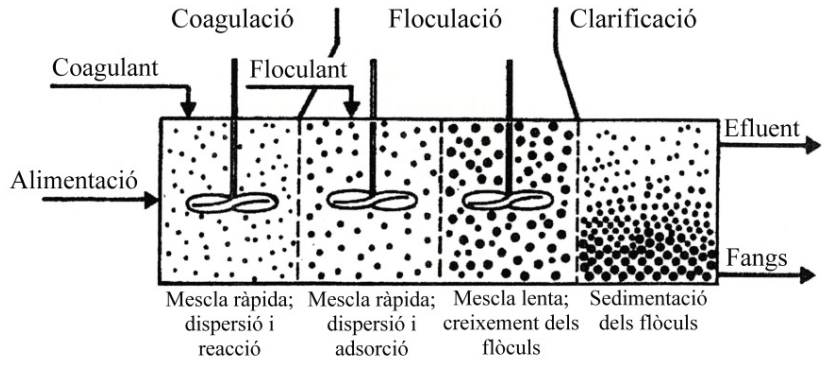
El procés de coagulació o floculació té lloc abans de la sedimentació (per gravetat o en un camp centrífug). A vegades, si no es té en compte que tarda un temps, resulta ineficaç. A la taula 5.1, es resumeixen les mides de les partícules de les suspensions. A la figura 5.1, es representa esquemàticament la seqüència d'operacions que porten al creixement dels flòculs o flocs, abans de sedimentar (o, si és el cas, de centrifugar). El procés es pot dividir en: 1) espesseïment i 2) clarificació en les operacions d'aigües. L'objectiu de l'espesseïment és incrementar la concentració de la matèria en suspensió, mentre que la clarificació cerca l'obtenció d'un fluid clar i transparent.

Taula 5.1
Mides de les partícules en suspensió

Classe de suspensió	Diàmetre
Col·loides	< 0,001 mm
Dispersions	de 0,001 a 0,1 mm
Coagulats	de 0,1 a 1 mm
Floculats	de 1 a 10 mm

En biotecnologia, les partícules petites inicials tenen un diàmetre màxim de 0,05 a 0,1 mm, equivalent a la mida de les cèl·lules. Aquesta suspensió està estabilitzada per càrregues elèctriques superficials. Les partícules no s'agreguen entre elles de forma espontània a causa del moviment brownià. Les cèl·lules tenen, en general, una càrrega negativa o, a vegades positiva a pH neutre. Aquesta càrrega elèctrica és deguda a la membrana cel·lular, que té grups ionitzats. Una altra font de càrrega elèctrica és l'adsorció de ions de la dissolució. Així doncs, els col·loides del brou o del detritus de la lisi cel·lular estan fortament estabilitzats.

Fig. 5.1
Esquema d'operacions de floculació



No hi ha una definició acadèmica que distingeixi la coagulació de la floculació. En la teoria electrodinàmica, la floculació i la coagulació són equivalents. Però, industrialment, sí que hi ha una gran diferència. El dos processos transcorren en sèrie i estan relacionats amb els reactius químics que s'empren per efectuar-los i els aparells on tenen lloc. La figura 5.1 en resumeix esquemàticament els processos i els aparells. La coagulació canvia la càrrega superficial del col·loide, mentre que el floculant estableix ponts entre partícules elèctricament neutres, gràcies a les llargues cadenes polimèriques (formació de ponts entre partícules o *bridging*, en anglès), utilitzant llavors les forces de curt abast (de London, de Van der Waals, els ponts d'hidrogen) per acabar el procés de formació d'un floc més o menys irreversible. Normalment, s'utilitzen coagulants inorgànics (p. ex., sulfat d'alumini), mentre que per flocular s'utilitzen polímers sintètics o naturals solubles en aigua (p. ex., poliacrilamides), que fan la feina de manera espectacular, ja que la mida del flòcul creix ostensiblement, fins a 1-2 cm o més, partint d'una dimensió inicial invisible, de 0,1 mm o menys. La velocitat de floculació és també espectacular (dura uns pocs segons). A la taula 5.2, es mostren els tipus usuals de coagulants pròpiament dits. A la taula 5.3, s'indiquen els tipus químics de polímers

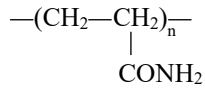
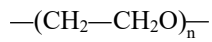
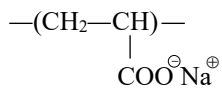
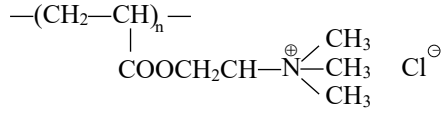
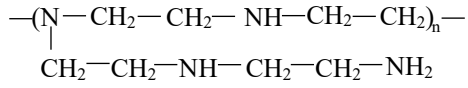
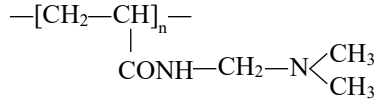
floculants sintètics més importants i copolímers. Amb les partícules de la mida dels flocs, es pot decantar la solució clara en un espesseïdor de tractament d'aigües, sense problemes, separant per fondos uns fangs consistents i l'aigua clarificada pel sobreeixidor.

Taula 5.2
Coagulants industrials i dosificació (Rigola, 1989)

Coagulant	Reactiu comercial	Aplicació	Dosi*, g/m^3
Sulfat d'alumini	$(SO_4)_3Al_2 \cdot 14\ H_2O$	potable residual	30-150 100-300
Sulfat fèrric Sulfat ferrós	$(SO_4)_3Fe_2 \cdot 3\ H_2O$ $SO_4Fe \cdot 7\ H_2O$	potable potable residual	20-60 20-60 200-400
Clorur fèrric 40%	$Cl_3Fe \cdot 6\ H_2O$	potable resid.	5-150 100-500
Calç apagada Policlorur d'alumini Poliamines sol. 1%	$Ca(OH)_2$ $Cl_{3n-m}\ (OH)_mAl_n$ PM < 10^5	resid. potable	100-800 15-100

* per m^3 de suspensió a coagular

Taula 5.3
Floculants orgànics sintètics (Ullmann, 2014)

Tipus	Fórmula	Comentaris
Poliacrilamida		Polímer no iònic principal (molt usat)
Poli (oxid d'etilè)		Polímer no iònic (poc usat)
Poli (acrilat sòdic)		Floculant aniònic, copolímer amb acrilamida
Poli [2-trimetil aminoetil acrilat] clorur		Floculant catiònic, copolímer amb acrilamida
Polietilenimina		Polielectròlit catiònic
Poli [dimetilamino-metil acrilamida]		Polielectròlit catiònic derivat de poliacrilamida i quaternitzat

5.2 L'estabilitat dels col·loides liofòbics

A continuació, es resumeix la teoria més acceptada de l'estabilitat de les suspensions i se'n comenten les conseqüències pràctiques més importants. Els col·loides s'anomenen *liofòbics* per què són insolubles en el solvent, que normalment és aigua. El fet que les partícules col·loïdals floculin o no, depèn de la interacció neta entre dues forces en oposició:

- la repulsió elèctrica entre partícules
- l'atracció entre partícules per forces de curt abast, que no actuen fins que són molt a prop.

La teoria de l'estabilitat, o teoria DLVO, fou desenvolupada per Derjaguin, Landau, Verwey i Overbeek entre els anys 1948 i 1983. És una teoria extensa i de gran profunditat, de manera que aquí en fem un resum (Probstein, 2003).

5.2.1 La doble capa elèctrica

S'anomena doble capa elèctrica la superfície del col·loide envoltada de contraions i coions dispersos en un núvol sotmès a un moviment brownià o convectiu. Aquesta descripció afecta els processos següents de biotecnologia:

- l'estabilitat pròpiament dita del col·loide
- la precipitació de les proteïnes (per efecte salí)
- la floculació,
- l'electroforesi
- l'extracció a una altra fase

La figura 5.2 il·lustra, de manera esquemàtica, el model de doble capa, la capa difusa i la capa de Stern. Els fenòmens electrocinètics d'aquesta figura tenen una gran importància en algunes tecnologies, com ara la fabricació de paper o el tractament d'aigua. La figura 5.3 presenta la distribució de ions en funció de la distància a la superfície del col·loide. La distància λ_D s'anomena *radi de Debye* i es calcula a partir del potencial elèctric ϕ, segons la teoria de Debye-Hückel. Per a un electròlit simètric en aigua a 25ºC, val

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

on F és el Faraday; c és la concentració molar d'electròlit, mol/m^3; z és la càrrega (-1,+1, etc.) λ, en metres, i ε és la constant dielèctrica de l'aigua, en C/(Vm). En funció de la força iònica, I, l'equació 5.1 s'escriu:

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

on el sumatori prové de tots els ions (mol/m^3), a través de la força iònica, que es defineix com,:

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

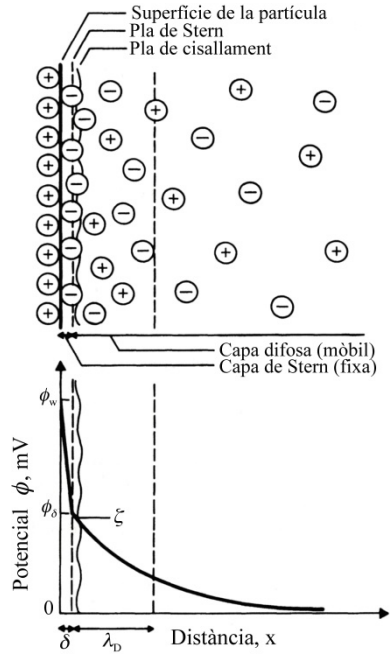


Fig. 5.2 Núvol d'ions positius i negatius prop d'un col·loide positiu. Concentracions i potencial a la distància x

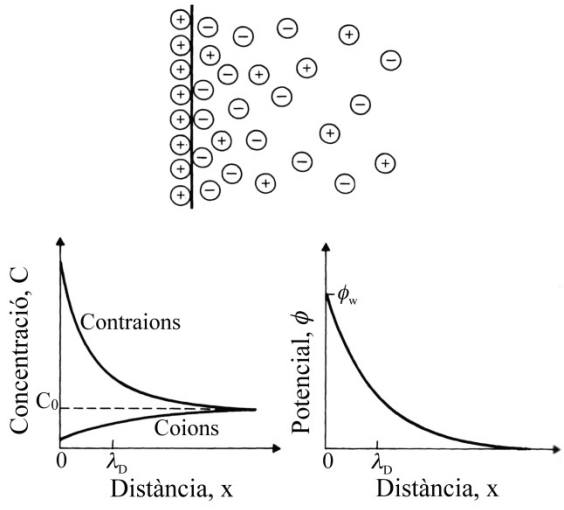


Fig. 5.3
Estructura elèctrica de la doble capa. Vegeu la capa de Stern, el pla de cisallament i la capa difusa. δ és el gruix de la capa de Stern i λ_D és el radi de Debye. El potencial sobre la interfase sòlid-líquid és el potencial Zeta. Els ions de la capa difusa són mòbils

L'ordre de magnitud del radi de Debye és d'1 nm. Fent les aproximacions necessàries (v. teoria de Debye-Hückel), es calcula el potencial elèctric en funció de x, a partir de l'equació de Poisson de l'electrostàtica, amb les condicions de contorn adequades. El resultat és el següent:

$$\phi(x) = \phi_w \exp(-x/\lambda_D) \tag{5.4}$$

que dóna la distribució de potencial (V) amb la distància, x, des del col·loide, essent w la condició de la paret. L'altra condició es refereix a l'asímptota a x infinit (v. figura 5.3).

Fins aquí s'han considerat càrregues puntuals. Amb càrregues elèctriques de dimensions reals dels ions, s'observen els fets següents. A la figura 5.4, es dóna la configuració de la doble capa amb els diferents potencials. La capa interior que és més a prop de la superfície s'anomena *capa de Stern* o *pla de Stern de la capa difusa* (v. figura 5.3). Sobre el pla de Stern, hi ha el potencial superficial, potencial ζ, o Zeta (terminologia d'aigues i tecnologia paperera) de la capa de sòlid en contacte amb el fluid durant la cisalla del fluid amb el moviment. Aquest valor és important en algunes operacions industrials de col·loides, com ara en determinar les propietats elèctriques de formació d'un full de paper a l'entrada de la màquina de paper, i que s'anomena potencial Zeta en la tecnologia d'aigües i en la paperera. El valor de Zeta depèn de la força iònica. Si la força iònica augmenta, s'apantalla més la superfície i zeta disminueix. En realitat, el col·loide tendeix a flocular quan el potencial Zeta disminueix (posició b de la figura 5.6) fins a zero i es fa negatiu, per efecte dels contraions introduïts pel coagulant. Quan el potencial zeta es fa negatiu, la superfície deixa de repel·lir les partícules veïnes i, llavors, les forces d'atracció de curt abast (de London, Van der Waals, etc.) poden actuar i eventualment provoquen la floculació.

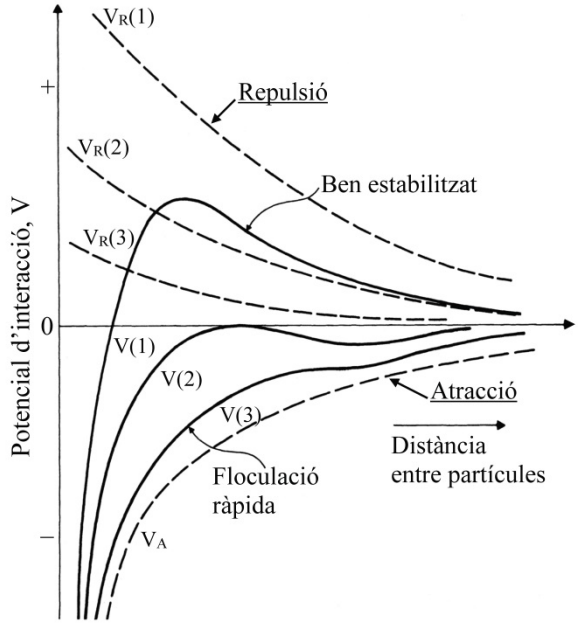


Fig. 5.4
Energia potencial del sistema de partícules i ions. V_R (de punts) són els potencials de repulsió que estabilitzen el col·loide. De V(1) a V_A, potencials d'atracció. Les línies contínues són la suma neta del sistema

A la figura 5.4, que representa l'energia neta d'interacció d'unes quantes partícules esfèriques, les línies de punts assenyalen els potencials d'atracció i de repulsió, d'acord amb la distància entre partícules. Probstein (2003) fa el càlcul detallat, seguint la teoria DLVO, d'aquests potencials, la diferència (línies contínues) i les zones d'estabilitat i de quasifloculació (p. ex., el petit mínim de la corba V(2)). Per aquest potencial, el sistema comença a ser inestable i la floculació es produeix de manera ràpida. La figura 5.4 dóna, doncs, la suma algebraica dels potencials de repulsió i atracció. A la figura 5.5 es veu com el potencial zeta es fa més negatiu en incrementar la concentració de contraions. A la figura 5.6, deguda al tractament de col·loides de l'aigua potable, es veu com el potencial Zeta que s'ha fet negatiu incrementa fins a zero amb la dosi de coagulant, però ho fa de forma diferent segons si l'aigua conté uns col·loides que l'estabilitzen o uns altres.

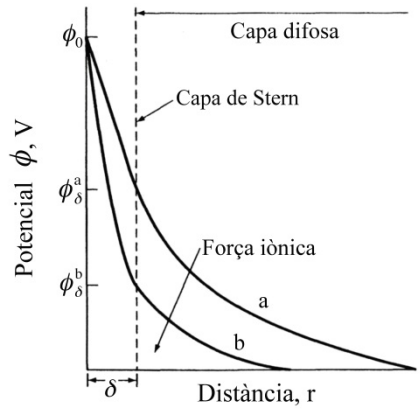


Fig. 5.5
Efecte de l'increment de la força iònica I sobre la capa difusa, i valor del potencial Zeta. I augmenta en el sentit indicat

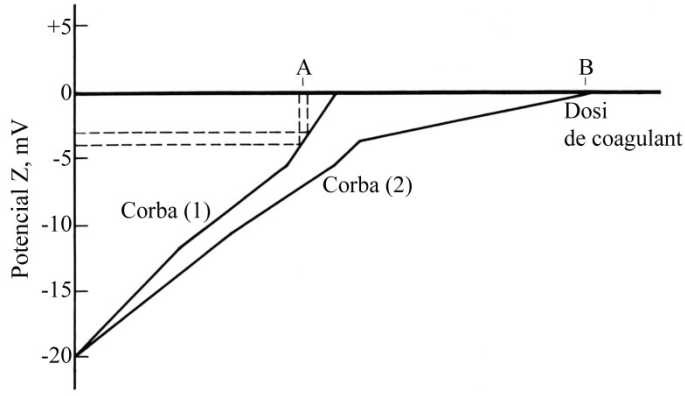


Figura 5.6
Estudi de la dosi de coagulant mesurant-ne el potencial Zeta amb dos tipus d'aigua. L'aigua (1) no necessita gaire coagulant (amb una dosi A, s'assoleixen -3 mV). L'aigua (2) necessita més coagulant (dosi B) per obtenir el mateix potencial Zeta.

5.2.2 Concentració de coagulació: regla de Schulze-Hardy

Per experiència, se sap que la càrrega elèctrica de ions suficients per coagular el col·loide depèn fortament de la càrrega elèctrica d'aquests (contrària a la del col·loide). Tanmateix, l'estabilitat és independent de la càrrega dels coions i de la concentració de col·loide. Aquestes observacions es dedueixen de la teoria DLVO i conformen la regla

de Schulze-Hardy. Així, d'acord amb les corbes de la figura 5.4, la condició de màxim de la corba contínua es demostra que es produeix a una distància interpartícula igual al radi de Debye, λ_D, i la concentració crítica a una distància igual al radi de Debye val (v. equació 5.1):

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

on A és la constant de Hamaker = 10^{-20} J, i γ és el potencial adimensional a la paret, és a dir:

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

I, com que λ_D és proporcional a $(c\ z^2)^{-1/2}$ (v. equació 5.1), eliminant el radi de Debye entre les equacions anteriors s'obté l'expressió següent, per a la concentració crítica en mol/m^3:

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

Observeu la forta dependència de la valència dels ions a través de z^{-6}. L'equació 5.7 és molt útil i se'n deriva la *regla de Schulze-Hardy*, que s'expressa així. A grans potencials, el factor gamma s'aproxima a la unitat, de manera que la teoria DLVO prediu que les concentracions crítiques de sals que continguin contra-ions amb càrregues elèctriques que estiguin en la proporció 1: 2: 3, etc., estaran en la proporció 1: 2^{-6}: 3^{-6}, és a dir, 100: 1,56: 0,137, etc., on 100 és la molaritat crítica del ió Na+.

En altres paraules, es necessitaran concentracions cada vegada més petites de sals de Na^+, Ca^{+2}, Al^{+3}, per tal de coagular espontàniament un col·loide aniònic amb una sal que aporti un d'aquests contraions. Cal entendre, però, que tot depèn de la càrrega del col·loide. Així, si aquest és aniònic (carregat negativament), les sals d'alumini com Al Cl_3 i $Al_2(SO_4)_3$ tindran un comportament similar pel que fa a la coagulació, ja que Al^{+3} és el contraió reactiu. Però, si el col·loide és positiu (catiònic), el sulfat d'alumini serà 30 vegades més efectiu que el clorur d'alumini, ja que l'anió sulfat té dues càrregues negatives, mentre que l'anió clorur només en té una.

Es veu també que les concentracions d'una d'aquestes sals depèn fortament del potencial zeta a baixos potencials, però és pràcticament independent del valor de zeta a potencials grans.

Per a un potencial donat, la concentració de coagulant és independent de la mida de la partícula del col·loide i de la concentració de partícules que s'estan floculant.

La coagulació és afavorida a baixa temperatura, ja que l'expressió completa de la concentració crítica (v. equació 5.7) depèn directament de T^5. L'expressió completa de la proporcionalitat de l'equació 5.7 ve donada per l'equació següent (Shaw, 1980):

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

on T és la temperatura absoluta en K. Els exemples següents mostren com s'apliquen les regles anteriors en casos pràctics.

Exemple 5.1. Efecte de la temperatura i tipus de ió.

En un procés de floculació de bacteris *E. coli*, a l'estiu operem a 37ºC i a l'hivern, a 4ºC (a causa de la situació del floculador a prop de la intempèrie). *a*) Volem saber com canviarà la concentració crítica de coagulant per efecte de la temperatura a l'hivern i a l'estiu. *b*) Volem saber també l'efecte de la concentració de sal de Al respecte de Cu, a l'estiu. *c*) L'enginyer de producció suggereix utilitzar a l'estiu una sal soluble de Ti $^{4+}$ per estalviar alúmina, amb un cost del Ti per mol que és tres vegades superior al de l'alúmina. Sortirà a compte fer el canvi?

a) Utilitzem l'equació 5.7 explícita en la temperatura T, i en z, és a dir:

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

A l'estiu tindrem, enfront de l'hivern:

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

és a dir, a l'estiu farem servir un 75 % més de coagulant que a l'hivern.

b) L'efecte del tipus de ió, Al o Cu, amb T constant, serà:

$$\frac{dosi\ sal\ Al}{sodi\ sal\ Cu} = \left(\frac{3}{2}\right)^{-6} = 0,087$$

En mols, la concentració necessària d'Al és un 8,7 % de la de Cu. L'efecte reductor de la temperatura serà 1/1,75 = 0,57 (= dosi a 4ºC respecte a 37ºC). Per tant, el tipus de ió influeix més que la temperatura (z^6 enfront T^5), com es podia esperar.

c) Vegem ara la influència de ions Ti^{4+}:

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

De sal de Ti, en necessitem menys: un 17 % dels mols d'alúmina. Però el cost per mol de sal de Ti és quatre vegades més gran, de manera que la relació de costos serà:

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

Amb aquesta relació de cost de 4 Ti per 1 Al, surt a compte, en principi, fer el canvi, ja que hi ha incentiu. L'economia final dependrà de la sal, del que costi el kg i d'altres factors.

Exemple 5.2. Selecció del coagulant.

En una suspensió d'un residu de cèl·lules trencades mecànicament (col·loide aniònic), s'utilitza satisfactòriament KCl 0,22 M per clarificar la suspensió. Però, per raó d'una operació d'adsorció posterior, cal que estigui a una concentració de sal de menys de 0,01 M. Feu servir la regla de Schulze-Hardy per calcular la concentració d'Al $(NO_3)_3$ com a coagulant. Quina concentració d'aquesta sal necessitareu? Complirà el requisit de l'adsorció?

El nitrat d'alumini, de molaritat c a la dissolució, es dissocia totalment en aigua de la forma següent:

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

i el KCl 0,22 M, també, de la forma següent:

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

Així, doncs, aplicant l'equació 5.7 als dos electròlits, tenim que la concentració molar del KCl es pot reduir en la proporció:

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

utilitzant $Al(NO_3)_3$ en comptes de KCl. En conseqüència, la concentració d'alumini, c, ha de ser:

$$c = \frac{0{,}22}{729} = 3\times10^{-4}\,M$$

Per calcular la concentració total de sals, farem que les concentracions dels ions Al i NO_3 siguin $[Al^{3+}] = c$ i $[NO_3^-] = 3c$, respectivament, d'on:

$$\left[Al^{+3}\right] = 3\times10^{-4}\,M$$

$$\left[NO_3^-\right] = 3\times3\times10^{-4}$$

La concentració total de sals serà la suma:

$$Suma\ d'ions\ di\ solts = c + 3c = 0{,}0012M$$

que és inferior a 0,01M. Podem fer l'operació amb nitrat d'alumini a 3×10^{-4} mol/L sense perill per a l'adsorció.

5.3 Coagulació de col·loides industrials

A la indústria, això s'aplica moltíssim en la coagulació de matèria en suspensió col·loïdal per tal de decantar-la després de flocular, principalment en la depuració de l'aigua. Si volem utilitzar-les per coagular dispersions de residus cel·lulars, mirarem d'aplicar les tècniques de la indústria. Els reactius químics més utilitzats són el sulfat d'alumini, el sulfat ferrós, el sulfat fèrric. Se'n fan servir d'altres, però per raó del seu cost només s'utilitzen en petites instal·lacions (p. ex., aluminat sòdic, alúmina amònica, alúmina potàssica i CO_2). Com a àlcali, es fa servir la mateixa alcalinitat de l'aigua (si en té prou) o bé s'utilitza carbonat sòdic o calç morta com a reactiu. Amb suspensions de cèl·lules, es possible que la suspensió estigui fortament tamponada i s'hagi d'utilitzar calç.

Les reaccions per coagular suspensions impliquen la reacció amb àlcalis (bicarbonat càlcic o carbonat sòdic) i són:

Sulfat d'alumini

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

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

Sulfat ferrós

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

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

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

Sals fèrriques

$$2\ FeCl_3 + 3\ Ca(HCO_3)_2 \rightarrow 2\ Fe(OH)_3 \downarrow + Ca\ Cl_2 + 6\ CO_2$$

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

A la taula 5.1, es donen les concentracions d'utilització en l'aplicació per al tractament d'aigües segons si són potables o residuals, les quals es poden prendre com a base per a aplicacions de biotecnologia.

Els col·loides orgànics són, en general, aniònics, però els hidròxids precipitats per les bases són col·loides catiònics (positius). Aquests són ara els que fan de polielectròlit inorgànic (policlorurs bàsics d'alumini, v. Degrémont, 1979) neutralitzant la càrrega dels col·loides principals. L'addició de polielectròlits catiònics millora l'actuació dels hidròxids, enllaçant partícules col·loïdals gràcies a les cadenes polimèriques.

En general, la dosificació òptima és funció del pH i de la dosi d'alúmina. Una forma experimental és estudiar l'optimització de la coagulació en funció de dues variables: el pH i la dosi de coagulant, per tal de trobar la zona de la màxima efectivitat, que corres-

pon a la de mínima terbolesa. La clarificació màxima s'obté amb una combinació apropiada d'aquestes dues variables. Amb alúmina, Rigola (1989) troba una dosi òptima d'uns 20 g/m^3 d'$Al_2(SO_4)_3$ i pH 7,8, que fa màxima la clarificació del sobrenedant.

Exemple 5.3.

Un corrent de 50.000 m^3/d que conté matèria en suspensió (60 g/m^3) es tracta amb 50 g/m^3 d'alúmina, $Al_2(SO_4)_3 \cdot 14H_2O$. a) Calculeu els kg de precipitat produïts cada dia, suposant que hi ha prou alcalinitat a l'aigua. b) Suposant que la densitat del precipitat és de 1.040 kg/m^3, calculeu el volum diari de fangs sedimentats, si el decantador té una efectivitat del 65 %.

Pesos moleculars:

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

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

a) La reacció que té lloc amb bicarbonat és la següent:

$Al_2(SO_4)_3 \cdot 14H_2O + 3\ Ca(HCO_3)_2 \rightarrow 2\ Al(OH)_3 \downarrow$ + altres espècies solubles o gasos

Suposem, doncs, que només precipita $Al(OH)_3$. Els pesos equivalents per a aquesta estequiometria seran:

$$\text{PE alúmina} = \frac{Al_2\left(SO_4\right)_3 \cdot 14H_2O}{6} = 99{,}9\ g/eq$$

$$\text{PE hidròxid d'alumini} = \frac{2Al\left(OH\right)_3}{6} = 26\ g/eq$$

Equivalents reaccionats de l'alúmina (suposem tots) = Equivalents formats de $Al(OH)_3$

Així, doncs, tindrem:

$$= \frac{50\ g/m^3}{99{,}9\ g/eq} \simeq 0{,}5 eq\ \ Alum.\ reaccionats/m^3 = eq\ Al\left(OH\right)_3\ formats/m^3$$

El pes d'$Al(OH)_3$ precipitat serà 0,5 × 26 = 13 g/m^3, que s'afegeixen als 60 g/m^3 de sòlids en suspensió que ja hi havia. En total, doncs, 13 + 60 = 73 g/m^3, que, per a 50.000 m^3/d, donarà una massa i un volum de sediment de:

$$vol = 0{,}073 \times 50.000 \times 0{,}65 = 2373\ kg\ fangs \Big/ dia = \frac{2373}{1040} = 2{,}28\ m^3\ fangs/dia$$

que serà la quantitat de fangs que s'haurà de treure d'un decantador d'efectivitat del 65 %.

5.4 Floculants sintètics industrials

El mecanisme d'acció dels floculants i la base quantitativa de les operacions de floculació que se'n deriven no han estat aclarits del tot, perquè han sorgit de forma empírica. Tanmateix, hi ha moltes dades d'aplicació. El floculant orgànic sintètic van ser possible quan l'acrilamida monòmer va començar a ser una realitat comercial (American Cyanamid en va desenvolupar el procés, basat en l'acrilonitril, als anys seixanta). Al nostre país, l'empresa Derypol S.A. és pionera en la síntesi, el desenvolupament tècnic i l'aplicació d'una línia de polímers tècnics per a aigües, per a la indústria paperera i per a d'altres aplicacions, produïts amb diverses tècniques de polimerització. Vegeu la bibliografia de Derypol (2013), amb més de 50 tipus de polielectròlits industrials, desenvolupats durant els darrers quaranta anys. Bàsicament, els tipus químics de floculants orgànics sintètics es mostren a la taula 5.2.

Diversos autors han identificat uns quants mecanismes de floculació:

- Compressió de la doble capa elèctrica
- Adsorció de ions, etc.
- Formació de pedaços (*patchwork*) de càrrega elèctrica sobre el col·loide
- Establiment de ponts de cadenes entre partícules (v. figura 5.7)

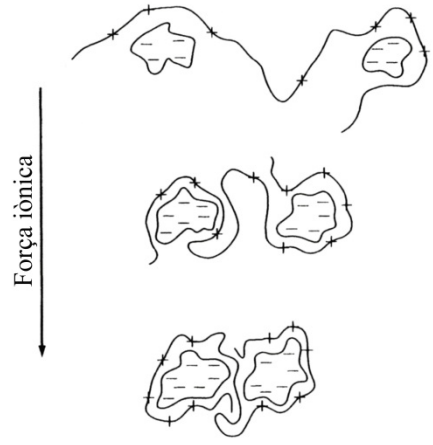


Fig. 5.7
Formació de flocs amb un floculant catiònic: neutralització de la càrrega, seguida de la formació de ponts

Alguns d'aquests mecanismes són comuns amb els coagulants inorgànics. Però els dos darrers mecanismes (els pedaços i els ponts) són específics dels polielectròlits. A la figura 5.7 es veu com un polímer catiònic neutralitza una part de la càrrega de la partícula i enllaça diverses partícules mitjançant ponts de cadenes. Però aquí és interessant explicar un fet molt important, publicat els anys setanta, relatiu a les poliacrilamides (PA) no iòniques, que recolza el mecanisme dels ponts. *L'activitat floculant de la PA s'observa que augmenta exponencialment a partir del pes molecular en què el radi de gir de la macromolècula en aigua (mesurada per dispersió de llum) és de l'ordre de magnitud de la distància mitjana entre centres de partícules col·loïdals en la suspensió.* Això fa que sigui necessari tenir polímers amb els pesos moleculars més alts que

es pugui, almenys de l'ordre d'1,5 × 10^6. Això és relativament fàcil amb PA no iòniques, però és més difícil d'aconseguir amb copolímers catiònics (v. taula 5.2), en què el comonòmer amoni quaternari impedeix el creixement de la cadena. Amb PA no iòniques, la constant de propagació del polímer té un valor inusualment gran (respecte d'altres polímers vinílics: poliestirè, poliacetat vinil, PMM). Per a PA pures, la longitud cinètica de la cadena en propagació val (Brandrup *et al*., 1999):

$$\overline{x}_n = \frac{k_p[M]}{2k_t[M^\bullet]} \tag{5.9}$$

on la relació k_p/k_t és, per a l'acrilamida en aigua, de les més altes dels monòmers vinílics (estirè, metacrilat de metil, clorur de vinil, etc.). Aquesta relació representa la velocitat de propagació respecte de la terminació o iniciació (en estat estacionari). Com a contrapartida pràctica, és difícil polimeritzar acrilamida en una solució aquosa amb un percentatge elevat de sòlids, ja que, si x_n és gran, la viscositat es fa també molt gran, a conversions pràctiques dels processos comercials. El polímer és l'adequat, però el procés de fabricació requereix processos més sofisticats, que evitin que viscositat augmenti en tota la massa del reactor durant la polimerització.

5.4.1 Els floculants en biotecnologia

Hi ha diversos estudis de floculació de suspensions de cèl·lules, però no s'ha explotat del tot la separació sòlid-fluid. S'han fet estudis de floculació del llevat del pa i de residus de disrupció mecànica de cèl·lules per tal d'alliberar proteïnes intracel·lulars (Wang *et al*., 1979). La figura 5.8 mostra l'efecte d'un polielectròlit aniònic fort (poliestirè sulfonat sòdic) i argila col·loïdal (en aquest cas, bentonita), en funció de la dosi de floculant. Aquesta es mou a l'entorn del 1 % sobre el pes del llevat sec amb bentonita, i del 0,1 % fent servir floculant aniònic. Possiblement, amb copolímers acrilamida-acrilat sòdic s'obtindria una coagulació amb dosis molt menors, potser del 0,01 % sobre biomassa seca.

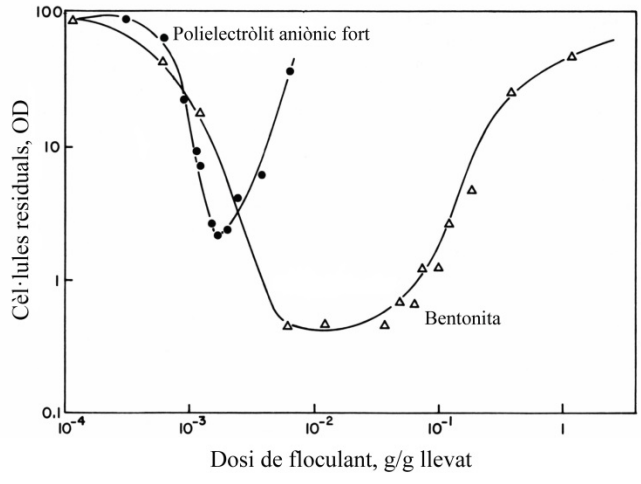


Fig. 5.8
Efecte de la dosi de dos floculants en el percentatge de cèl·lules de llevat que queden al sobrenedant (OD, densitat òptica)

No obstant això, s'ha de tenir cura que el floculant no faci precipitar la proteïna. La floculació d'enzims en agregats insolubles pot arribar a ser una alternativa a la precipitació que, com es veu al capítol corresponent, requereix una gran quantitat de sal amònica.

Malgrat que el preu del floculant sigui alt (de 10.000 a 20.000 €/t), la incidència del cost del floculant sobre la biomassa és modest. La figura 5.8 indica que les dosificacions són petites (v. catàlegs de Derypol pel que fa a les concentracions de tractament d'aigües i de paper). En biotecnologia, el preu del bioproducte és tan gran, que s'absorbirà perfectament el cost afegit del floculant. Cal esmentar que també s'utilitzen en biotecnologia floculants naturals, com la goma de guar i derivats, la carboximetilcel·lulosa i derivats, dextrans i d'altres polisacàrids. Les argiles col·loïdals i la bentonita s'empren en la clarificació dels *Saccharomyces cerevisiae* (llevat de pa) en la fabricació de vins, caves i xampany, quan es vol assegurar l'ús d'un floculant inert.

5.5. Consideracions finals: disseny dels floculadors

Després de la ruptura cel·lular per alliberar els bioproductes, és necessari flocular els fragments col·loïdals per tal de millorar la separació sòlid-líquid (centrifugació, filtració, decantació, espesseïment, etc.). El fonament fisicoquímic és la desestabilització dels col·loides. La teoria corresponent porta a la utilització dels coagulants inorgànics i a la floculació amb polielectròlits orgànics sintètics i naturals. Les dosis d'uns i altres són molt diferents, com també els seus preus de mercat. La seva utilització en biotecnologia es troba en la coagulació de detritus cel·lulars de ruptura, suspensions de llevats i d'altres (v. figura 5.8).

Pel que fa a les instal·lacions de floculació, haurem d'utilitzar la informació del disseny de floculadors d'aigües (Degrémont, 1979) i aplicar-la al problema de la biotecnologia. Són importants les limitacions dels temps de dilució del floculant a l'entrada al floculador (agitador ràpid, cisallament elevat, curt temps d'estada) i els dipòsits posteriors de pales d'agitació suau esglaonats en sèrie (poc cisallament, estada llarga). El càlcul de la velocitat dels agitadors i de la potència instal·lada en cada etapa es fa sobre la base dels gradients de cisallament determinats experimentalment. A prop de l'impulsor on hi ha més tall s'ha mesurat un gradient de cisallament proporcional a N (freqüència de rotació de la pala). Així, se sap que el gradient de velocitat és proporcional a la freqüència de rotació:

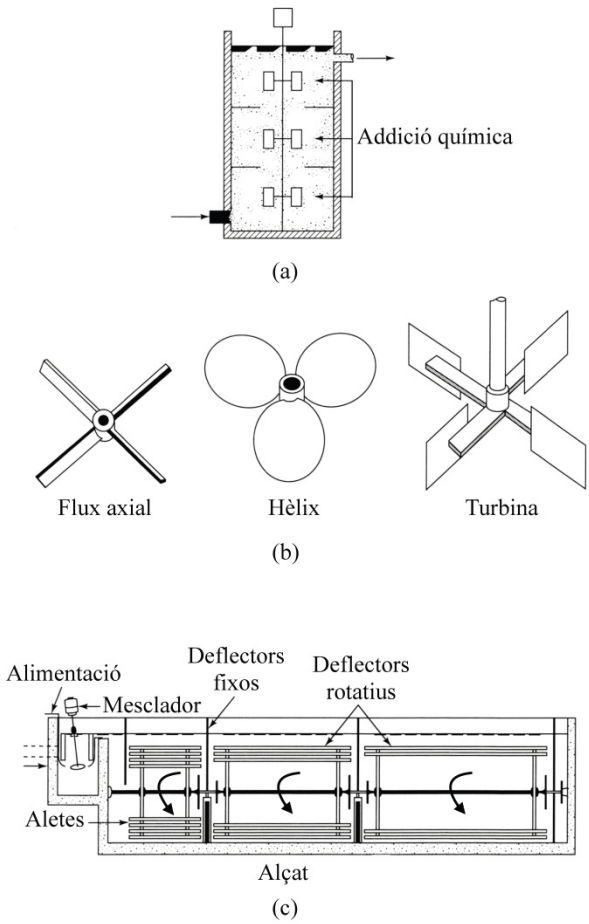
$$G \equiv \frac{du}{dx} = KN \qquad (5.10)$$

on K és una constant adimensional que val ~10 (Dickey i Hicks, 1975). El gradient de velocitat és, doncs, unes deu vegades la freqüència de l'agitador en les mateixes unitats. Aquesta relació, amb K = 10, també és vàlida per a les mesures del viscosímetre Brookfield, que mesura la viscositat a diferents rpm, i és especialment interessant per als fluids tècnics.

En el disseny del floculador, s'empren uns esforços de tall que no trenquin els flocs. En l'agitador ràpid, els gradients de velocitat per diluir el reactiu són grans, de 800 s^{-1}, però el temps de estada és petit, de 40 s com a màxim. En les unitats posteriors de creixement dels flòculs, es té present el cisallament que aguanten els flocs ja formats, que no poden sobrepassar gradients corresponents a un valor del gradient de velocitat de 30-40 s^{-1} per a temps d'estada llargs (2.500 s). Amb aquestes dades i amb la informació dels manuals, es pot dissenyar un prototipus de floculador i fer-lo funcionar respectant, com a criteris de canvi d'escala, els temps de residència i els valors de G a cada recipient, amb els mateixos tipus d'impulsors de l'experimentació. Per a floculadors, s'utilitzen pales lentes.

Per exemple, un dipòsit ràpid a la capçalera, seguit de tres recipients en sèrie, a baixa velocitat, ha de permetre una floculació correcta (sempre que el coagulant i el floculant siguin els adequats). Aquest disseny per a aigües s'il·lustra a la figura 5.9 (v. tanc d'addició del reactiu, tipus d'impulsors i aparell integrat del floculador, amb agitador ràpid al davant, seguit de tres recipients en sèrie a baixa velocitat).

Fig. 5.9
Aspecte dels agitadors ràpids (a) i (b) i (c) del floculador horitzontal, amb tres dipòsits continus en sèrie, i agitadors coaxials



5.6 Notació

[M]	Conc.monomer, mol/L, [M·] id cadena en creixement
A	Const. Hamaker, 10^{-20} J
c	Concentració, mol/m3, c_{crit}= conc. crítica de floculació
e	Càrrega de l´electró, C
F	Faraday, 96500 C/mol
G	Gradient de velcocitat, Eq 5.9, s-1
I	Força iònica, def. eq 5.3, mol/m3
k	Const. Botzmann, 1,3807x 10^{23} J/K
K	Factor de proporcionalitat, ~ = 10, Eq 5.9
k_p	Const. de propagació, polimertzació vinílica, L/(mol.s)
k_t	Const. de terminació, polimertzació vinílica, L/(mol.s)
N	Freqüencia rotació agitador, Hz
N_A	Nombre Avogadro, 2,03x 10^{23} /mol
R	Const. gas ideal, 8,314 J/mol K
T	Temperatura, K
x	Distància, m
x_n	Nombre mitjà d´unitats repetides, eq 5.8
z	Càrrega d´ió (+ o -)
ε	Const. dielèctrica del fluid, C^2/m.J
ϕ	Potencial electrostàtic, V
γ	Potencial a la paret adimensional, eq 5.6
λ_D	Radi de Debye, m
ζ	Potencial Zeta, V

Precipitació

La precipitació és un mètode simple i econòmic de concentrar bioproductes com ara enzims, antibiòtics, vacunes, biopolímers, anticossos, etc., i, en general, proteïnes. Considerem que les proteïnes estan dissoltes de forma lliure en el medi després de la seva secreció extracel·lular. La precipitació es basa a provocar-ne la insolubilització. L'estat final precipitat és amorf, a causa de la rapidesa amb què es provoca el canvi d'estat del solut. Els agregats produïts contenen quantitats importants de sals, residus oclusos i aigua. Comparada amb la cristal·lització, que pot produir sòlids 100 % purs, la precipitació és força impura, no tan sols pels residus de sals, sinó també per altres proteïnes contaminants. En aquest cas, les proteïnes coprecipitades s'han de fraccionar, cosa que hi introdueix un procés addicional.

El grau de concentració del bioproducte en el precipitat és molt superior al de la dissolució inicial. Aquesta, en precipitar, pot contenir un 0,1-5 % en pes de solut, comparable, doncs, a l'alimentació de la cromatografia d'elució, però més gran que l'alimentació en un procés d'extracció líquid-líquid o en una columna d'adsorció. El precipitat se separa per filtració, centrifugació o decantació. La precipitació es realitza pels mètodes següents:

– Addició de sals

– Addició de no-solvent, miscible en aigua

– Calor

– Addició de polímers solubles en aigua

Cal vigilar la desnaturalització durant la precipitació perquè, si es produeix, pot obligar a la renaturalització, que és un procés addicional força complex.

En aquest capítol, primer estudiarem les proteïnes i aquests processos, i després veurem el disseny dels sistemes de precipitació o com portar-los a terme en continu en recipients en sèrie, en condicions d'agitació i de cabal controlats.

6.1 Solubilitat de les proteïnes

La constitució de les proteïnes i dels àcids nucleics a nivell químic i cristal·logràfic es pot consultar als textos de Pauling (1970), Bailey i Ollis (1986), i d'altres. El que expliquem a continuació es pot consultar a Blanch i Clark (1997), en relació amb la biotecnologia, i fa referència a les proteïnes en el medi aquós.

Les proteïnes són biopolímers naturals, basats en cadenes d'aminoàcids lligats per enllaços peptídics (poliamida) entre els aminoàcids constituents, que en la dissolució aquosa es comporten com a macroions, amb una conformació hidratada compacta, més rígida que els polielectròlits sintètics orgànics, que són cabdells estadístics més o menys estirats en la solució, sotmesos al moviment brownià. El caràcter iònic ve donat pels aminoàcids que tenen cadena lateral amb grups ionitzables, i pels grups carboxílic i amino terminals de cadena. A la figura 6.1, es representa l'aspecte de les proteïnes com a partícules en dissolució aquosa. S'hi veuen les veuen proteïnes fibroses i globulars, i s'il·lustra el fenomen de la desnaturalització. És important observar que les cadenes de proteïna estan fortament solvatades i formen capes d'hidratació sobre la superfície, de forma semblant a una cadena de polímer sintètic, que té una solvatació considerable que explica la solubilitat total, malgrat el gran pes molecular. La solvatació és la responsable, doncs, de la solubilitat i de la precipitació.

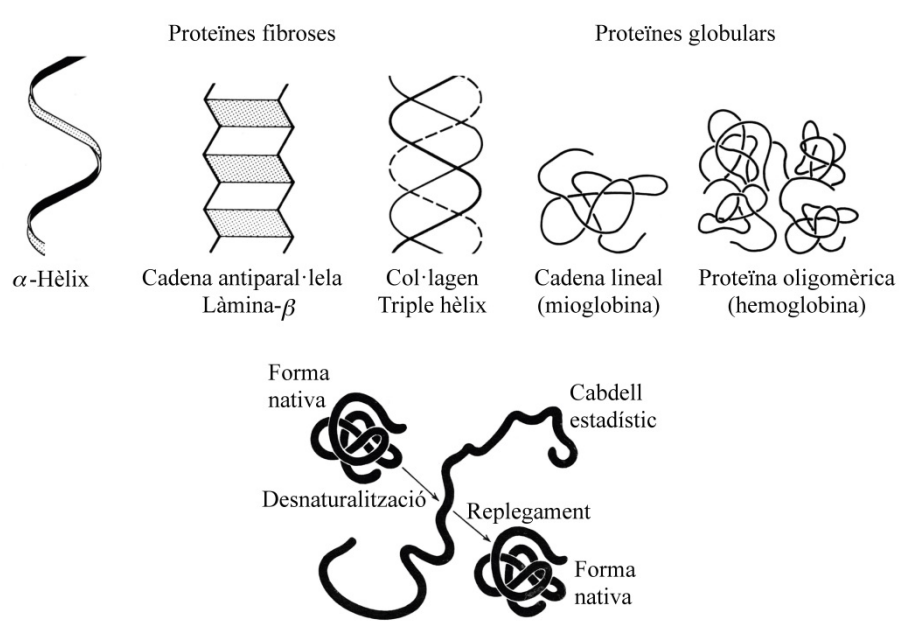


Fig. 6.1
A dalt: Els dos tipus bàsics de proteïnes, fibroses i globulars. A baix: Forma nativa d'una proteïna sotmesa a desnaturalització i posterior renaturalització per replegament (Bailey-Ollis, 1986)

Els factors més importants que afecten la solubilitat d'una proteïna són l'estructura i la grandària de la molècula, la seva càrrega elèctrica efectiva i el dissolvent, com veurem tot seguit.

6.1.1. Estructura i grandària

En estat natural, les proteïnes en un entorn aquós adopten una conformació que minimitza el contacte dels aminoàcids hidrofòbics amb les molècules d'aigua. Les forces que donen aquestes conformacions són els enllaços d'hidrogen, les forces de van der Waals, i les interaccions moleculars hidrofòbiques i els dipols. En principi, aquestes forces empenyen els grups hidrofòbics cap a l'interior de la molècula i els residus polars carregats elèctricament, cap enfora. Se sap, de moltes proteïnes estudiades, que la majoria tenen un 95 % de grups iònics accessibles. Aquests estudis demostren que, de mitjana, els grups accessibles a l'aigua en un 60 % dels casos són apolars, en un 25 % són polars i un 15 % són carregats. Així doncs, bona part dels grups apolars estan a la superfície de la molècula.

Com ja hem dit, hi ha unes quantes capes d'hidratació o de solvatació al voltant de les cadenes, de manera que la primera capa aquosa estableix ponts d'hidrogen, amb H·cap a la superfície i els àtoms d'oxigen cap enfora, és a dir, cap a una segona capa de molècules d'aigua. Són aquestes dues capes les que confereixen solubilitat a la proteïna, mantenint una distància entre les superfícies de dues molècules veïnes.

La *grandària de la proteïna* és important quan tractem la proteïna amb un polímer no iònic soluble en aigua, com ara polietilenglicol (PEG). En aquest cas, es pot predir l'exclusió estèrica de la molècula de proteïna del volum ocupat pel polímer, a causa de la grandària i la forma de la proteïna. Quantitativament, s'ha proposat un model geomètric (esfera + vareta) per tal de trobar una equació simple de solubilitat. El model esmentat justifica l'equació següent, que dóna la solubilitat de la proteïna en funció de la concentració de polímer:

$$1nC_s = \beta - KC_p \tag{6.1}$$

on el paràmetre K val:

$$K = \frac{\overline{V}}{2{,}303}\left(\frac{r_s + r_r}{r_r}\right)^3 \tag{6.2}$$

r_{es} i r_r, són els radis del solut i de la vareta de polímer, respectivament; C_p és la concentració de polímer; C_s és la solubilitat de la proteïna, i $\overline{V}$, el volum molar parcial del polímer. Beta és una constant. Segons aquest model, la solubilitat més petita de la proteïna en presència de PEG es produeix quan la proteïna és gran (gran valor de K).

La grandària molecular de la proteïna és també un factor predominant en el procés anomenat *precipitació o fusió d'afinitat* enfront d'un anticòs específic. Quan s'hi afegeixen anticossos per a una biomolècula específica (antigen), la interacció antigen-anticòs pot formar grans complexos moleculars insolubles. La grandària molecular dels aglomerats del complex és màxima quan l'estequiometria és l'adequada, cosa que provoca la precipitació selectiva de l'antigen. S'obté un màxim de complex precipitat quan hi ha l'estequiometria precisa entre l'anticòs i l'antigen. Si no, es formen petits complexos bimoleculars, en excloure la proteïna que sobra i precipitar solament els que compleixen l'estequiometria.

6.1.2 Càrrega elèctrica de la proteïna en dissolució

La càrrega neta de la proteïna té relació directa amb la seva solubilitat en un medi aquós. La solubilitat augmenta en augmentar la càrrega elèctrica neta, com a resultat d'una interacció més gran amb les molècules d'aigua. A la figura 6.2, s'il·lustra la variació de la solubilitat de la insulina en un medi salí (0,1 M NaCl) en funció del pH. La solubilitat té un mínim al pH isoelèctric o punt isoelèctric de la proteïna (carrega neta = 0). El punt isoelèctric d'una proteïna està determinat per:

- el nombre total de grups ionitzables
- la seva accessibilitat a les molècules de solvent
- el pH del medi

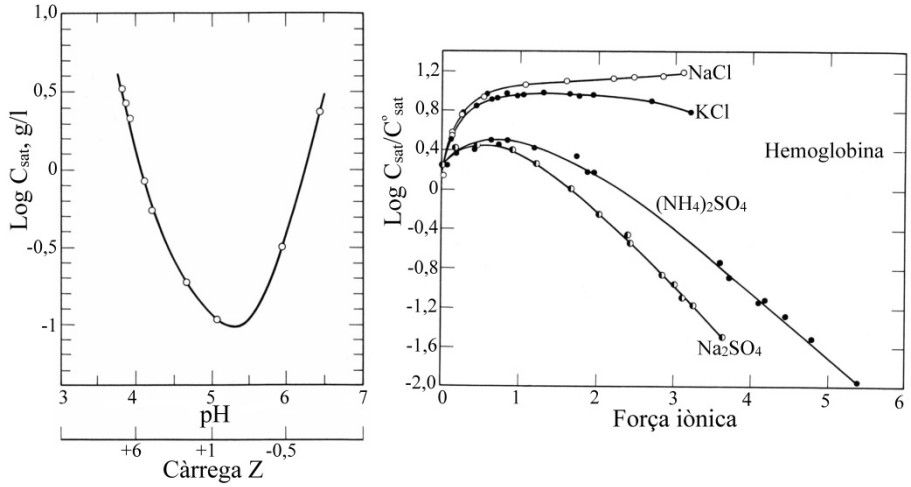


Fig. 6.2
A l'esquerra: Mínim de solubilitat de la insulina en ClNa 0,1 M funció del pH. A la dreta: Solubilitat de l'hemoglobina en presència de diverses sals (canvi de solubilitat per efecte salí) (Tanford, 1961)

Els factors que determinen el pKa són la naturalesa química dels grups veïns per efecte inductiu, la temperatura, la constant dielèctrica del solvent i la força iònica I, definida al capítol anterior (equació 5.3), en funció dels ions presents a la solució.

6.1.3 Efecte dels solvents no-solvents en el medi

El dissolvent afegit afecta les característiques del medi per la seva influència en la hidrofobicitat del medi i la força iònica. Ambdós factors incideixen en la solubilitat. El solvent afecta de manera semblant a com un polímer sintètic disminueix la seva solubilitat. Per exemple, amb proteïnes, les dissolucions aquoses amb alcohols monohídrics. En aquest cas, a més, causen la desnaturalització de la proteïna, en l'ordre següent:

$$\text{metanol} < \text{etanol} < \text{propanol} < \text{butanol (el que més desnaturalitza)}$$

D'aquí es dedueix que els alcohols més alts (de cadena HC més llarga) es combinen més efectivament amb els grups apolars sobre la proteïna, afeblint les interaccions hidrofòbiques internes, i, per tant, provoquen la desnaturalització. A més, a baixa temperatura, els alcohol baixos (metanol) competeixen amb l'aigua pel que fa a la solvatació de les cadenes, de forma que la desplacen. Sense les molècules d'aigua protectores, i per efecte de la deshidratació, s'apropen i donen lloc a contactes i a la formació d'agregats deshidratats, que precipiten.

6.1.4 Precipitació per efecte salí

Aquest és el mètode més emprat per obtenir proteïnes per fraccionament. Té l'avantatge que causa poca desnaturalització. L'efecte salí consisteix a afegir una sal. A la figura 6.3, es mostra el que passa. Fins i tot a pI, la proteïna té carrega elèctrica. Els grups carregats negativament són -COO$^-$ i els positius són -NH3+. Aquestes càrregues totals es combinen amb les de la sal; així, tenim que existirà un producte de solubilitat del tipus:

$$K = [proteïna][NH_4^+]^n[SO_4^=]^m \qquad (6.3)$$

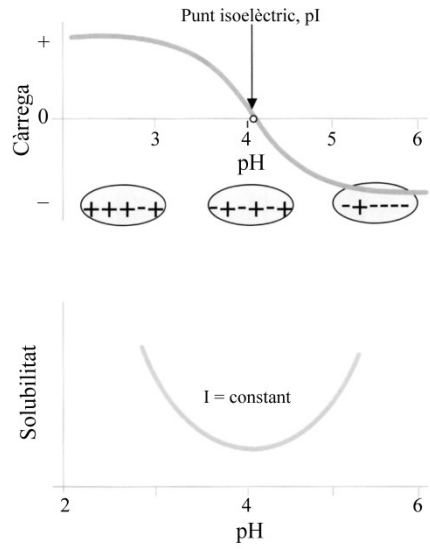


Fig. 6.3
Punt isoelèctric d'una proteïna (Wesselingh-Krijgsman, 2013)

Com que n i m són nombres grans (2, 3, 4, etc.), l'addició de sal provoca, en general, un efecte important en la solubilitat de la proteïna. A més, les regions hidrofòbiques entre molècules es poden associar estabilitzant el precipitat. En cas de sals, l'ordre d'efectivitat en la precipitació és el següent. Pels anions:

$$\text{citrat} > PO_4^{3-} > SO_4^{=} > CH_3\text{-}COO^- > Cl^- > NO_3^-$$

Pels cations:

$$NH_4^+ > K^+ > Na^+$$

Alguns aspectes pràctics són els següents: 1) Adquirir la sal més econòmica, ja que se'n gastarà molta. 2) Escollir una sal que doni una densitat del precipitat diferent de la dissolució, a fi que decanti ràpidament. 3) Afegir la sal sense diluir, a fi de minimitzar l'aigua total existent. 4) A l'equació de solubilitat (equació 6.1), el valor de beta varia amb la temperatura i el pH, però el valor de K és constant amb T i pH. Tenint en compte tots els factors, la sal preferida és el sulfat amònic.

6.1.5 Més sobre l'efecte de les sals: l'equació de Cohn

La precipitació es produeix a gran concentració de sal. Per tant, si bé hi ha un petit efecte de dissolució per sal (*salting in*), l'efecte salí corrent (*salting out*) predomina i està descrit empíricament per l'equació de Cohn, que té la forma següent:

$$\ln S = \beta - K'I \tag{6.4}$$

on S és la solubilitat de la proteïna a la temperatura, I és la força iònica, definida com:

$$I = (1/2)\sum c_i z_i^2 \tag{6.5}$$

on c_i són les concentracions dels ions i z_i, la càrrega de cada ió (+ o -); K' és la constant de la proteïna, i β representa la solubilitat de la proteïna a I = 0, que depèn de la temperatura, pH, i es fa mínima en el punt isoelèctric. És curiós observar que l'equació de Cohn té una forma similar a la de la precipitació amb polímer lineal (equació 6.1). Els efectes salins es poden observar a la figura 6.2, ja comentada, per a l'hemoglobina, que es pot escriure així:

$$\ln S = \ln S_0 - K_S'' C \tag{6.6}$$

Exemple 6.1. Precipitació amb sulfat amònic.

S'han obtingut dades de precipitació d'una proteïna amb sulfat amònic. La concentració inicial de proteïna era de 15 g/L. A concentracions de sulfat amònic de 0,5 i 1,0 M, la concentració de proteïna residual en la solució en equilibri era de 13,5 i 5,0 g/L, respectivament. A partir d'aquesta informació, estimeu els paràmetres de l'equació de Cohn i calculeu la concentració de sulfat amònic per precipitar-ne un 90 %.

Suposem vàlida l'equació 6.6. Com que tenim dos punts de la recta, en podem determinar els dos paràmetres. Així, doncs:

C_{as}, mol/L	C*, g/L	Ln C*=ln S
0,5	13,5	2,60
1,0	5,0	1,60

d'on l'equació de solubilitat serà $\ln C^* = \beta - K'C_{as}$. Plantegem el sistema d'equacions següent, per tal de trobar beta i K':

$$2,60 = \beta - K' \times 0,5$$

$$1,60 = \beta - K' \times 1$$

d'on K' = 2,0 i β = 3,60

Per a una recuperació del 90 %, la proteïna en solució residual serà C* = 1,5 g/L. Així, doncs, la concentració de sal necessària serà:

$$\ln 1,5 = 3,60 - 2C_{as}$$

és a dir, C_{as} = 1,6 mol/L.

6.1.6 Precipitació per calor

En escalfar la solució de proteïna, provoquem una desnaturalització selectiva i, llavors, la proteïna precipita. És una operació arriscada perquè la desnaturalització provoca la pèrdua d'algunes propietats (com ara l'activitat enzimàtica). Però, quan la precipitació per sal falla, recorrem a la desnaturalització. El procés de desnaturalització està controlat per la cinètica, i no per efectes de solubilitat, que són termoquímics. La redissolució d'una proteïna parcialment desnaturalitzada és una operació complexa, que complica les altres operacions. Així, la majoria de les proteïnes intracel·lulars precipitades en organismes modificats genèticament estan parcialment desnaturalitzades.

La cinètica de desnaturalització ve donada per una reacció de primer ordre,

$$-\frac{dCp}{dt} = k'Cp \qquad (6.7)$$

on la constant cinètica ve donada per un equació d'Arrhenius del tipus:

$$k' = k'_0 \exp(-\frac{E}{RT}) \qquad (6.8)$$

on k'_0 és un factor preexponencial i E, l'energia d'activació (sempre positiva). R = 8,314 J/mol K. Les energies d'activació varien bastant, d'E = 200 kJ/mol a 450 kJ/mol.

Integrant l'equació cinètica, obtenim a T=ct:

$$Cp = Cp_0 \exp(-k't) \qquad (6.9)$$

Aquesta equació, aplicada a dues proteïnes diferents, permet calcular la proporció de cada proteïna en el precipitat quan es provoca la desnaturalització a una T constant. La precipitació de la proteïna de menys energia d'activació es potenciarà a baixa temperatura. Per a dues proteïnes amb energies d'activació diferents (p. ex., 350 i 415 kJ/mol), es pot obtenir una bona separació a baixa temperatura, com s'observa a l'exemple següent.

Exemple 6.2. Fraccionament d'una deshidrogenasa.

Tenim una dissolució que té igual concentració de dues deshidrogenases, anomenades A i B. En un intent de separar-les, calculeu les concentracions de cadascuna d'elles després d'un tractament de 10 min a 20ºC i després d'un tractament de 10 min a 50ºC. Els coeficients cinètics de precipitació de les proteïnes valen, en s-1:

$$k_A' = 5{,}0 \times 10^{57} \exp(-380.000/RT)$$
$$k_B' = 4{,}2 \times 10^{64} \exp(-415.000/RT)$$

on R = 8,314 J/(molK) i T en K.

Les constants cinètiques a 20ºC i a 50ºC seran les següents:

Constants cinètiques	**20ºC**	**50ºC**
k'_A en s^{-1}	$8{,}3 \times 10^{-11}$	$1{,}6 \times 10^{-4}$
k'_B en s^{-1}	$4{,}0 \times 10^{-10}$	$3{,}0 \times 10^{-3}$

Els valors de les activitats al cap de 10 min (600 s) a cada temperatura es poden calcular com:

$$\frac{C}{C_0} = \exp(-600k')$$

és a dir,

	20ºC	50ºC
C_A/C_{A0}	> 0,999	0,91
C_B/C_{B0}	> 0,999	0,17

Aquestes dades indiquen que, a 50ºC, podem purificar la proteïna A, amb només una mica d'impuresa B. A 20ºC, les dues proteïnes queden en solució i no hi ha fraccionament.

6.2 Cinètica de precipitació de proteïnes en un tanc amb agitació

Primer, comentem la cinètica de precipitació o floculació de proteïnes, en un sistema per càrregues. Després, l'apliquem al disseny de reactors continus. A la figura 6.5, es representa la precipitació de α_3-caseïna, amb $CaCl_2$, a diferents concentracions de proteïna. S'observa que, en temps petits, es produeix un creixement del que no és lineal amb t, ni amb la concentració de proteïna. A temps més grans, el PM del precipitat augmenta linealment amb el temps i, per tant, a una velocitat constant amb t. Aquest comportament inicial és propi dels sistemes amb nucleació, en què es generen primer les partícules, fins a una concentració de nuclis fixada, que després va creixent. Moltes proteïnes precipiten seguint aquest patró cinètic, que consta de les etapes en sèrie següents:

- Mescla ràpida del coagulant
- Nucleació pròpiament dita
- Floculació browniana (Smoluchowski I)
- Floculació governada per esforços de tall (Smoluchowski II)
- Redispersió del precipitat

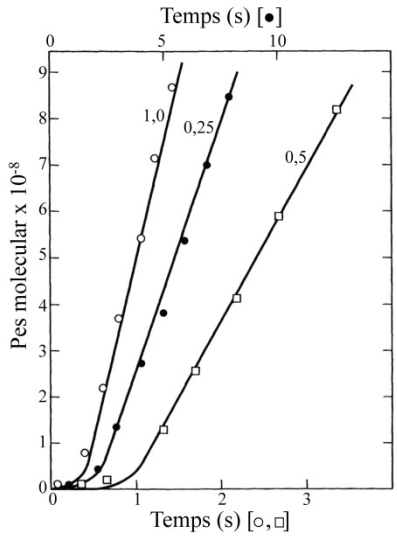


Fig. 6.5
Evolució lineal del pes molecular del precipitat de caseïna, segons la concentració inicial de proteïna. S'observa la nucleació a temps curts (Bell et al., 1983)

Suposem que tenim una solució sobresaturada de proteïna. Els remolins del moviment turbulent són els que determinen la dispersió del coagulant i la precipitació.

6.2.1 Mescla ràpida

Interessa que la proteïna coaguli en partícules discretes; per tant, hem de distribuir bé el precipitant (la sal, o el no-solvent) de la manera més ràpidament possible (vegeu l'agitador ràpid a l'entrada d'un floculador horitzontal al capítol anterior (figura 5.8). Calculem el temps de micromescla necessari en condicions turbulentes, amb un nombre de Reynolds de l'agitador superior a 10.000, de manera que el temps de mescla sigui mínim.

Podem calcular el temps de micromescla utilitzant diverses teories:

- Turbulència isotròpica de Kolmogórov, amb els remolins com esferes d'Einstein
- A partir d'una estimació del temps de la micromescla
- A partir del nombre de potència de l'agitador

Turbulència isotròpica. El temps de micromescla ve donat per t_k, que es calcula com:

$$t_k = \frac{L_e^2}{8D_{12}} \tag{6.10}$$

$$L_e = \left(\frac{\rho \nu^3}{\sigma}\right)^{1/4} \tag{6.11}$$

on v és la viscositat dinàmica, $\nu=\mu/\rho$ i σ = P/V = dissipació específica d'energia, i L_e és la grandària del remolí segons la teoria de Kolmogórov. Per avaluar el temps, necessitem la difusivitat molecular, D_{12}, del reactiu en aigua.

Correlació de Chemineer. Aquests autors donen el temps de micromescla adimensional en funció de Re, recipients normalitzats amb bafles i turbina axial. Per a Re grans, s'obté:

$$Nt_{micro} = \left(D/T\right)^{2,3} = 6 \qquad \mathrm{Re} > 10^4 \tag{6.12}$$

Correlació d'Ekato (Himmelsbach)

$$Nt_{micro} = 6,7\left(\frac{D}{T}\right)^{-5/3} N_p^{-1/3} \tag{6.13}$$

L'última correlació té l'avantatge que es basa en el nombre de potència, disponible per a molts tipus d'impulsors i tancs, en funció del nombre de Reynolds. La correlació és per a flux més aviat axial.

Intensitat d'agitació i canvi d'escala. Quan sigui necessari, per dissenyar un sistema d'agitació ràpid farem servir, a més, les regles empíriques següents: 1) Calculem la *freqüència de rotació*, N, per a una velocitat de l'extrem de la pala de 5 m/s (v. taula 6.1); així, doncs:

$$u_p = 5 = \pi ND \tag{6.14}$$

on N és la freqüència de rotació, s^{-1}. 2) Fem servir un tanc cilíndric amb fons torisfèric proveït de quatre bafles i 3) una turbina de pales verticals. La taula 6.1 ens dóna una velocitat lineal de l'extrem de la pala (pales verticals o inclinades) per decidir quina ha de ser la freqüència de gir que s'ha de triar inicialment.

Taula 6.1
Agitació mecànica: velocitat lineal de l'extrem de la pala

Objectiu	**Velocitat lineal, u_p (m/s), pales planes o inclinades**
Mescla i transmissió de calor normals	de 2,7 a 4
Transmissió de calor crítica	de 4 a 5,5
Esforç de tall gran, dispersió G/L i L/L	de 5,5 a 6,7

Utilitzeu un factor d'1,5 per a pales corbades. Per calcular N, fer $u_p = \pi ND$

Quan sigui necessari extrapolar l'agitador a aparells més grans, en què la freqüència N sigui acceptable, farem servir una regla d'extrapolació del tipus P/V = constant. Vigilarem, però, pel fet que hem modificat la velocitat de l'extrem de la pala, i no a la inversa. Recordeu que, segons Kolmogórov, la grandària del remolí depèn de P/V; per tant, aquest criteri és prioritari.

Exemple 6.3. Estimació amb correlacions del temps de micromescla.

Volem precipitar α_2-macroglobulina dissolta en un volum de 100 L. Suposant que el tanc té fons pla i que l'altura del líquid en repòs sobre el fons és igual al diàmetre interior del tanc: *a*) Calculeu el temps de micromescla fent servir un agitador de turbina de pales planes verticals (Rushton) o una turbina axial, emprant la correlació d'Ekato. La freqüència de rotació, N, de l'agitador serà tal que la velocitat perifèrica de la pala sigui 5,08 m/s. La viscositat absoluta és de 5 cP (= mPa·s) i la densitat de la solució es 1.000 kg/m^3.

Primer, determinarem les dimensions del tanc. Així, per a un cilindre de diàmetre T i altura de líquid també T sobre el fons, el volum de líquid serà:

$$V = \frac{\pi T^2}{4} T = 1 m^3$$

d'on T = 1,08 m i, prenent un diàmetre d'impulsor 1/3 del tanc, D = 1,08/3 = 0,36 m. Ara imposem que la velocitat perifèrica de l'impulsor sigui, per exemple, 5,08 m/s, de manera que la freqüència de gir de l'agitador serà 5,08 = 2 πND/2. I doncs N = 4,49 s^{-1}. En aquestes condicions, el nombre de Reynolds valdrà:

$$\mathrm{Re} = \frac{ND^2\rho}{\mu} = \frac{4,49 \times 0,36^2 \times 1000}{5 \times 10^{-3}} = 116 \times 10^3 > 10^4$$

que és turbulent, condició necessària per aplicar un Np constant. Agafant un impulsor de pales planes i verticals, el gràfic de Np dóna, per a una turbina Rushton, Np = 5 i, per a una turbina axial, Np = 1. Per tant, aplicant la correlació d'Ekato, podem calcular els temps de la micromescla com per als dos:

$$t_{micro} = \frac{6,7}{N}\left(\frac{D}{T}\right)^{-1,66} Np^{-0,33} = \frac{6,7}{4,49}(0,333)^{-0,33}\, 5^{-0,33} = 5,51 s (Rushton)$$

$$t_{micro} = \frac{6,7}{4,49}(0,333)^{-1,66}\, 1^{-0,33} = 10,1 s (turbina\ axial)$$

S'observa que la turbina de pales verticals dóna un temps de mescla més curt que la turbina axial (a costa d'un consum de potència més gran).

6.2.2 Nucleació

Es formen nuclis de precipitació quan la solució de proteïna està sobresaturada, és a dir, a una concentració lleugerament per sobre del valor de solubilitat (grau de sobresaturació). La velocitat de formació de nuclis de precipitació augmenta exponencialment fins a l'anomenat *límit de sobresaturació*. Convé fer notar que la velocitat de nucleació augmenta molt en el límit de sobresaturació. A la pràctica, la sobresaturació no es pot forçar molt, ja que es produeix un precipitat de proteïna en forma de gel, molt solvatat, o un col·loide intractable. Per produir partícules fines, no s'ha de provocar una gran sobresaturació.

Segons Levenspiel (1996), la nucleació de partícules en un flux ben mesclat es produeix segons dos processos en sèrie. El primer s'anomena *coagulació* i el segon, *coalescència*. La velocitat de coagulació és d'ordre -2 respecte L, és a dir:

$$\frac{dL}{dt} \propto \frac{1}{L^2} \tag{6.15}$$

on L és el radi de les partícules (que se suposen esferes). I la coalescència és de primer ordre respecte de L, és a dir:

$$\frac{dL}{dt} \propto L \tag{6.16}$$

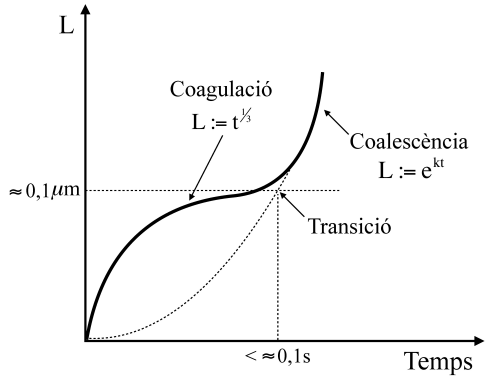


Fig. 6.4
Radi L del precipitat format per nucleació des de la fase gasosa: coagulació seguida de coalescència. El canvi de règim té lloc a un temps de 0,1 s i un radi de 0,1 μm (Levenspiel, 1996)

Així, doncs, la forma de la corba de nucleació amb el temps seria la de la figura 6.4, per al cas de creixement de partícules des de la fase de gas i flux mesclat. El sistema comença a nuclear fins que L val 0,1 μm (a t = 0,1 s), en què hi ha coagulació de les partícules. A partir d'aquest valor, la nucleació creix exponencialment. Aquests valors són propis de la deposició i el creixement de les partícules, i no són aplicables quantitativament a les proteïnes, però qualitativament expliquen el procés. La figura 6.5 indica que el creixement del precipitat, en el cas de les proteïnes, és precedit per una nucleació ràpida, d'ordre fraccional < 1, que després és seguit d'un creixement lineal amb t.

6.2.3 Floculació browniana (creixement pericinètic)

A partir d'aquest moment, el precipitat augmenta de dimensió mitjançant dos mecanismes en paral·lel. La floculació browniana i la floculació pels esforços de tall de l'agitador. Primer, expliquem la floculació browniana causada per l'agitació tèrmica. La cinètica d'aquesta ve donada per la llei de Smoluchowski I, que diu que la disminució de la concentració de partícules és de segon ordre, perquè xoquen entre elles. Així:

$$-\frac{dy_i}{dt} = K_A y_i^2 \tag{6.17}$$

on y_i és la concentració de partícules, expressada en mol/m^3 en el líquid. La constant cinètica val:

$$K_A = 8\pi D_{12} N_A L_{mol} \tag{6.18}$$

on suposem que L_{mol} ve donada per l'equació de Stokes-Einstein per a la difusió d'esferes en un fluid:

$$L_{mol} = \frac{kT}{3\pi D_{12}\mu} \tag{6.19}$$

on k és la constant de Boltzmann i D_{12} és la difusivitat de la proteïna en aigua. La integració de l'equació cinètica anterior de $y = y_0$ a $t = 0$ dóna:

$$y_i = \frac{1}{K_A t + 1/y_{i0}} \tag{6.20}$$

o bé:

$$\frac{y_i}{y_{i0}} = \frac{1}{1 + K_A y_{i0} t} \tag{6.21}$$

Definint el pes molecular de la partícula com M, a l'instant t tindrem que es complirà que $M\, y_i = M_0\, y_{i0}$ i, per tant, M a $t = t$ valdrà:

$$M = M_0(1 + K_A y_{i0} t) \tag{6.22}$$

Aquest relació lineal entre el temps i el pes molecular es pot veure a la figura 6.5, per la coagulació de caseïna, per a tres concentracions de proteïna. Així, doncs. durant l'etapa de creixement de les partícules, es compliran les dues equacions anteriors, yi (t) i M(t). El nombre de partícules a $t = t$ és, doncs, lineal amb t, i el PM també.

6.2.4 Floculació per esforços de tall de l'agitador (agregació ortocinètica)

A més, es produeix el creixement del precipitat degut al gradient de cisalla que l'agitador imposa al líquid. Aquest és també de segon ordre respecte de y_i i actua en paral·lel al moviment brownià. La cinètica ve donada per l'expressió de Smoluchowski II, també de segon ordre:

$$-\frac{dy_i}{dt} = K y_i^2 \tag{6.23}$$

on la constant K val:

$$K = \frac{2}{3}\alpha y_i d^3 \bar{\gamma} \tag{6.24}$$

on α és el factor d'eficàcia de col·lisions útils, no més gran que 0,05. El valor mitjà representa el gradient de cisalla mitjà de γ causat per l'agitació (teoria de Kolmogórov). Segons autors d'estudis de floculació d'aigües, es recomana calcular la cisalla mitjana a partir de la dissipació d'energia per unitat de massa de líquid deguda a l'agitador:

$$\bar{\gamma} = \left(\frac{P/V}{\rho \nu} \right)^{1/2} \tag{6.25}$$

Integrant l'equació cinètica, entre t_0 i t, s'obté l'expressió següent:

$$y_i = y_{i0} \exp\left(-\frac{4\alpha\varphi\bar{\gamma}}{\pi} t \right) \tag{6.26}$$

que dóna la desaparició exponencial de partícules per agregació de les existents, on ϕ és, a la fracció en volum de partícules (esfèriques) de diàmetre d:

$$\varphi = \left(\pi d^3 / 6 \right) y_i N_A \tag{6.27}$$

on y_i és la concentració de partícules, mol/m^3, i N_A és el nombre d'Avogadro. A continuació, veiem com podem aplicar aquesta cinètica al cas de la floculació de proteïna en un tanc de 100 L en discontinu.

Exemple 6.4. Precipitació d'un enzim en un tanc agitat que opera per càrregues.

Es vol precipitar una proteïna (catalasa) d'una mescla d'enzims que conté colesterol oxidasa, que és el producte que volem. La catalasa té un pes molecular de 250.000 i una densitat de precipitat de 1.300 kg/m^3; el diàmetre en la dissolució de la proteïna és de 10,4 nm i el coeficient de difusió és de 4,1 × 10^{-11} m^2/s. El mètode de precipitació es basa a introduir un canvi brusc de pH en un recipient de 100 L, que disposa d'un agitador de 75 W. La concentració inicial és de 200 g/m^3 i el coeficient d'eficàcia de col·lisió α es pot prendre com 0,05. Feu una estimació de:

a) el temps a partir del qual comença l'etapa de floculació de segon ordre;

b) la concentració de partícules en aquest instant, i

c) el temps necessari per obtenir partícules de 0,100 mm, aptes per a ser centrifugades.

a) Considerem que el temps de difusió és el temps de micromescla estimat per la teoria de Kolmogórov. Així, tindrem:

$$L_e = \left(\frac{\rho \nu^3}{P/V} \right)^{1/4} = \left(\frac{10^3 \left(10^{-6}\right)^3}{750} \right)^{1/4} = 3{,}39 \times 10^{-5} m$$

d'on el temps de Kolmogórov valdrà:

$$t_\kappa = \frac{L_e^2}{4D_{12}} = \frac{\left(3{,}39 \times 10^{-5}\right)^2}{4 \times 4{,}11 \times 10^{-11}} = 7s$$

A partir de 7 s, controla l'etapa de floculació lineal de les partícules.

b) L'equació que relaciona la concentració de partícules y_i amb el temps és:

$$\frac{1}{y_i} = \frac{1}{y_{i0}} + \left(8\pi D_{12} N_A L_{mol}\right) t$$

on y_{i0} és la concentració inicial de partícules que comencen a créixer, d'on:

$$y_{i0} = \frac{200}{250.000} = 8 \times 10^{-4}\, mol / m^3$$

i 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 coeficient K_A, de t, valdrà:

$$K_A = 8 \times \pi \times 4{,}1 \times 10^{-11} \times 2{,}06 \times 10^{23} \times 10{,}64 \times 10^{-9} = 6{,}59 \times 10^6\ m^3 / (mol \cdot s)$$

d'on la concentració després de 7 s valdrà:

$$\frac{1}{y_i} = \frac{1}{8 \times 10^{-4}} + 6{,}59 \times 10^6 \times 7 = 46{,}1 \times 10^6\ m^3 / mol$$

Per tant, al final d'un període de 0 a 7 s, les concentracions de partícules seran les següents:

$$y_i = 2{,}1 \times 10^{-8}\ mol / m^3$$
$$y_{i0} = 8 \times 10^{-4}\ mol / m^3$$

c) Amb la hipòtesi del creixement degut a esforços de tall, a continuació calculem el temps necessari perquè les partícules creixin fins a 0,200 mm.

El PM de les partícules de 0,100 mm valdrà,

$$\overline{M} = N_A \left(\frac{\pi d^3}{6}\right) \rho = 6{,}02 \times 10^{23} \times \left(\frac{\pi 0{,}01^3}{6}\right) 1{,}3 = 4{,}1 \times 10^{17}\ g / mol$$

d'on:

$$y_i = \frac{0{,}2 g}{L} = \frac{0{,}2}{10^3}\left(\frac{1}{4{,}1 \times 10^{17}}\right) = 4{,}9 \times 10^{-22}\ mol / cm^3 = 4{,}9 \times 10^{-16}\ mol / m^3$$

Ara plantegem el creixement exponencial, per tal de calcular el temps t, en què d = 0,01 cm:

$$y_i = y_{i0} \exp\left(-\frac{4\phi\alpha\bar{\gamma}}{\pi} t\right)$$

$$\phi = \left(\frac{3,14}{6} d^3\right) y_i N_A = \frac{3,14}{6}(0,01)^3 4,9\times10^{-22}\times6,02\times10^{23} = 1,54\times10^{-4}\,(\textit{fracció volum})$$

$$\bar{\gamma} = \left(\frac{P/V}{\rho\nu}\right)^{1/2} = \left(\frac{750}{10^3 10^{-6}}\right)^{1/2} = 866 s^{-1}$$

d'on tindrem:

$$\ln\frac{y_{i0}}{y_i} = 28,12 = \frac{4\times1,5\times10^{-4}\times0,05\times866}{\pi} t$$

$$t = 3383 s = 0,94 h$$

Observeu la dependència del temps respecte del paràmetre α i, per tant, la forta dependència del model d'un paràmetre força incert.

6.2.5 Ruptura i degradació mecànica del precipitat

La descripció cinètica considerada en discontinu és aproximadament correcta si es menystenen els efectes de la ruptura del precipitat deguda als esforços de tall de l'agitador sobre els precipitats formats. Per a fraccions petites en volum i per a precipitats de petites dimensions (< 0,02 mm) això és acceptable. Els treballs de Glatz *et al.* indiquen, però, que això no és així i que, quan es tracta de flocs grans o quan hi ha grans fraccions en volum de precipitat, s'ha de tenir en compte la cinètica de ruptura. A la figura 6.7, s'observa l'efecte del diàmetre dels agregats en funció del temps per ruptura (Brown i Glatz, 1987).

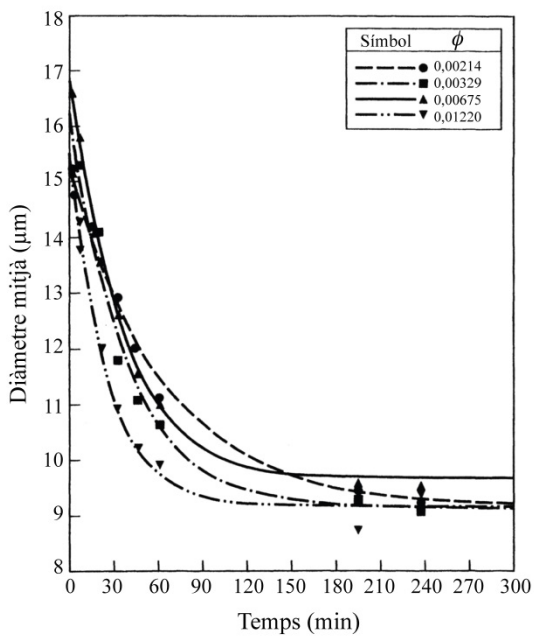


Fig. 6.7
Diàmetre mitjà de les partícules de precipitat durant la degradació de la proteïna a diverses fraccions en volum de precipitat, subjecte a cisalla de 1.340 s^{-1}. ϕ és la fracció en volum de precipitat (Brown i Glatz, 1987)

Al final del capítol anterior (Floculació), hem dit que en el disseny dels floculadors horitzontals era important mantenir el gradient de tall i, en conseqüència, el temps d'estada en el floculador. Així, els flocs formats no poden estar subjectes massa temps a un gran esforç de tall. Bell *et al*. (1983) van establir la cinètica d'envelliment dels flòculs en funció de les condicions de cisalla, representades a la figura 6.8 en funció de l'anomenat *nombre de Camp*, que és el producte de l'esforç de tall mitjà de l'agitador, calculat anteriorment, i el temps en què està subjecte a aquest esforç. Aquest nombre es defineix com el producte adimensional:

$$Camp = \bar{\gamma} t \tag{6.28}$$

que representa el factor d'envelliment dels flocs (temps t a què estan sotmesos a una cisalla, γ). La figura 6.8 indica que, quan s'assoleix un valor de Camp = 10^5, els flocs es poden sotmetre a una disrupció posterior sense que això n'afecti sensiblement la grandària (v. figura 6.8).

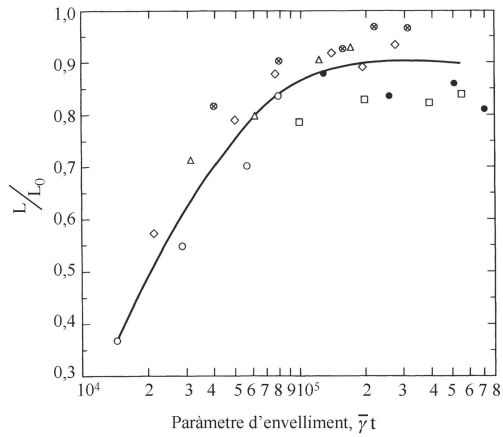


Fig. 6.8
Evolució del diàmetre mitjà del precipitat de proteïna de soja, des de L_0 fins a L, en funció del paràmetre d'envelliment o nombre de Camp després d'estar exposat a diferents gradients de tall en un capil·lar (Bell *et al.*, 1983)

En definitiva, hi ha diversos efectes que s'afegeixen a la cinètica considerada a l'exemple 6.3, que cal considerar d'una manera pràctica, incloent-hi el factor d'envelliment, el valor absolut del gradient de tall i el diàmetre de precipitat mínim convenient, a fi de centrifugar la proteïna. L'estudi per passar a un sistema continu de precipitació s'ha de fer d'una manera experimental, tenint en compte els factors esmentats, i extrapolar els resultats a un procés a una escala superior. El procés es provarà experimentalment ja sigui en discontinu, en un reactor tubular o bé en un reactor mesclat continu, i els resultats s'extrapolaran a més gran escala.

6.3 Precipitació de proteïnes a una escala més gran: les regles de canvi d'escala

Una condició per aplicar la semblança dinàmica és la semblança geomètrica dels recipients de mescla. Suposem que, tant si ho portem en discontinu com en continu, els recipients seran semblants. Això vol dir que la relació de dimensions lineals del tanc petit o model respecte al gran és la mateixa, és a dir, que els factors de forma del conjunt tanc-impulsor són iguals.

La idea és la següent. Suposem que obtenim els resultats de la figura 6.9, en què, en un recipient agitat de 0,3 L o de 200 L, s'obtenen els resultats de la figura. La grandària del precipitat depèn de l'entrada d'energia per unitat de volum al tanc. Per tant, per reproduir el resultat, volem utilitzar el mateix factor de P/V que ens dóna la grandària del precipitat obtingut al laboratori.

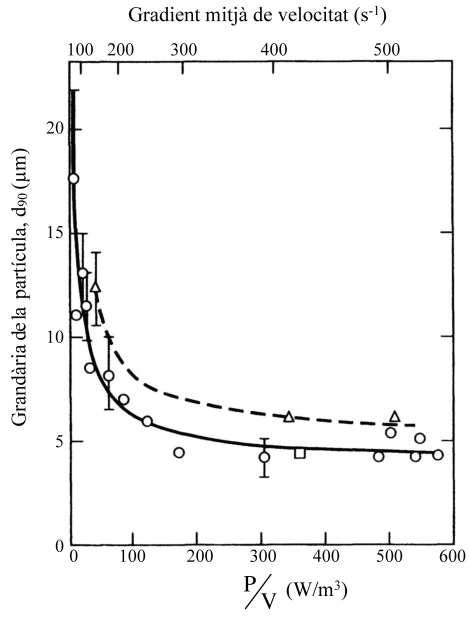


Fig. 6.9
Mida de partícula L_{90} en funció del consum unitàri de potència o el gradient mitjà de velocitat (Bell et al., 1983)

6.3.1 Canvi d'escala mantenint P/V = constant: els gradients de tall màxims

Suposem que els agitadors treballen en la zona turbulenta, que coneixem el nombre de potència Np i que hi ha semblança geomètrica (v. figura 6.7). A més, suposem que són turbines de Rushton i que els tancs tenen bafles. Tindrem que la relació P/V valdrà, per a un tanc o l'altre:

$$\frac{P}{V} = \frac{Np\rho N^3 D^5}{aD^3} \propto N^3 D^2, \quad \mathrm{Re} > 100.000 \tag{6.29}$$

On $a = ct$ de proporcionalitat. Igualant els consums de potència unitaris, tindrem, per a dos tancs semblants:

$$\left(\frac{P}{V}\right)_1 = N_1^3 D_1^2 = \left(\frac{P}{V}\right)_2 = N_2^3 D_2^2 \tag{6.30}$$

d'on la regla de canvi d'escala serà, pel criteri P/V = constant:

$$\frac{N_1}{N_2} = \left(\frac{D_2}{D_1}\right)^{2/3} \tag{6.31}$$

Calculem ara els gradients de tall màxims. Utilitzem el gradient màxim a l'extrem de la pala, en què la velocitat lineal val u_p:

$$\gamma_{\max} = C' u_p = C' \pi N D \tag{6.32}$$

on C' és una constant. La relació de gradient de tall màxim valdrà, doncs:

$$\frac{(\gamma_{\max})_1}{(\gamma_{\max})_2} = \frac{N_1 D_1}{N_2 D_2} \tag{6.33}$$

Introduint l'equació 6.31, en aquesta tindrem:

$$\frac{(\gamma_{\max})_1}{(\gamma_{\max})_2} = \left(\frac{D_1}{D_2} \right)^{1/3} \tag{6.34}$$

de manera que, en augmentar-ne la grandària, també augmentarà la relació de gradients, però menys que les velocitats perifèriques.

6.3.2 Canvi d'escala mantenint el gradient de tall constant: valors de P/V que en resulten

Fent servir un raonament semblant, s'obtenen els resultats següents. A igualtat d'esforços de tall màxims, la relació velocitat-diàmetre és:

$$\frac{N_1}{N_2} = \frac{D_2}{D_1} \tag{6.35}$$

de la qual es dedueix que els consums de potència es veuran afectats en la relació de diàmetres:

$$\frac{(P/V)_1}{(P/V)_2} = \frac{D_2}{D_1} \tag{6.36}$$

Exemple 6.5. Canvi d'escala d'un procés de precipitació.

Volem passar un procés de precipitació a un volum de V_2 = 1.000 L, extrapolant les dades d'un tanc de V_1 = 100 L per a la precipitació d'una proteïna. Al tanc petit, fem servir un agitador de tipus Rushton, que gira a una freqüència de N_1 = 270 rpm. *a*) Apliqueu el criteri més corrent P/V = constant. Calculeu, en aquest cas, la velocitat del tanc gran i quant valdrà la relació de gradients màxims de tall en els dos recipients. *b*) Si s'aplica com a criteri de canvi d'escala la constància d'esforços de tall màxims, quina relació P/V hi haurà en els dos recipients?

a) Considerem les propietats físiques de l'aigua. Les relacions de volum i de diàmetres d'impulsors seran les següents:

$$V_1 = 0{,}1 = \frac{\pi T^3}{4}$$

és a dir, $T_1 = 0{,}5$ m i $D_1 = 0{,}5/3 = 0{,}167$ m. Això dóna:

$$\mathrm{Re}_1 = \frac{(270/60) \times 0{,}167 \times 10^3}{10^{-3}} \approx 750.000 > 100.000$$

en què els volums i els diàmetres d'impulsor valdran:

$$\frac{V_1}{V_2} = \frac{1}{0{,}1} = \left(\frac{D_2}{D_1}\right)^3$$

d'on $D_2 = 2{,}14 \times D_1 = 2{,}14 \times 0{,}167 = 0{,}357$ m

Així, doncs, podem aplicar l'equació 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 qual $N_2 = 162$ rpm. Havent imposat P/V = constant en el canvi d'escala, la relació de esforços de tall màxims vindrà donada per l'equació 6.34, és a dir:

$$\frac{(\gamma_{\max})_1}{(\gamma_{\max})_2} = \left(\frac{D_1}{D_2}\right)^{1/3} = \left(\frac{D_1}{2{,}14 D_1}\right)^{1/3} = 0{,}77$$

b) Considerant els dos recipients agitats, si imposem ara que l'esforç de tall màxim sigui constant en el canvi d'escala, tindrem la relació de velocitats de l'equació 6.35, és a dir:

$$\frac{N_1}{N_2} = \frac{D_2}{D_1} = 2{,}14$$

d'on, per a $N_1 = 270$ rpm, N_2 valdrà = 125 rpm. Llavors, la relació de potències específiques dels dipòsits vindrà donada per l'equació 6.36:

$$\frac{(P/V)_1}{(P/V)_2} = \frac{D_2}{D_1} = 2{,}14$$

És a dir, el consum unitari de potència del tanc gran serà, aproximadament, la meitat del petit. Però, com que el volum del gran és deu vegades el del petit, la potència del gran serà cinc vegades la del petit.

6.4 Conclusions

En aquest capítol, s'ha estudiat l'operació de precipitació de proteïnes des de solucions aquoses. En primer lloc, s'ha tractat de la solubilitat de les proteïnes i dels mètodes de precipitació basats en l'addició de sals, cosolvents no solvents, anions, calor, etc. Les equacions empíriques emprades permeten plantejar el balanç de massa per a una precipitació (equació de Cohn). Després, s'han estudiat els aspectes quantitatius de la cinètica de precipitació amb els models de Smoluchowski, que permeten un càlcul teòric de la solubilitat en una operació de precipitació discontínua o en un reactor tubular ideal. El procés en un reactor de flux mesclat en estat estacionari produeix un precipitat que té una distribució estadística de la grandària d'una partícula. A la literatura, això es tracta fent un balanç de poblacions de partícules. Aquest aspecte no s'ha desenvolupat aquí, però el descriuen Glatz *et al*. (1986) i Levenspiel (1996). Finalment, s'han descrit i aplicat els criteris de canvi d'escala de reactors basats en la literatura sobre precipitació i centrifugació de partícules, aplicables a reactors agitats per càrregues o continus.

6.5 Notació

C	Concentració,kg/m^3
Ca	Nombre de Camp, eq 6.28
Cp	Concentració de polímer, kg/m^3
Cs	Solubilitat de la proteïna, kg/m^3
D	Diàmetre de les pales agitador,m
D_{12}	Difusivitat binària, m^2/s
E	Energia d´activació, J/mol
I	Força iònica definida per l´eq 6.5, mol/m^3
K	Constant definida per l´eq 6.2, m^3/mol
k	Const. Boltzmann,
K	Const. def eq 6.24,
k´	Const. cinètica desnaturalització, s^{-1}
$k´_0$	Factor preexponencial, eq 6.8, s-1
K_A	Const. definida per l´eq 6.18, m^3/mol s
L	Radi de la partícula esfèrica, m
L_e	Tamany de remolí, m
M	Pes molecular del precipitat, t=t, g/mol
N	Frequència de rotació, Hz
P	Potència, W
r	Radis de la esfera, r_s, i de la vareta, r_r, m
R	Const. gas ideal, 8,314 J/molK
S	Solubilitat de la proteïna a l´eq 6.4, kg/m^3
t	Temps, s
T	Diàmetre del tanc, m
t_K	Temps de micromesclade Kolmogo-roff, s
t_{micro}	Temps micromescla, s
u_p	Velocitat lineal de l´ extrem de la pala, m/s
$\underline{V}$	Volum molar parcial del polímer, m^3/mol
V	Volum, m^3
y_i	Concentració de partícules, mol/m^3
y_{i0}	Id inicial a t=0
z	Càrrega elèctrica,
β	Ordenada a l´origen de la solubilitat, eq 6.4
ϕ	Fracció en vol. partícules, eq 6.27
γ	Gradient de tall, mitjà, eq 6.25
ρ	Densitat, kg/m^3
σ	Comsum unitari de potència, W/kg
υ	Viscositat dinàmica, m^2/s

→7

Extracció líquid-líquid

Després de la fermentació, les operacions més importants de aillament del bioproducte són l'extracció líquid-líquid i l'adsorció. L'extracció és el cavall de batalla del tractament del brou de fermentació en el cas dels antibiòtics i s'estudia en aquest capítol. En l'extracció, la concentració final de solut a l'extracte pot ser del 0,5 al 5 % en pes, partint d'un brou de fermentació que conté solament 0,01-0,5 % de producte. Al capítol següent, s'explica l'adsorció sòlid-líquid, en què s'obtenen unes concentracions d'adsorbat en el solvent d'elució del 5 al 20 % en pes. Entre les dues operacions, doncs, s'assoleix un grau de concentració elevat.

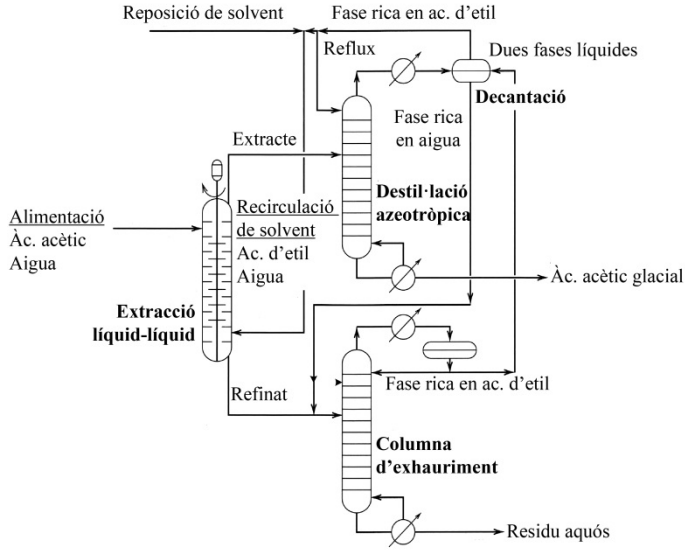


Fig 7.1
Recuperació d´àcid acètic 100% combinant un extractor amb dues columnes de destil.lació. El solvent acetat d´etil en aquest cas actua a més d´arrossegador en la destil.lació azeotròpica.

Al final de la fermentació, la concentració de solut és molt diluïda, de forma que operem el procés d'extracció en el límit de la dissolució diluïda. Tanmateix, és possible que, en conjunt, la planta recuperi solvent per extracció i destil·lació en forma de disso

lucions concentrades. Un cas típic és la recuperació d'àcid acètic aquós mitjançant l'extracció amb acetat d'etil (o un altre solvent), combinat amb columnes de destil·lació: una azeotròpica i l'altra d'exhauriment, i els decantadors corresponents (v. figura 7.1). Interessarà estudiar l'extracció tant de les solucions diluïdes com de les concentrades.

Primer es presenta l'extracció com a solució concentrada (percentatge sobre la massa de solut inicial de l'1-50 % en pes). Després, es passa a l'extracció a baixa concentració inicial (< 1 %), que és la que s'utilitza en biotecnologia. La majoria dels bioproductes no permeten concentrar el brou per evaporació a causa de les altes temperatures relatives que es fan servir. Així, doncs, s'aplica l'extracció. I, finalment, es presenten els aparells d'extracció i s'explica com s'especifica un extractor industrial.

7.1 Fonaments de l'extracció

L'extracció és una operació de transferència de massa en què un solut constituent d'una dissolució líquida se separa per contacte de la dissolució original amb un altre líquid –el solvent–, immiscible o parcialment miscible en el primer. El solut tendeix a distribuir-se entre el diluent (solvent inicial) i el solvent d'extracció, d'acord amb les lleis de l'equilibri termodinàmic. Si el solut passa preferentment al solvent, s'assoleix un grau apreciable de separació. El solut es pot extreure quasi totalment, amb un nombre determinat de contactes, amb més solvent. L'extracció funcionarà sempre que hi hagi dues fases líquides. Hi ha un marge de concentracions de solvent útils, que donen lloc a dues fases líquides i permeten, doncs, l'extracció.

Un exemple d'aquest procés és l'extracció de l'àcid acètic d'una dissolució aquosa, diluïda per contacte repetit amb acetat d'etil com a solvent d'extracció. El solvent extreu selectivament l'àcid acètic a la fase orgànica, però no n'extreu tant l'aigua. El procés, combinat amb operacions de destil·lació, es representa a la figura 7.1 i permet recuperar àcid acètic glacial (100 %) i solvent d'extracció força pur, amb vista a reciclar a l'extractor, com també l'aigua de l'àcid humit.

L'extracció es duu a terme en una sèrie de mescladors-decantadors en continu (v. figura 7.2) o en una columna de contacte continu en què les fases líquides circulen a contracorrent gràcies a les diferències de densitat, a través d'un sistema integrat de mescladors-sedimentadors (v. figura 7.2). Més endavant veurem els aparells d'extracció utilitzats.

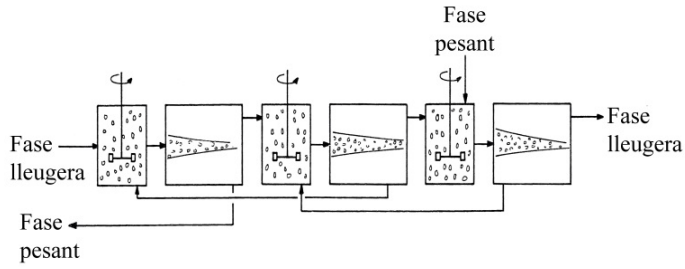


Fig 7.2
Sèrie de 3 extractors-sedimentadors operant a contracorrent. Aquesta instal.lació dóna un rendiment d´etapa proper al 100% si està ben calculat.

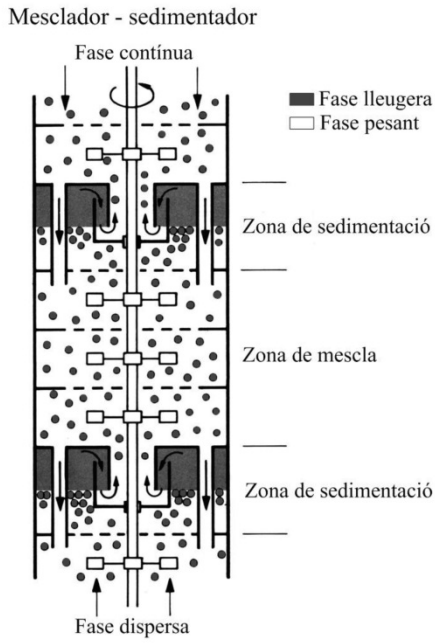


Fig 7.3
Tram d´un extractor Kühni, que combina 3 zones de mescla mecànica i una zona de sedimentació. La fase lleugera ascendeix en forma de gotes, sedimentant sota els plats, dels quals sobreiix, cap a la secció superior per gravetat. El rendiment d´etapa és proper al 50-60% (vegeu Fig 7.10)

Anomenem corrent d'alimentació, F, la dissolució original que s'ha de tractar, la qual conté solut i diluent. El líquid que té afinitat selectiva s'anomena *solvent*, S. El corrent de producte ric en solut s'anomena *extracte*, E, i el líquid residual, *refinat*, R. El solut es designa C. Se suposa idealment que els corrents de l'extracte i del refinat surten del contactor en equilibri respecte del solut C, és a dir, s'assoleix una extracció d'equilibri. Sovint el rendiment de l'extracció no és del 100 % i, per tant, es parla d'un rendiment d'extracció a cada etapa o en el conjunt de les etapes. Tanmateix, amb un sistema com el de la figura 7.2, es pot assolir un rendiment de prop del 100 %. En canvi, a la columna de la figura 7.3 el rendiment d'etapa és més baix, potser del 60 %.

7.1.1 Constants d'equilibri: solvents d'extracció

Després del contacte, tant E com R contenen solut, però en proporció diferent. S'anomena *constant d'equilibri d'extracció*, m, o *constant de distribució*, la fracció de y i x en equilibri:

$$m_i = \left(y_i / x_i\right)_{eq} \qquad \text{i=A,B,C} \tag{7.1}$$

on y_i i x_i són fraccions en massa del solut i a la fase d'extracte i de refinat, respectivament, expressades en kg de solut/kg de fase, per bé que alguna vegada es poden fer servir kg de solut/m^3 de fase. El valor de *m* pot variar amb la composició de les fases. Es defineix com selectivitat del component j respecte al component i, la relació:

$$\beta_{ji} = m_j / m_i \tag{7.2}$$

convé que m > 1. En presència de contaminants, cal que la beta sigui més gran que 1, cosa que dóna una extracció selectiva. Si m es gran, es podrà fer l'extracció en poques

etapes. Si beta és igual a 1, no es podran separar per extracció els components de la mescla o els contaminants que acompanyen el solut. El valor de m depèn de la temperatura, del pH i de la constitució de les fases (afinitat del solut pel diluent i pel solvent). La millor manera de calcular m és determinant la solubilitat del solut en el sistema. L'estimació de m es pot fer a partir dels coeficients d'activitat de les fases líquides a dilució infinita (a partir de les dades d'ELV) o a partir de les solubilitats mútues de les fases (dades d'ELL). Com que no es disposa de moltes dades, es recomana la determinació experimental de m, de forma directa, o bé de les dades d'extracció. A la taula 7.1, es donen les constants d'equilibri per a diferents aminoàcids, antibiòtics i proteïnes d'interès en biotecnologia (v. Perry-Green, 1997, per a sistemes ternaris aquosos industrials).

Taula 7.1
Constants d'equilibri en diversos solvents d'extracció

Bioproducte	Solvent d'extracció	Condicions	m= C_E/C_R *
Àcids carboxílics			
Àcid cítric	n-butanol	25ºC	0,29
Àcid succínic	n-butanol	25ºC	0,26
Alcohols			
Etanol	n-octanol	25ºC	0,49
n-butanol	n-octanol	25ºC	7,6
Cetones			
MEK	n-octanol	25ºC	1,95
Antibiòtics			
Penicil·lina F	acetat amil	pH=4	32
Penicil·lina F	acetat amil	pH=6	0,06
Eritromicina	acetat amil	pH=6	120
Eritromicina	acetat amil	pH= 10	0,04
Enzims, proteïnes			
Glucosa-isomerasa	PEG1500/fosfat K		3
Catalasa	PEG/dextran		3

* C expressat en mol/L; PEG/dextran solvent aquós bifàsic.

7.1.2 Selecció del dissolvent

El solvent es procura que sigui efectiu i selectiu, que sigui fàcil de recuperar i que no reaccioni amb el producte. Les condicions ideals són:

1. Una bona selectivitat, $\beta > 1$

2. Un coeficient de repartiment favorable, $m > 1$. Si $m > 1$, es requereix menys solvent, però si $m < 1$, també es pot extreure.

3. La insolubilitat del solvent, preferiblement.

4. La recuperabilitat. Com que es fa servir la destil·lació, és convenient que no formi azeòtrops. També és preferible una alta volatilitat.

5. Un fluid supercrític (propà o CO_2 com a solvent), perquè va bé per deslliurar el solut totalment de solvent.

6. Una gran diferència de densitat entre el diluent i el solvent.

7. Una tensió superficial intermèdia, no excessivament alta, ja que primer hem d'induir la formació de gotes, però després en volem portar a terme la coalescència i la decantació.

8. Nivells baixos de toxicitat, inflamabilitat, agressivitat, corrosivitat i cost. Estabilitat química.

7.1.3 Sistemes de tipus I i de tipus II: coordenades rectangulars

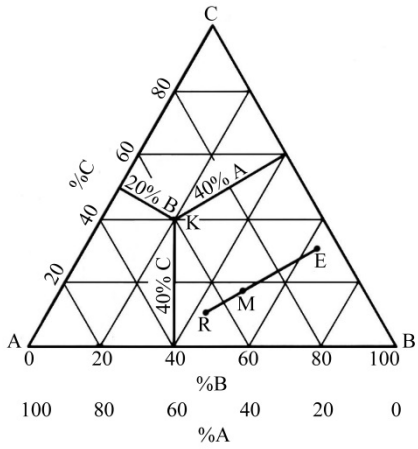


Fig 7.4
Diagrama triangular equilater. Els vèrtex A, B, i C. representen els components purs. La suma de les 3 alçades és 100. Així doncs permet representar 2 mescles ternàries. La mescla de R kg i E kg dóna un punt M de R+E kg, alineat amb aquells. Vegeu eq. 7.3.

En un sistema d'extracció, hi ha tres components com a mínim: els líquids A i B, i el solut C, que es distribueix. Es designa amb E els kg d'extracte; amb R, els kg de refinat, i amb B, els kg de solvent. Les mescles ternàries es representen en un triangle equilàter (v. figura 7.4). Els vèrtexs representen els components purs; els costats del triangle, les dissolucions binàries, i els punts interiors, les mescles ternàries. S'utilitza el triangle equilàter, que té la propietat que les tres altures d'un punt interior sumen un valor constant, de manera que les altures es poden fer servir com a mesura de la composició del punt. Una altra propietat és que, si es mesclen dos corrents (dos punts), el punt de mescla és a la recta que els uneix, i la seva composició segueix la regla de la palanca (v. figura 7.4), és a dir:

$$\frac{R}{E} = \frac{segment\ ME}{segment\ MR} = \frac{x_E - x_M}{x_M - x_R} \tag{7.3}$$

on les x són les altures dels punts E, M i R sobre l'horitzontal i representen, en aquest cas, les fraccions de C en les mescles E, R, i M. De l'equació anterior, mesurant ME i MR, es troba x_M.

Aquestes dues propietats fan que la representació triangular sigui útil per als càlculs d'extracció. Al triangle, els vèrtexs representen els components purs. Els tres costats representen tres mescles binàries. En els sistemes de tipus I, hi ha dues solucions binàries totalment miscibles i un parell de parcialment miscibles. Dins la corba de campana, els punts representen mescles inestables que se separen en dues fases en equilibri, connectades per una línia d'equilibri o línia d'enllaç. Fora de la campana, l'extracció no és possible, ja que hi ha una sola fase líquida. Els extrems de les línies d'enllaç són punts en equilibri, com ara E i R, i les seves composicions compleixen la constant d'equilibri, y/x = m. El sistemes de tipus I tenen un punt crític on convergeixen les línies d'enllaç i on es compleix que m = 1. S'observa que, per descriure un sistema, a vegades s'ha d'agafar un valor mitjà de m ja que, per al conjunt de línies d'enllaç, m no és constant. Per a un rang de m i dissolucions properes, a vegades s'agafa un valor mitjà adequat:

$$m = \sqrt{m_1 m_2} \tag{7.4}$$

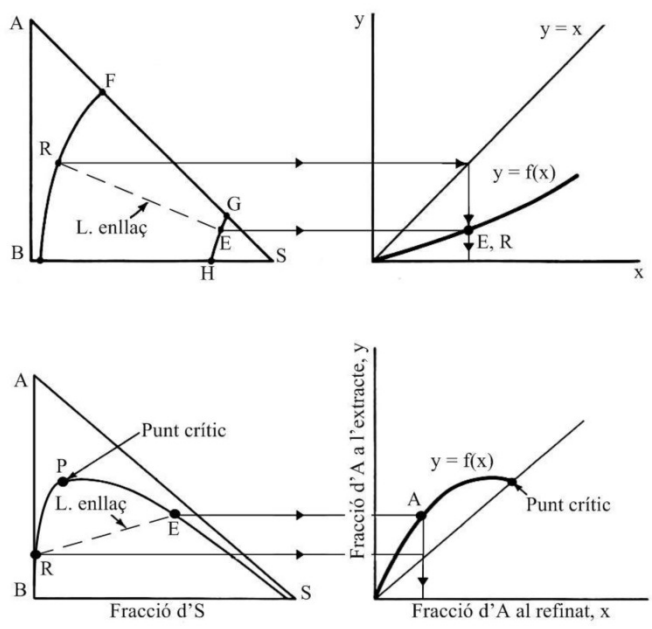


Fig 7.5. Per a fer càlculs va bé el triangle rectangle, on x i y es representen en ordenades, en un diagrama McCabe-Thiele. El sistema de dalt és tipus II i el de baix, de tipus I. Les rectes de traços son les línies d´enllaç del triangle. A partir d´aquestes es pot dibuixar el sistema x-y, que permet interpolar línies d´enllaç.

En els sistemes de tipus II (v. figura 7.5), tan sols hi ha una mescla binària totalment miscible, i no hi ha un punt crític visible a la temperatura d'interès. Canviant la temperatura (i/o la pressió), es pot passar d'un sistema a un altre (Treybal, 1980; Fair *et al.*, 1982).

A vegades, es prefereix emprar les coordenades rectangulars o de McCabe-Thiele. A la figura 7.5, s'indica com passar a coordenades rectangulars, i com obtenir la línea d'equilibri a partir dels extrems d'una línia d'enllaç i fer la interpolació de línies d'enllaç a partir de la línia d'equilibri.

7.2 Càlcul del nombre d'etapes d'equilibri

Considerem sistemes amb miscibilitat parcial i alimentació concentrada.

7.2.1 Un mesclador-sedimentador continu o discontinu

Fem servir el triangle rectangle, en comptes de l'equilàter, perquè és més manejable (v. figura 7.6 *supra*). Representa l'extracció d'àcid acètic aquós amb una cetona (MIBK) parcialment miscible amb aigua. Les equacions de balanç global i de solut són, respectivament:

$$F + S = M_1 = E + R \tag{7.5a}$$

$$Fx_F + Sy_s = Ey + Rx = M_1 x_M \tag{7.5b}$$

Resolució gràfica:

1. Situem el punt de mescla M sobre la recta que uneix x_F i S. 2) Situem la recta d'enllaç que passa per M i determinem la fracció de M, x_M; calculem x i y, de R i E, llegint-los al gràfic. 3) Calculem E segons:

$$E = \frac{M_1(x_M - x)}{y - x} \tag{7.6}$$

2. Finalment, calculem R del balanç global R = F + S - E.

   (S/F)màxim i mínim: la quantitat de solvent S/F per kg d'alimentació serà:

$$\frac{S}{F} = \frac{x_F - x}{x_M - y_S} \tag{7.7}$$

Els valors màxim i mínim de solvent vénen donats per les interseccions més propera i més llunyana al vèrtex S de la recta FS, de manera que hi coexisteixin dues fases.

7.2.2 Contactes amb corrents encreuats (o per càrregues successives)

Considerem la figura 7.6 *infra* i ara extraiem diverses vegades amb solvent pur. El primer contacte amb solvent S_1 dóna un refinat R_1 i un extracte E_1. El refinat R_1 s'obté de separar-lo a l'etapa 1. Ara, a l'etapa 2, posem en contacte el refinat R_1 amb més solvent S_2. Els punts de mescla es poden observar en el diagrama triangular inferior esquerre (v. figura 7.6).

Exemple 7.1.

En una etapa d'un procés es posen en contacte 50 kg/min d'aigua pura amb 50 kg/min d'una alimentació que té un 35 % de pes d'àcid acètic i un 65 % de metil-isobutil-

cetona (MIBK). Determineu la quantitat d'àcid acètic a la mescla total i les composicions de l'extracte i del refinat que surten en equilibri. (v. figura 7.6 superior).

$$F = 50$$
$$S = 50$$
$$S/F = 1$$
$$xF = 0,35$$

Sobre el gràfic de la figura 7.6, localitzem el punt M (el 50 % del segment SF) i x = 0,16 i y = 0,185, d'on, aplicant les equacions 7.5 i 7.6, tindrem:

$$x_M = \frac{50 \times 0,35 + 50 \times 0}{100} = 0,175$$
$$E_1 = \frac{100 \times (0,175 - 0,16)}{0,185 - 0,16} = 60\, kg/\text{min}$$
$$R_1 = 100 - 60 = 40\, kg/\text{min}$$

$$\text{Recuperació} = E_1 y_1 / F x_F = 60 \times 0,185/50 \times 0,35 = 0,68 \ (68\%)$$

Exemple 7.2. Recuperació d'àcid acètic en dues etapes.

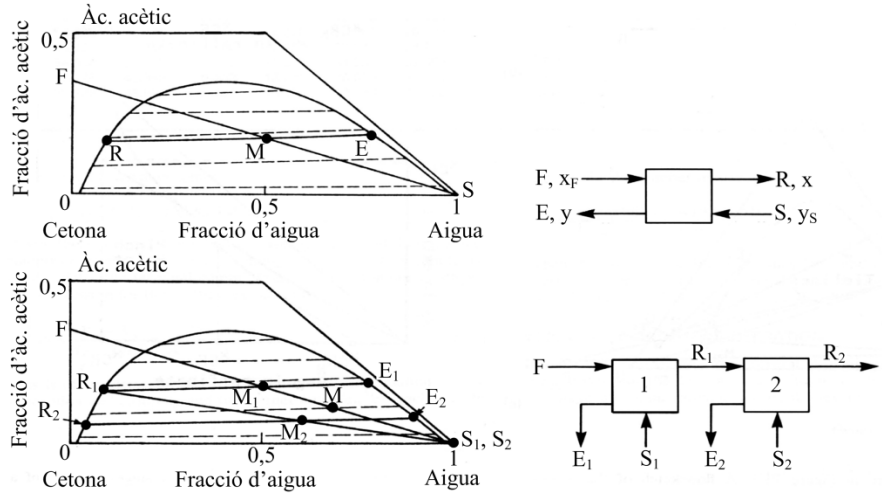


Fig. 7.6 Exemples de càlcul 7.1 i 7.2. Els valors de x i y es donen al text.

Una dissolució d'àcid acètic al 35 % en MIBK (65 %) s'extreu amb aigua pura en dos mescladors-sedimentadors seguits amb corrent encreuat. L'alimentació F és de 100 kg/min. Les alimentacions d'aigua són de 100 kg/min a cada mesclador. Calculeu les composicions i les quantitats d'extracte i de refinat de cada mesclador.

Vegem ara l'augment de recuperació fent servir dues etapes en sèrie (v. figura 7.6 inferior). Al primer extractor, tindrem:

$$F = 100$$

$$x_F = 0,35$$
$$S = 100$$
$$F + S = M1 = E + R = 200$$
$$x_{M1} = \frac{Fx_F + Sy_s}{M1} = \frac{100 \times 0,35 + 0}{200} = 0,175$$
$$E_1 = 120\,kg/\text{min}$$

d'on s'obté que $R_1 = 80$ kg/min.

La resolució de la segona etapa d'extracció dóna: $x_{M2} = 0,071$, $y_2 = 0,071$ i $x_2 = 0,058$. I les quantitats màssiques: $M_2 = 180$ kg/min, $x_{M2} = 0,071$. Per tant, els resultats seran ara:

$$R_1 + S_2 = E_2 + R_2 = M_2 = 180\,kg/\text{min}$$
$$x_{M2} = \frac{R_1 x_1 + S_2 y_s}{M_2} = 0,071$$
$$E_2 = 11,3\,kg/\text{min}$$
$$R_2 = 67\,kg/\text{min}$$

i la recuperació valdrà 30,2/35 = 0,87 (87 %)

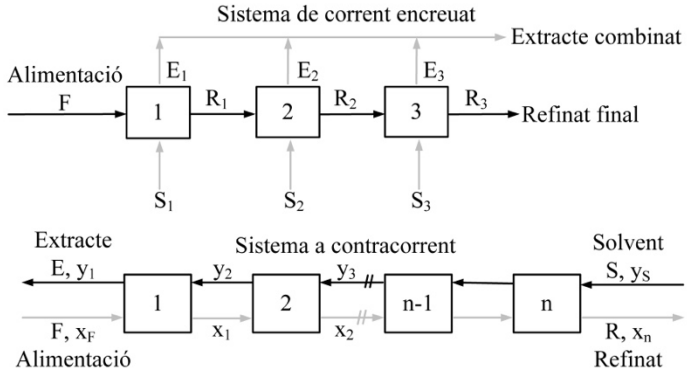


Fig 7.7
Dalt: extracció a corrent encreuada (continu o discontinu), Baix: extracció amb múltiples mescladors-sedimentadors en sèrie a contracorrent.

7.2.3 Multietapa a contracorrent, líquids parcialment miscibles

Considerem ara un sistema de N mescladors-sedimentadors (v. figura 7.7) que treballen en continu en estat estacionari, amb solvent a contracorrent. En podem establir un balanç global, com ara:

$$F + S = R_N + E_1 = M \tag{7.8}$$

i un balanç de solut als extrems de la sèrie:

$$Fx_F + Sy_s = R_N x_N + E_1 y_1 = Mx_M \tag{7.9}$$

Per tant, es compleix que R_N, E_1 i M estan alineats, i F, S i M també ho estan. El valor x_M s'obté de les equacions anteriors:

$$x_M = \frac{Fx_F + Sy_S}{F + S} \tag{7.10}$$

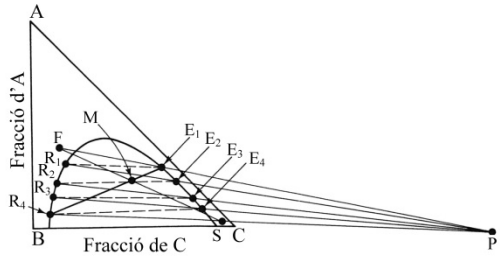


Fig 7.8
Dalt: Construcció gràfica sobre triangle rectangle de 4 extractors-sedimentadors en sèrie. Les línies de punts son rectes d'enllaç. El punt P és el focus.

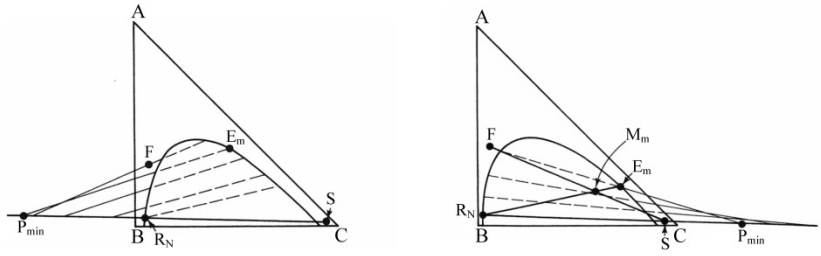


Fig 7.9
Baix: Càlcul del solvent mínim, S_{min}, segons els 2 casos possibles (vegeu text). El punt P és el focus.

Els punts F,E_1 i P estan sobre la mateixa recta que els punts R_N, S i P. I, com que aquests punts representen rectes diferents, el punt P ha d'estar a la seva intersecció. Per tant, permet situar P. Considerem ara un balanç global de solut a l'etapa n. Tindrem:

$$R_{n-1} + E_{n+1} = R_n + E_n \tag{7.11}$$

$$R_{n-1} - E_n = R_n - E_{n+1} = P \tag{7.12}$$

és a dir, la recta que passa pels punts R_{n-1} i E_n, i la que passa pels punts R_n i E_{n+1}, passa també pel pol P. Així, doncs, el pol P representa els focus de totes les rectes que representen els cabals successius. La figura 7.8 il·lustra aquest fet, del qual es deriva la construcció gràfica del nombre d'etapes, basat en l'equació 7.13. A la figura 7.8, amb 4 etapes, extraiem prou solut per deixar el refinat al valor prefixat x_N, que és l'especificació del problema d'extracció.

Solvent mínim. La construcció de la figura 7.8 depèn de la posició del punt M i, per tant, del S/F escollit. Els límits de solvent vénen representats a la figura 7.8, segons si les línies d'enllaç surten per l'esquerra del gràfic o per la dreta, i corresponen a un nombre infinit d'etapes. El mínim solvent correspon al cas en què la línia d'enllaç que

passa per E_1 passi per l'alimentació F i per P. Per tant, el nombre d'etapes es fa infinit. A la figura 7.8, s'observa que l'extracció té pinçament, ja que la primera línia d'enllaç passa per F i E_1, i la construcció gràfica és impossible. A la pràctica, el valor corrent de S/F és 1,6 $(S/F)_{min}$. El valor màxim de S, $S_{màx}$ correspon al valor de la recta SMF en el límit d'existència de dues fases líquides, a prop del vèrtex del solvent. El valor de solvent que s'ha d'utilitzar realment es troba per optimització econòmica.

7.2.4 Rendiment d'etapa i rendiment global

El càlculs fet fins ara suposen que s'arriba a l'equilibri en cada etapa. Però, si no es disposa d'informació de la velocitat de transferència de massa, no se'n pot calcular el rendiment. Aquest depèn del tipus particular d'extractor. Per exemple, a l'extractor Kühni (v. figura 7.2), el rendiment d'etapa depèn d'uns quants factors clau (cabal, dispersió axial, temps de contacte, potència per unitat de volum, retenció i dispersió entre reixes, etc.). A la figura 7.10, es representa el rendiment d'etapa d'aquest extractor.

El rendiment global és el del projecte d'un aparell i representa les etapes ideals per etapa real. Aquest rendiment és, com a màxim, del 55 % per a una columna d'extracció. Així, a manca d'altres dades, farem:

$$N_{reals} = \frac{N}{0,55} \tag{7.13}$$

Més endavant es veurà que, per als equips industrials, a partir de l'altura del plat teòric (HETS), no caldrà suposar el rendiment.

En els conjunts de mesclador-sedimentador, es poden obtenir rendiments propers al 100 %.

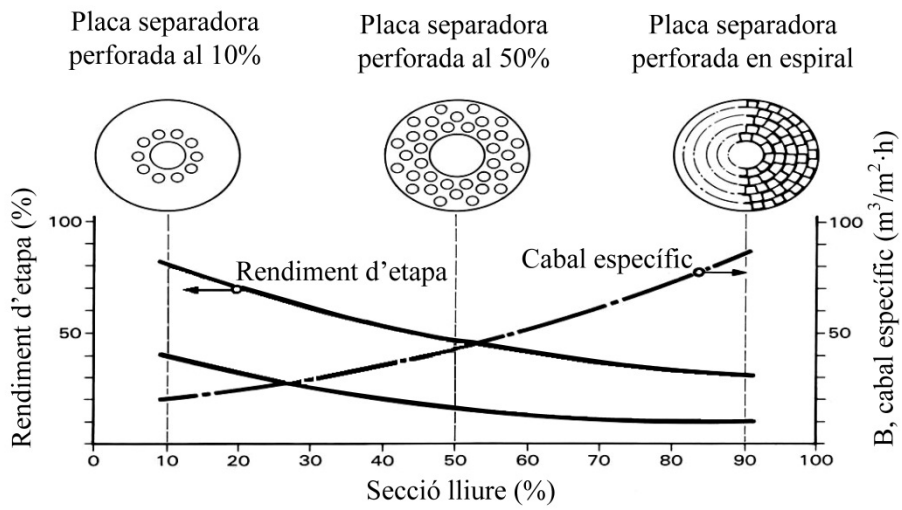


Fig 7.10
Esquerra: Rendiment d´etapa (o de Murphree) d´un extractor Kühni, en funció del la abertura en % de la secció. Dreta: Cabal especific de l´extractor és B= F+S, m^3/m^2h. (vegeu text). El punt P és el focus.

7.3 Dissolucions diluïdes, solvents totalment immiscibles

7.3.1 Aplicacions en biotecnologia

Considerarem l'extracció en el límit de la llei de Henry i, a més, que el solvent i el diluent són totalment immiscibles. Per tant: 1) els cabals d'extracte i de refinat al llarg de la sèrie de contactes seran constants, i iguals als corrents de solvent i d'alimentació, respectivament, i 2) s'arribarà a l'equilibri a cada etapa. Considerem la bateria de contactes de la figura 7.7 *infra.*

Un balanç del solut global entre l'extrem de la sèrie (n = 1), fins a l'etapa n-1, i N, en estat estacionari, dóna:

$$Fx_F + y_s S = x_{n-1} F + y_1 S \tag{7.14}$$

I, fent $y_S = 0$ (el solvent entra pur), es té:

$$y_n = \frac{F}{S} x_{n-1} + \frac{y_1 S - x_F F}{S} \tag{7.15}$$

que és una recta d'operació de pendent F/S, al gràfic x-y, que talla l'eix d'abscisses al punt (x_n, y_S). La recta d'operació dóna un y_n conegut x_{n-1}. D'altra banda, la recta d'equilibri ara té la forma y = mx, amb m aproximadament constant en el rang de treball (vegeu, si no, l'equació 7.4). Aquestes rectes es representen a la figura 7.11 i permeten la construcció de McCabe-Thiele i el càlcul del solvent mínim (F/S) min.

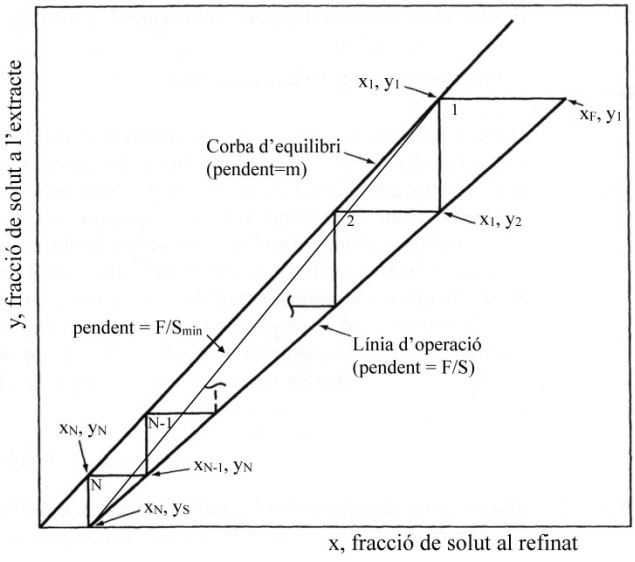


Fig 7.11
Construcció gràfica per a E i R const. al llarg d´una sèrie d´etapes. L´alimentació és x_F i la sortida x_N. En condicions de S mínim, l´extracte i alimentació surten en equilibri i llavors N= ∞.

Si no es compleix la hipòtesi de dissolució diluïda, les coordenades del problema es refereixen a la unitat de massa del component inert a cada fase. Així, doncs, X = x/(1-x), Y = y/(1-y), les unitats de les quals són, llavors, kg de solut/kg de solvent o de diluent, respectivament.

7.3.2 Factor d'extracció i equació de Kremser

Es defineix el factor d'extracció, E_x, per a solucions diluïdes, a T = ct, com la relació entre el pendent de la línia d'equilibri, m, i el de la línia d'operació, F/S (v. figura 7.11). Per a una etapa ideal, tindrem:

$$E_x = mS/F = \left(\frac{y}{x}\right)\frac{S}{F} = \frac{kg\ sol\ ut\ en\ extracte}{kg\ sol\ ut\ en\ refinat} \tag{7.16}$$

Fent un balanç del solut a l'última etapa, n = N (amb $y_s = 0$), tenim:

$$x_{n-1}F = x_nF + Y_nS \tag{7.17}$$

que es pot escriure en funció de E_x com:

$$x_{n-1} = (E_x + 1)x_n \tag{7.18}$$

Per a la penúltima etapa, n-1:

$$x_{n-2} = (E_x^2 + E_x + 1)x_n \tag{7.19}$$

etc., fins arribar a l'alimentació (etapa 1), en què tindrem un total de n = N etapes. Sumant la sèrie (sèrie geomètrica de raó Ex), s'obté:

$$x_F = (E_x^N + ... + E_x^2 + E_x + 1)x_N = \left(\frac{E_x^{N+1} - 1}{E_x - 1}\right)x_N \tag{7.20}$$

Aquesta equació ens dóna la relació entre el nombre d'etapes ideals, N; la fracció residual de solut, x_N/x_F, i el factor d'extracció, E_x, i s'anomena *equació de Kremser*, que podem escriure com:

$$\frac{x_N}{x_F} = \frac{E_x - 1}{E_x^{N+1} - 1} \tag{7.21}$$

d'on, aïllant N+1, tindrem:

$$N + 1 = \frac{\log\left[\frac{x_F}{x_N}(E_x - 1) + 1\right]}{\log E_x} \tag{7.22}$$

amb les condicions $y_s = 0$ i $E_x = mS/F$, m= const. Casos particulars:

$$\frac{x_N}{x_F} = 1 - E_x \quad per\ a\ E_x < 1\ i\ N\ gran \tag{7.23}$$

$$\frac{x_N}{x_F} = \frac{1}{N+1} \quad per\ a\ E_x = 1 \tag{7.24}$$

La figura 7.12 esquerra il·lustra l'equació de Kremser de forma gràfica: el valor de x_N/x_F en funció de N, a E_x = const., per al cas en què y_s no sigui zero; per al cas que compleixi la llei de Henry, $y = mx$, amb m = const., i per a solucions diluïdes. La figura 7.12 és útil per fer càlculs ràpids. El factor E_x equival al *factor de desorció* (1/A) d'un solut gasós contingut en un líquid, excepte que aquí es defineix en massa (v. equació 7.17).

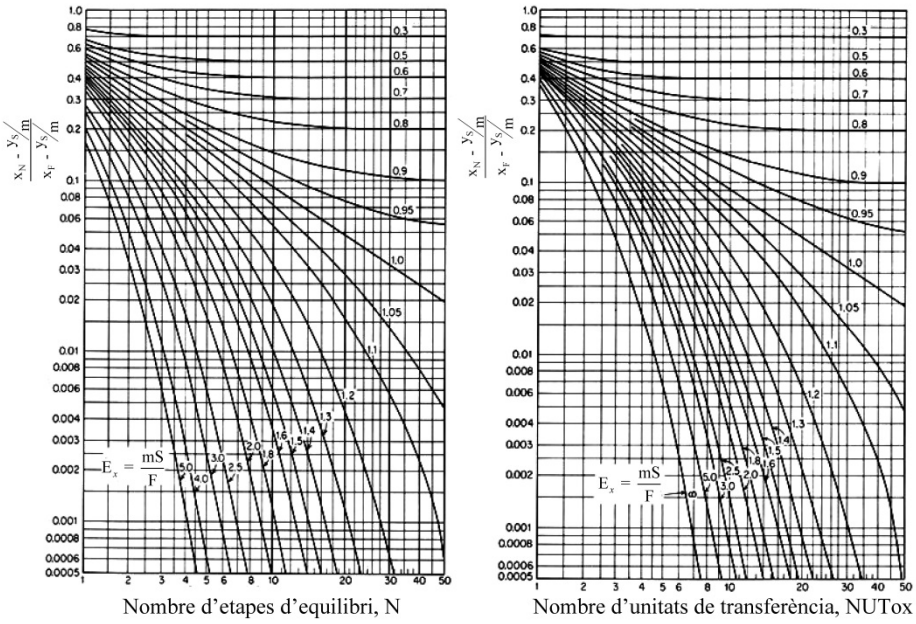


Fig 7.12
Esquerra: N, Etapes ideals *en sèrie a contracorrent* (eq de Kremser, eq 7.21) Dreta: ; N és ara el nombre d´unitats de transferència. *Extracció per contacte diferencial (flux de pistó).* En ambdós casos: factor d´extracció E_x= mS/F, y= mx, m= const, la fracció no extreta és x_N/x_F

7.4 Extracció d'antibiòtics, *pH swing* i extracció inversa o reextracció

Hi ha bioproductes que tenen grups de carboxilat en les condicions de pH del brou i, per tant, la seva solubilitat en el solvent dependrà de la fracció del bioproducte que hi ha en forma no iònica. Això passa amb els aminoàcids, els pèptids i els antibiòtics. Els aminoàcids i els pèptids tenen dos o tres pK (pKa, pKb, etc.), corresponents als grups terminals COOH i NH_2, i també al grup de iònics de la cadena.

En el cas de la penicil·lina, la seva extracció està controlada per la ionització de la molècula en aigua. Quan es fa servir un solvent orgànic (p. ex., acetat de butil com a solvent), només se'n podrà extreure la fracció no ionitzada, mentre que la fracció ionitzada de la penicil·lina tendirà a quedar-se a l'aigua. De fet, controlarem l'extracció ajustant el pH. Primer, extraiem en medi àcid (amb sulfúric, per sota del pKa ~ 2 de l'antibiòtic) amb solvent acetat de butil, de forma ràpida, per no destruir la molècula, en un extractor de contacte ràpid (d'uns pocs segons). A continuació, per purificar la penicil·lina, fem un canvi de pH progressiu fins a 10-11 amb sosa i aconseguim extreure el solut a l'aigua d'extracció. Aquest procés de *pH swing* (o de gir de pH) i nova extracció s'anomena d'*extracció inversa*. Aquest és el procés que Shell va desenvolupar entre 1943 i 1949 (Souders *et al*., 1970) en diverses patents. La gràcia del procés és

que deixa endarrere els contaminants durant l'extracció. A la figura 7.13 es representa la constant de repartiment, m, de penicil·lines F, G i K, junt amb les impureses del brou (TX1, TX2, CX1 i CX2) donades per Souders *et al*. Com es pot observar, per sota de pH = 2, la constant de la penicil·lina G és molt favorable, m > 50, i es pot extreure des de pH = 2 fins a pH alcalí, amb un gradient de pH. En canvi, en els punts de tall de les K de les impureses amb la de la penicil·lina G fan que no sigui possible alliberar-la de les impureses.

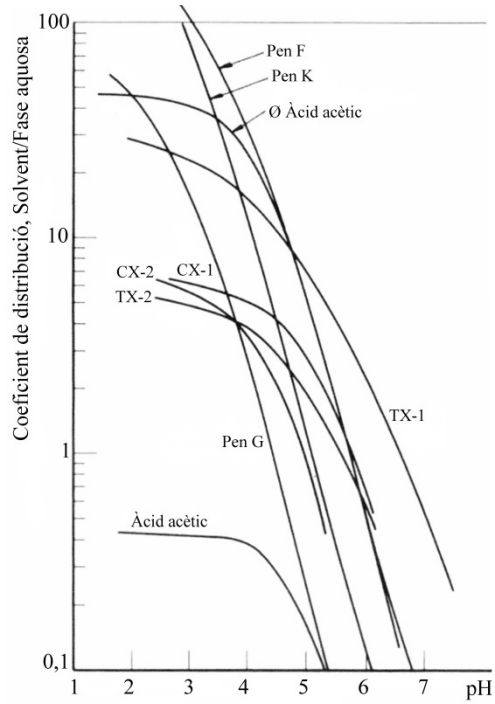


Fig 7.13
Constant de distribució, m, per a diferents components de l'extracció de penicil.lina (Souders et al., 1960)

Apliquem aquest procés a l'extracció d'actinomicina D amb solvent acetat de butil, en els exemples següents. Els coeficients de repartiment de l'actinomicina són $m = 57$ (a pH = 3,5) i $m = 0{,}11$ (a pH = 6), que indica que s'extreu bé en el solvent en medi àcid i molt poc en medi pH = 6. Caldrà invertir m durant la re-extracció.

Exemple 7.3. Primera extracció d'antibiòtic amb solvent.

Un corrent de brou de fermentació F = 450 L/h (pH = 3,5) conté 260 mg/L d'actinomicina D. Es vol extreure amb S = 37 L/h d'acetat de butil pur (S) i es vol recuperar el 99 % de l'antibiòtic. Calculeu les etapes d'equilibri que seran necessàries i la concentració d'antibiòtic que hi haurà a la sortida de l'extracte. El coeficient de repartiment val $m = 57$. Les condicions seran:

$$x_F = 260 \quad x_N = 2,6$$

$$E_x = 57\frac{37}{450} = 4,68$$

$$N = \frac{\log\left[\frac{260}{2,6}(4,68-1)+1\right]}{\log 4,68} - 1 = 2,8 \ etapes$$

Calculeu ara la concentració de solut a l'extracte y_1:

$$F(260-2,6) = S(y_1 - 0)$$

$$y_1 = \frac{450}{37}(260-2,6) = 3,13\, mg/L$$

Exemple 7.4. Purificació de l'antibiòtic per re-extracció amb aigua.

El problema que cal resoldre és el següent. Utilitzem el mateix nombre d'etapes ideals (això no és crític), però fent servir l'extracte següent com a nova alimentació, ara a pH = 6,0 (37 L/h de concentració, 3,13 mg/L). Extraiem ara amb aigua tamponada a pH = 6, com a nou solvent d'extracció. Anomenem el corrent d'aigua S'. Volem calcular el cabal d'aigua per tal d'extreure un 95 % de l'actinomicina D. L'aigua és, doncs, l'agent d'extracció. L'actinomicina aquosa resultant estarà llesta per cristal·litzar.

Denotem la reextracció amb aigua amb primes. Les noves condicions per al gràfic de Kremser seran:

$$F' = 37\, L/h$$
$$x'_F = 3,13\, mg/L$$
$$x'_N = 0,156$$
$$\frac{x'_N}{x'_F} = 0,05 \quad N = 2,8$$
$$m' = 1/0,11 = 9,01$$
$$E'_x \ (Fig\ 7.8) = 2,4 = 9,01\frac{S'}{F'}$$
$$S' = 9,85\, L/h$$

Extracció de proteïnes amb un solvent aquós bifàsic

Un desenvolupament de fa uns quants anys és l'extracció amb una solució bifàsica de dextran 500 i PEG 6000, que forma dues fases aquoses immiscibles. Així, determinades proteïnes es reparteixen en aquest medi bifàsic. Els valors del coeficient de repartiment, *m*, depenen del pH i valen entre 2 i 3, per a les salts (Blanch-Clark, 1989). Els polímers també es reparteixen a les dues fases líquides, de manera que les fases no són de composició constant. Els casos proposats per Belter *et al*. (1988) i Gosh (2006) indiquen que no cal fer res per al cas dels polímers immiscibles per calcular les extraccions. Donats el valor de *m* (v. taula 7.1) per al sistema PEG-Dextran, tot es calcula igual fent servir un valor correcte de *m*.

7.5 Extracció diferencial amb contacte continu

Observeu que es pot aplicar la teoria de l'extracció amb els mateixos conceptes que la destil·lació binària i l'absorció de gasos (excepte que ara emprem massa en comptes de mols). A la figura 7.14, es representen les fraccions en contacte de la columna. La columna posa en contacte dues fases a contracorrent. Una fase circula com a fase contínua i l'altra fase circula en forma de gotes. Evidentment, la fase pesant circula de dalt a baix de la columna, i la fase lleugera flota i corre cap amunt de la torre, independentment que sigui extracte o refinat. Generalment, les gotes formen la fase dispersa i la transferència de massa es realitza del líquid continu a les gotes (c → d ; x→y). A la figura 7.14 (de la dreta) es veu que es posen en contacte una fase de composició (x_i, y_i), amb l'altra (x, y), que no estan en equilibri.

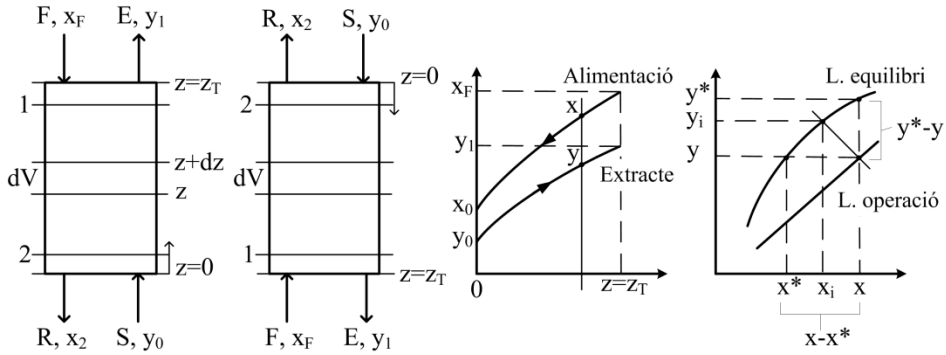


Fig 7.14
D´esquerra a dreta.1) Alimentació més pesant que el solvent. 2) Solvent es més pesant que l´alimentació. 3) Les línies d´extracció i de solvent son iguals que les T en un bescanviador de calor (flux pistó), 4) Forces impulsores globals (x-x*, y*-y) i parcials, xiyi representa un punt de la interfase LL, i xy un punt de la columna.

7.5.1 Transferència de massa

Utilitzem la teoria de la doble capa en la interface i suposem que en ella les fraccions estan en equilibri, és a dir, que $y_i = m\, x_i$, i que el sistema està a règim estacionari. Els perfils de concentració de y i de x, al llarg de l'altura de la torre o de la coordenada z = z_T, són els de la figura 7.14, que mostra que la torre sembla un bescanviador de calor, amb un enriquiment de y (extracte) i una disminució de x de refinat. Fem una altra hipòtesi: les dues fases circulen en flux de pistó. Com que es compleix que dx/dz > 0 i dy/dz > 0, s'obtindran els perfils de x i de y exponencials de la figura 7.14.

El flux de transferència de massa, el podem escriure en funció dels coeficients de pel·lícula o be dels coeficients globals. Així, doncs, (v. figura 14), aplicant l'equació $x_i = y_i/m$ i eliminant les fraccions a la interfície, x_i, s'obtenen les equacions següents de flux de difusió:

$$\left(r'''\right) = k_x(x - x_i) = k(y_i - y) \tag{7.25}$$

$$\left(r''\right) = \left(r'''\right)a = K_x a\left(x - x^*\right) = K_y a\left(y^* - y\right) \tag{7.26}$$

on:

$$\frac{1}{K_x a} = \frac{1}{k_x a} + \frac{1}{m k_y a}$$
$$\frac{1}{K_y a} = \frac{1}{k_y a} + \frac{m}{k_x a} \qquad (7.27)$$

K_x i K_y representen els coeficients globals de transport i són la suma de les resistències individuals (v. forces impulsores globals i parcials a la figura 7.14). Les unitats de (r') seran kg/s/ per m^2 d'interfase/ i unitat de Δx. Com que *a* representa l'àrea específica de contacte entre les gotes-i fase contínua per m^3 de contactor, (r'')a serà el flux de difusió en kg/(s m^3)/Δx. Podem calcular l'altura de la torre a partir de qualsevol de les dues igualtats de l'equació (r¨)a. Preferim operar amb $K_x a$, per analogia amb la desorció de gasos de líquids.

7.5.2 Balanç de massa en un dz de torre.

Prenem el fons de la torre com a origen z = 0 (v. figura 7.14 per a la torre de la figura). Es compleix que $dV = A\,dz$, essent A la secció transversal de la columna. El balanç de solut, en estat estacionari, per a la llesca de dz, serà:

$$0 = R dx - K_x a (x - x^*) A dz \qquad (7.28)$$

Anomenem punt 1 el punt d'entrada de l'alimentació, F (v. figura 7.14). Si F és el fluid més dens, tindrem, a baix de la torre (punt 2):

$$z = 0,\ x = x_{0,}\ y = y_0 \qquad (7.29)$$

i dalt de la torre (punt 1):

$$z = z_T,\ x = x_{F,}\ y = y_1 \qquad (7.30)$$

Aclarint dz de l'equació 7.28 i integrant-la entre baix (z = 0) i dalt de la torre ($z = z_T$), tindrem:

$$z_T = \int_0^{z_T} dz = \frac{R/A}{K_x a} \int_{x_0}^{x_F} \frac{dx}{x - x^*} = HTU_x \times NTU_{Ox} \qquad (7.31)$$

on:

$$HTU_x = \frac{R/A}{K_x a} \qquad (7.32$$

$$NTU_{Ox} = \int_{x_0}^{x} \frac{dx}{x - x^*} \qquad (7.33)$$

HTU té dimensions de longitud i representa l'altura de la unitat de transferència, i NTU, que no té unitats, representa el nombre d'unitats de transferència. Podem calcular, doncs, l'altura de la torre, avaluant HTU i NTU. Els sufixos: corresponen : O = global, x = costat refinat R.

7.5.3 Càlcul de NTU_{Ox}

Aquest càlcul és important perquè ens dóna el nombre d'etapes ideals del disseny i es troba fent la integral de l'equació anterior. Per resoldre la integral, utilitzem la línia d'operació de la columna, ja que x* requereix aquesta dada. Ens referim a la figura 7.14. La línia d'operació en funció de les dades del fons de la torre serà:

$$y = \frac{F}{S}(x - x_0) + y_0 \tag{7.34}$$

I l'expressió de *x-x** per inserir al denominador de la integral de la NTU serà:

$$x - x^* = x_0 + \frac{S}{F}y - \frac{y}{m} = qy + x_0 \tag{7.35}$$

on $q = S/F\text{-}1/m$. La integral es transforma en l'expressió següent:

$$N_{Ox} = \int_{x_0}^{x} \frac{dx}{qy + x_0} \tag{7.36}$$

que es pot integrar fent el canvi de variables de l'equació 7.36, junt amb:

$$dy/dz = (F/S)\,dx/dz \tag{7.37}$$

que permet trobar els límits de y de la integral, i de dx en funció de dy. Al final s'obté, per al flux de pistó de les dues fases, E i R, en contacte diferencial, el valor del nombre d'unitats de transferència. Segons els valors de E_x, serà:

$$N_{Ox} = \frac{E_x}{E_x - 1}\ln\left[\frac{x_F - y_1/m}{x_2 - y_2/m} \times \left(1 - \frac{1}{E_x}\right) + \frac{1}{E_x}\right] \quad si\ E_x \neq 1 \tag{7.38}$$

o bé:

$$N_{Ox} = \frac{x_F - y_1/m}{x_2 - y_2/m} - 1 \quad \text{si } E_x = 1 \tag{7.39}$$

Si fem servir solvent pur, $y_2 = y_s = 0$ i si, a més, s'especifica la recuperació de solut percentual, $f = (x_F\text{-}x_2)/x_F$, tindrem que el valor de $x_2 = x_F\,(1\text{-}\,f)$. Llavors, $y_1 = f\,(F/S)\,x_F$.

7.5.4 L'extractor com un bescanviador de la figura 7.14

Per a dissolucions diluïdes, i si s'aplica la llei de Henry, emprant els valors mitjans logarítmics (Treybal, 1981), tenim:

$$N_{Ox} = \frac{x_1 - x_2}{(x - x^*)_{ml}} \tag{7.40}$$

$$N_{Oy} = \frac{y_1 - y_2}{(y^* - y)_{ml}} \tag{7.41}$$

essent el punt 1 = dalt de la torre (condicions d'entrada de F) i el punt 2 = el fons de la torre, on z = 0. Llavors, el càlcul de l'extractor es farà a partir de l'equació següent, com un bescanviador de calor:

$$R(x_1 - x_2) = E(y_1 - y_2) = K_x a A z_T (x - x^*)_{ml} = K_y a A z_t (y^* - y)_{ml} \tag{7.42}$$

Conegut un coeficient global, per exemple, $K_x a$, i sabent les fraccions de refinat, x_1 i x_2, es determina la mitjana logarítmica i es pot aïllar l'altura de la torre, z_T, de l'equació anterior, escollida una secció A.

Atenció: Si el solvent és més dens que l'alimentació, convindrà fer-lo entrar per dalt de la torre, i l'alimentació, per baix de la torre, de manera que els punts d'entrada de solvent i de sortida d'extracte siguin 2 i 1, respectivament. i l'origen estigués col·locat a dalt (z = 0). Compareu les dues figures de l'esquerra de la figura 7.14.

Exemple 7.5. Extracció d'esteroides amb solvent clorat.

Tenim una columna de rebliment, de 61 cm d'altura i 100 mm de diàmetre interior. Bombem l'alimentació de 6,5 L/h de solució aquosa de sitosterol pel fons de la columna (densitat = 1.000 kg/m^3). El solvent és clorur de metilè (densitat = 1.330 kg/m^3), que dosifiquem a la part alta de la torre i que passa a través del rebliment, a un cabal de 3 L/h, a contracorrent descendent. Sabem que el coeficient de distribució és m = 7,14, força favorable. En canvi, només recuperem el 53 % de l'esteroide i, per tant, haurem d'allargar la columna amb més trams. Volem recuperar el 90 % del sitosterol fent servir els mateixos cabals de solvent i alimentació.

1. Calculeu el $K_x a$ per als cabals de treball emprats. 2) En quant haurem d'allargar la columna per arribar al 90 % de recuperació?

Cabals i dades de dalt (2) i de baix (1) de la columna. El valor absolut de x_F és desconegut; per tant, per calcular les composicions als extrems, emprem les equacions en funció de f = 0,53

Part 1. Com que l'alimentació F entra per baix, aquest serà el punt 1, $x_1 = x_F$. El punt 2 serà a dalt de la torre, en què z = 0. Com que fem servir la fracció recuperada, emprem el valor de f = 0,53; així, doncs, $x_2 = (1- 0,53)\, x_F = 0,47 x_F$, d'on $y_1 = 0,53(6,5/4)\, x_F = 0,86\, x_F$. A més, $y_2 = 0$, solvent pur.

$$f = 0,53$$
$$x_1 = x_F$$
$$x_2 = (1 - 0,53) x_F = 0,47 x_F$$
$$y_1 = 0,86 x_F$$

$y_2 = 0$

$d = 0,1m$

$A = \pi d^2/4 = 0,0078m^2$

$F = 6,5 \times 1 = 6,5\,kg/h$

$S = 3 \times 1,33 = 4\,kg/h$

$$E_x = mS/F = 7,14 \times \frac{4}{6,5} = 4,39$$

$$E_x/(E_x - 1) = 1,29$$

$$N_{Ox} = \frac{E_x}{E_x - 1} \ln \left[\frac{x_F - y_1/m}{x_2 - y_2/m} \times \left(1 - \frac{1}{E_x} \right) + \frac{1}{E_x} \right] =$$

$$1,29 \ln \left[\frac{x_F - 0,86x_F/7,14}{0,47x_F} \times (1 - 1/4,39) + (1/4,39) \right] = 0,62 \text{ } unitats$$

El coeficient global, per a 0,61 m de rebliment, valdrà:

$$HTU \times NTU = \frac{6,5/0,0078}{K_x a} \times 0,62 = 0,61m$$

$$K_x a = 833\,kg/m^3\,h = 0,231\,kg/m^3\,s$$

L'equació penúltima implica que l'altura de la HTU és només d'1,0 m, aproximadament, cosa que explica que tinguem un petit rendiment d'extracció, malgrat que *m* sigui favorable.

Part 2. Allarguem la columna per sobre de 0,61 m. Si es mantenen els cabals constants, es mantindran el coeficient de TM, E_x, i la HTU. Imposant ara $x_F/x_2 = 10$, els NTU_{Ox} són proporcionals a les altures de rebliment:

$$\frac{z_1}{z_2} = \frac{HTU \times N_{Ox_1}}{HTU \times N_{Ox_2}} = \frac{N_{Ox_1}}{N_{Ox_2}}$$

$$\frac{z_2}{0,61} = \frac{\ln\left[10 \times (1 - 1/4,39) + (1/4,39)\right]}{0,62} = \frac{\ln 8}{0,62} = 2,08$$

$$z_2 \approx 2m$$

La columna s'ha d'allargar fins a 2 m.

7.6 Càlcul i selecció de columnes

7.6.1 Altura de l'etapa teòrica (o HETS)

Es designa per HETS (*height equivalent to a theoretical stage*) l'altura d'un tram de columna que es comporta com una etapa d'equilibri, i s'expressa en metres d'altura. I el seu invers, 1/HETS, indicarà quants plats ideals té la columna per metre d'altura. Cal dir que aquesta és la mesura industrial més emprada (igual que en destil·lació, absorció, HETP) de l'eficàcia de la columna. Si una columna té una HETS = 0,2 m (és a dir, 5 etapes/m), és força bona. Com més petita és l'HETS, més eficient és la torre.

Per calcular l'altura de la torre, cal fer, doncs:

$$z_T = N \times HETS \tag{7.43}$$

essent *N el nombre d'etapes ideals per fer la separació i HETS l'altura de l'etapa teòrica per a l'extractor considerat.* Això suggereix que el valor de HETP, per als diferents extractors, és una dada de disseny important. És evident que HETP serà semblant a HTU_{Ox} sempre que el flux sigui de pistó i, a més, que E_x sigui moderat. Així, en cas de dispersió axial nul·la de les fases:

$$HETS = \frac{\ln E_x}{E_x - 1} HTU_{Ox} \simeq 0,7 \times HTU_{Ox} \tag{7.44}$$

per a E_x = 1,5-3. Per tant, si tenim correlacions de TM que permeten calcular HTU, podrem estimar l'HETS.

7.6.2 Aparells industrials d'extracció

A continuació, s'analitzen els tipus d'aparells i els cabals específics que poden tractar, i com seleccionar un aparell industrial a partir de les dades d'una planta pilot.

S'han emprat molts tipus de contactors que aporten superfície de contacte entre les fases a extreure. Aquests es divideixen en dues categories principals: contactors per etapes i contactors diferencials. La divisió següent és deguda a Fair *et al*. (1982). Molts contactors per etapes tenen forma de columna i són un seguit de trams mescladors-sedimentadors (v. figura 7.2).

Fair *et al*. (1982) proporcionen una altra característica: indiquen si el model és patentat o és lliure per ser dissenyat i utilitzat comercialment. Aquesta distinció és important, considerant el desenvolupament de l'enginyeria a les indústries i la gran quantitat de dades de disseny que es troben en la literatura. La figura 7.15 mostra un esquema dels extractors no patentats: de polvorització, de rebliment i de plats perforats, els quals poden funcionar amb pulsació (ja sigui de tota la columna de líquid o mitjançant polsos d'aire comprimit) o sense. El disseny d'aquests extractors de plats perforats o mescladors-sedimentadors es dóna a Treybal (1980) i és del tot fiable. A la taula 7.3, es donen per separat els diferents contactors que es poden tenir en compte. A la figura 7.15, es donen esquemes dels extractors patentats: Scheibel, RDC, Karr, Oldshue-Rushton i

Kühni, que tenen moviment de rotació dels agitadors de l'eix, i algun d'ells (extractor Karr) té un moviment alternatiu dels plats.

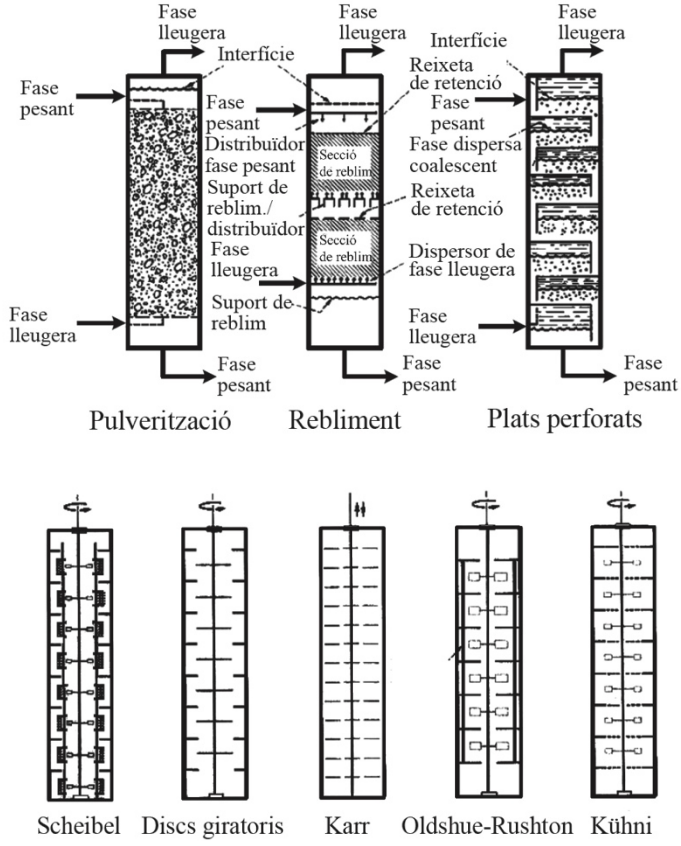


Fig 7.15
Extractors industrials. Figura superior son lliures per a dissenyar i instal.lar. Els de la fig inferior son patentats.

A la figura 7.16 (Stichlmaier, 1982; Sulzer, 1982) i a la taula 7.2, es recullen les dades de plats teòrics/m, enfront del cabal específic total B = (F+S), en m/h. De la gràfica, es dedueix la bondat relativa dels aparells. Els aparells agitats estan a la zona de 5-6 plats/m, però amb càrregues de líquid de no més de B = 40 m/h. Aquests són els extractors emprats en la biotecnologia industrial.

Contactors per etapes	**Extractors de contacte diferencial**
1. Columna de plats	1. Columna de gotes (polvorització)
2. C. de plats perforats (polsos o no)	2. C. de baffles
3. Mesclador-sedimentador	3. C. de rebliment
4. Mesclador-sedimentador (polsos)	4. Discos giratoris (RDC)
5. C. de Scheibel	5. C. de rebliment (pulsació fluid o aire)
6. RDC asimètric	6. Oldshue-Rushton
7. Treybal	7. Graesser
8. Rebliment estructurat SMVP Sulzer	8. E. centrífugs Alfa Laval, Podbielniak, Robatel

Taula 7.2
Extractors industrials

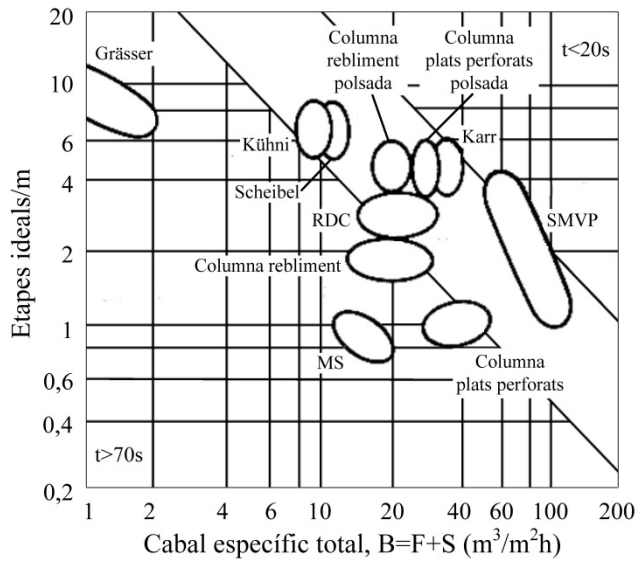
Per a instal·lacions de gran capacitat, a B > 100 m/h, s'ha de renunciar a molts plats teòrics (v. Sulzer SMVP, B= 150 m/h), és a dir, amb capacitat per acomodar grans cabals (v. figura 7.16).

Taula 7.3
HETS i capacitat dels extractors pilot (Stichlmaier i Sulzer, 1982)

Extractor	**Nombre etapes equilibri, 1/m**	**Cabal total, B (F+S), m^3/m^2h**
Columna de rebliment	d'1,5 a 2,5	de 12 a 30
Columna de rebliment polsada	de 3,5 a 6	de 17 a 23
Columna de plats perforats	de 0,8 a 1,2	de 27 a 60
Columna de plats perforats polsada	de 0,8 a 1,2	de 25 a 35
Scheibel	de 5 a 9	de 10 a 14
Contactor de discs giratoris (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 cel·les agitades (RZS)	de 6 a 12	d'1 a 2
Graesser	de 9 a 10	d'1 a 2
Mesclador-sedimentador	fins a 15	fins a 10
Rebliment estruct. SMVP	d'1 a 4	de 50 a 90

Sistema acetona/toluè/aigua, Ex= 1, difusió de la fase c (x) → d(y), DN 50-150 mm

Fig 7.16
Extractors de planta pilot fins a 100 mm de diàmetre. Valors de N/Z, i valors del cabal específic global, B m/h (dades de Schtilmaier i Sulzer, SMVP)



És interessant utilitzar l'experiència d'una planta pilot per tal d'extrapolar un extractor convencional. QVF dóna la possibilitat d'assajar quatre extractors a escala DN100 i poder especificar l'aparell industrial. Així mateix, Sulzer fa una cosa semblant, però basant-se en una planta pilot de DN100 amb rebliments ordenats de tipus SMV o

SMVP. A la planta pilot d'enginyeria química de la UPC, es disposa d'una columna de rebliment de DN75 i uns 2 m d'anells Raschig (1 × 1 cm), capaç d'uns 4-5 plats/m, amb un sistema de pulsació d'aire (amb sistema d'aigua/acetona/acetat d'etil) que va molt bé per a estudis d'aquest tipus. Aquests assaigs són fonamentals per provar un solvent, determinar els mètodes analítics, determinar el valor de m i el factor E_x, estudiar-ne l'eficàcia i els cabals, i planificar la logística dels assajos. Una columna de DN100, amb una B combinada = 50 m^3/m^2h, necessita manejar un total de 400 L/h de líquids, que s'han de recollir en 4-5 tancs de 50 L, amb diverses bombes (Rauber, 2004).

Donem un exemple de com especificar un aparell Karr en biotecnologia, basant-nos en el nombre N i el rendiment de laboratori, i una equació de disseny de l'extractor Karr (v. Fair *et al*., 1982). Aquest tipus d'extractor (junt amb el de cel·les agitades, RZE) és un dels més emprats en biotecnologia a la Unió Europea i als Estats Units. Fem servir l'equació 7.45, que relaciona l'HETS amb l'altura i el diàmetre de la columna. De tota manera, a la figura 7.17 es mostra un arbre de decisió per seleccionar físicament l'extractor que convé més a la nostra planta, donades les condicions de superfície en planta i altura de sostre disponibles, i atès el nombre de plats d'equilibri requerits. Són interessants els catàlegs comercials, ja que donen unitats en vidre de fins a DN600 mm de diàmetre.

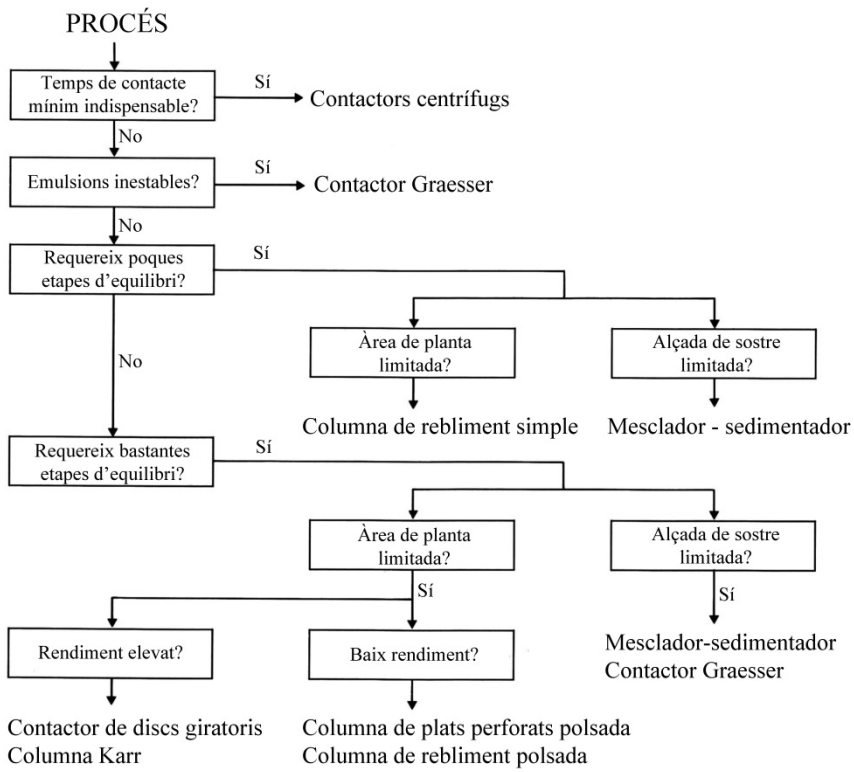


Fig 7.17
Arbre de decisió per a triar un extractor de producció per a una planta mitjana (QFV)
.

7.6.3 Especificació d'un extractor industrial i canvi d'escala

El problema és que volem especificar un extractor Karr (diàmetre, altura de rebliment, freqüència de polsos) per a una extracció de 150 m^3 de brou a tractar en 12 hores. El bioproducte és un antibiòtic i el solvent, acetat d'amil. Els balanços de l'operació es basaran en les dades de la planta pilot a escala reduïda, en un aparell Karr de la planta pilot. Pretenem recuperar el 97 % de l'antibiòtic alimentat.

Criteris de canvi d'escala que cal respectar. Designem amb el sufix 2 la columna gran i amb 1, la petita de laboratori.

- Mantenint constant el cabal específic total, B, calculeu el diàmetre de la columna, D_2.
- Calculeu l'HETS en el gran i en el petit.
- Calculeu la freqüència dels polsos en el gran.
- Especifiqueu-ne les dimensions principals.

Les regles de canvi d'escala donades per Fair *et al*. (1982) per a l'extractor Karr són:

$$\frac{HETS_2}{HETS_1} = \left(\frac{D_2}{D_1}\right)^{0,38} \tag{7.45}$$

$$\frac{Freq2}{Freq1} = \left(\frac{D_1}{D_2}\right)^{0,14} \tag{7.46}$$

Exemple 7.6. Canvi d'escala d'un extractor pilot.

Dades d'extracció al laboratori. Columna Karr de Corning de DN25,4 mm (1"), altura efectiva d'1,83 m. Cabals alimentats: solvent acetat d'amil de 91,9 g/min (105 cm^3/min) i brou de fermentació de 70 g/min (70 cm^3/min). La freqüència de la columna de laboratori era de 280 impulsos/min. La recuperació és del 97 %. El coeficient de repartiment val m = 7,5. L'alimentació és molt diluïda en antibiòtic.

Proves de laboratori. Calculem N_1 (nombre de plats teòrics en aparell petit):

$$S = 91,9\,g/\text{min}; \qquad F = 70\,g/\text{min}$$

$$E_x = mS/F = \frac{7,5 \times 91,9}{70} = 9,84$$

Per al valor de N, apliquem Kremser:

$$N+1 = \frac{\log\left[\frac{X_F}{X_N}\left(E_x - 1\right)+1\right]}{\log E_x} = \frac{\log\left[\frac{1}{0,07}\left(9,84-1\right)+1\right]}{\log 9,84} = 2,11$$

$$N = 1,11\ plats$$

Per a l'extractor de laboratori:

$$HETS_1 = Z_1/N_1 = \frac{1,83}{1,11} = 1,64\,m/plat$$

Pel que fa al cabal específic, B:

$$B = \frac{F+S}{Secció} = \frac{70+105}{\pi\left(2,5^2\right)/4} = 35,7\,cm/\text{min} = 21,4\,m/h$$

$$Secció = \frac{30,2}{21,4} = 1,41m^2$$

$$D_2 = 1,34m$$

$$Z_2 = N \times HETS_2 = 1,11 \times 7,40 = 8,21m$$

Càlcul de la columna industrial.

Cabal volumètric total per tractar: brou F = 12,5 m^3/h, solvent S = (105/70) 12,5 = 18,7 m^3/h, Q total = 30,2 m^3/h. Per acomodar aquest cabal, necessitem una secció de columna bastant gran:

$$Secció = \frac{30,2}{21,4} = 1,41m^2$$

$$D_2 = 1,34m$$

Vegem l'HETS i els impulsos/min. Hi apliquem les equacions 7.45 i 7.46:

$$\frac{HETS_2}{HETS_1} = \left(\frac{D_2}{D_1}\right)^{0,38}$$

$$HETS_2 = 1,64(134/2,54)^{0,38} = 7,40\,m/plat\ (força\ desfavorable)$$

$$\frac{Freq_2}{Freq_1} = \left(\frac{D_1}{D_2}\right)^{0,14}$$

$$Freq_2 = 280(2,54/134)^{0,14} = 160\ \ impulsos/\text{min}$$

La columna gran opera al mateix percentatge de recuperació, 97 %, i al mateix valor d'E_x; per tant, ha d'utilitzar el mateix nombre de plats teòrics. Així, doncs, N_2 = 1,11.

$$Z_2 = N_2 \times HETS_2 = 1,11 \times 7,40 = 8,12m$$

La columna Karr industrial serà de 8,21 m d'altura efectiva i 1,34 m de diàmetre interior, i operarà a 160 impulsos/min. Es tracta d'un aparell força gran.

7.7 Extracció amb un solvent aquós bifàsic

Un desenvolupament recent (des del 1970 a 1986) és l´extracció amb una solució aquosa de polietilenglicol (PEG) i dextrà que forma dues fases aquoses immiscibles. La superior és rica en PEG, i la inferior és rica en dextrà. Les proteïnes, o també l´ADN, que contenen impureses, es reparteixen en aquest medi bifàsic passant a la fase PEG. El constant de repartiment de la biomolècula, K, varia entre 0,1 i 10, (vegeu Taula 7.1). En general, per a extreure una proteïna en una sola etapa, es necessita una constant de repartiment de K=3 o més gran. Els polímers PEG i dextrà també es distribueixen en les dues fases, no sent aquestes de composició constant. Vegeu el paràgraf 7.7.1, i els exemples 7.5 i 7.6. més endavant. La separació de fases immiscible es produeix espontàniament encara que *no hi hagi biopolímer*. Quan s´afegeix biopolímer impur, s´extreu generalment a la fase superior (extracte) i els residus cel·lulars o altres impureses, passen a la fase inferior (refinat). El PEG i dextrà son polímers no-iònics, si bé hi ha alguns casos basats en polielectròlits o sals. En general, doncs els biopolímers tenen afinitat pel PEG, i les impureses queden a la fase dextrà o salina.

Les característiques dels sistemes aquosos bifàsics son: 1) el sistema es genera in situ ; 2) s´evita així el contacte de la biomolècula amb solvents orgànics, de vegades indesitjable; 3) es necessita, però, un temps de separació de les fases una mica més llarg que amb solvent orgànic; 4) La fase PEG amb proteïna presenta alguna dificultat per alliberar-la després de l´extracció, requerint operacions addicionals (primer: sedimentació o centrifugació, després: ultrafiltració, re-extracció, o GPC); 5) l´operació amb solvent aquós es pot fer al laboratori, i extrapolar a la planta amb facilitat.

Normalment, hi ha sistemes aquosos formats per sistema bifàsic polímer-polímer, o formats per polímer-sal, o polímer-polielectròlit. Com que el dextrà es molt més car que el PEG, es tendeix a treballar amb sals o polielectròlits, més econòmics. Així, els sistemes immiscibles usuals son:

- PEG + dextrà + aigua (el més estudiat)
- Alcohol polivinílic (PVA) +dextrà+aigua
- PEG +PVA+aigua
- PEG + sulfat amònic+aigua (força utilitzat)
- PEG + poliacrilat sòdic+ aigua
- PEG + sulfat sòdic+aigua

en que l´aigua està a una concentració total de 60 a 80%. Un sistema amb PEG + poliacrilat sòdic+sal, es representen a la Fig 7.18, amb diversos quantitats de NaCl.

Primer, s'estudien els balanços de massa en l'extracció aquosa, amb exemples, i després la correlació de les línies d'enllaç i els balanços de component en un altre exemple.

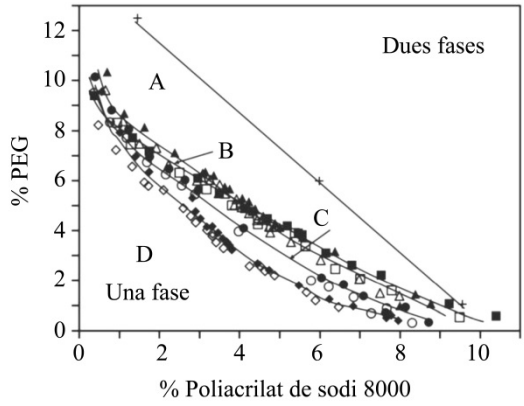


Fig. 7.18. Diagrama de fases sistema aquós PEG-Polielectròlit-Sal (a 22ºC). Les corbes A, B,C corresponen a concentracions de sal de 1, 4, i 6 % NaCl, respec. La recta correspon al cas C.

7.7.1 Balanç de solut en l'extracció aquosa

Considerem la constant de repartiment del solut A, definida com a la taula 7.1, en concentracions molars o en fraccions en massa, és a dir:

$$K = \frac{C_{sup}}{C_{inf}} \quad \text{o bé} \quad K = \frac{y^{sup}}{x^{inf}} \tag{7.47}$$

on C^{inf} i C^{sup} son les concentracions del biopolímer o solut A, a les fases superior i inferior en equilibri. Generalment, K = 3, o més gran, per tant que el solut prefereix la fase superior. El valor de K és pot prendre com independent de les concentracions. En l´estudi que segueix, fem servir fraccions en massa, com en la teoria d´extracció.

Considereu una etapa ideal amb el següents corrents. Per al component A (afí a la fase PEG, per tant K>1) tindrem:

Alimentació: F kg/s, a concentració de biopolímer, x_F kg/kg

Solvent: Polímers + Sal+ Aigua = S kg/s (y_s=0)

Corrents de sortida: Extracte, E kg o kg/s, fracció solut y_1 i

Refinat, R, fracció x_1,

o

E i R surten en equilibri respecte solut

Equacions de balanç i d´equilibri:

Cas 1) K> 1, A és extret a la fase superior en 1 etapa ideal. Volem calcular el valor màxim de la recuperació en una extracció aquosa bifàsica. En estat estacionari, es compliran les relacions següents (el solvent S no té A):

$$F + S = E + R \tag{7.48a}$$

$$Fx_F + 0 = Ey_1^{sup} + Rx_1^{inf} \tag{4.78b}$$

$$K = \frac{y_1^{\sup}}{x_1^{inf}} \tag{7.48c}$$

$$\mathrm{Re}\,cup, \max = \frac{Ey_1^{\sup}}{Fx_F} \tag{7.48d}$$

Expressant la recuperació en funció dels cabals de sortida E i R, i K, la recuperació màxima d´A en 1 etapa, val:

$$\mathrm{Re}\,cup, \max = \frac{Ey_1^{\sup}}{Fx_F} = \frac{E}{E + R/K} \tag{7.49}$$

que depèn només de la relació de fases E/R utilitzada i de K.

Cas 2: El solut A (K < 1) tendeix a anar a la fase inferior (refinat). Amb un raonament semblant, resulta que la màxima recuperació de A, per a un a etapa ideal, valdrà:

$$R\mathrm{e}\,cup, \max = \frac{Rx_1^{\inf}}{Fx_F} = \frac{R}{R + EK} \tag{7.50}$$

Vegeu l'exemple següent, que descriu una extracció en una etapa.

Exemple 7.7 Purificació d'un enzim per extracció amb solvent aquós

Volem extreure l'enzim leucina-deshidrogenasa de 150 L d'un homogeneïtzat de *Bacillus cereus*, fent servir un solvent aquós de PEG-sal. L'activitat de l'enzim a la càrrega inicial és de x_F = 3,2 unitats U/mL. S'hi afegeix la mescla de PEG-sal en aigua i es formen dues fases aquoses. La constant de repartiment de l'enzim val K = 3,5.

a) Calculeu la relació de fases superior i inferior E/R, necessària per aconseguir una recuperació del 80 % de l'enzim en una etapa.

b) Si el volum de la fase inferior (R) és de 100 L, calculeu-ne el factor de concentració o d'enriquiment, y_1^{sup}/x_F, que assolirem quan la recuperació sigui del 80 %.

Resolució:

a) L'equació 7.49 ens dóna la recuperació màxima en una etapa:

$$REcup = \frac{E}{E + R/K} = \frac{E/R}{E/R + 1/K} = \frac{E/R}{E/R + 1/3{,}5} = 0{,}8$$

d'on obtenim E/R = 1,14.

b) El volum de la fase inferior és de R = 100 L. Hem de calcular el factor de concentració y_1^{sup}/x_F, quan la recuperació és del 80 %. Disposem d'aquestes equacions:

$$\frac{Ey_1^{sup}}{Fx_F} = 0,8$$

$$F + S = E + R = 1,114R + R = 2,14 \times 100 = 214$$

$$F = 150L$$

$$E = 1,14 \times 100 = 114L$$

$$\frac{y_1^{sup}}{x_F} = 0,8 \times 150 / 114 = 1,31$$

d'on

$$y_1^{sup} = 1,31 \times x_F' = 1,31, \times 3,2 = 4,2 \text{ U/mL}$$

$$x_1^{inf} = 4,2 / 3,5 = 1,2 \text{ U/mL}$$

El factor de concentració val, doncs, 1,31, i les x i y que surten en equilibri són 1,2 i 4,2 U/mL, a les fases inferior i superior, respectivament.

7.7.2 Línies d'enllaç en un solvent bifàsic

Ja hem vist que un sistema bifàsic es separa en dues fases immiscibles. Una superior S, i una inferior I, com es mostra en la línia d´enllaç de la Fig 7.19. Volem calcular ara la relació de pesos de fases S i I, que es produeixen al separar-se una alimentació F. Sigui M el pes total. Es compliran les següents relacions:

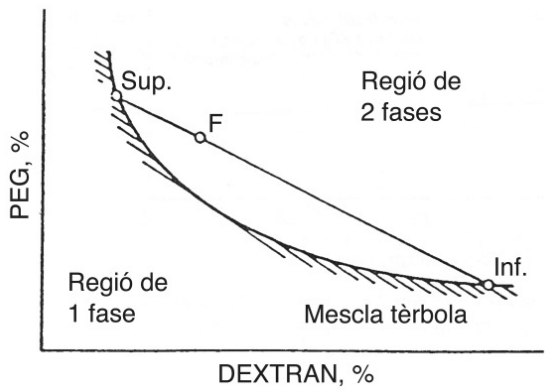


Fig. 7.19. Diagrama esquemàtic de la separació en el sistema PEG-DEXTRÀ. El límit de les fases està ratllat en la línia de coexistència. Línia d´enllaç que passa per F (alimentació), I (inferior, fase densa), S (superior, fase lleugera). Vegeu el text

on les x estan definides a la figura 7.20.

La relació de masses de les fases S i I valdrà:

$$\frac{Ms}{Mi} = \frac{x_i - x_F}{x_F - x_s} = \frac{a}{b} \qquad (7.51)$$

on *a* i *b* son els segments en l'eix de les abscisses. Observeu que les quantitats de S i I no compleixen una regla de la palanca normal sinó una que ara és *inversa*.

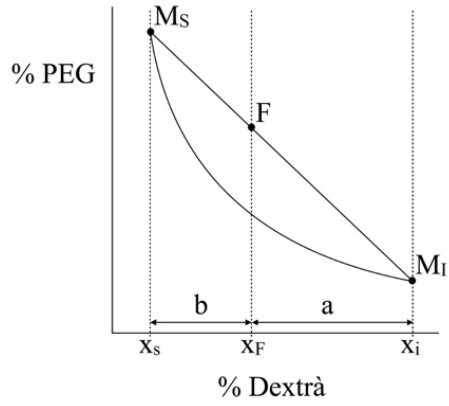


Fig. 7.20. Relacions entre les masses de la fase inferior, superior, y alimentació. Vegeu eq. 7.51

Alguns autors fan el raonament següent, que és molt útil per localitzar F analíticament. Si extraiem amb un solvent que conté una relació en pesos de PEG i dextrà definida, per exemple, y /x = m, es complirà que F ha d'estar sobre la línia d'enllaç i sobre la recta y = mx. D'aquí es dedueix que ha d'estar en la intersecció de dues rectes. Vegeu-ho als exemples 7.7 i 7.8 següents.

Exemple 7.8 Purificació de lisozim: càlcul de les línies d'enllaç amb el sistema PEG-sal-H_2O

Les dades experimentals del sistema *sense l'enzim* donen les composicions següents de les fases aquoses en equilibri a 20 ºC:

Components	**Fase superior, rica en PEG (% pes)**	**Fase inferior, rica en Na_2SO_4 (% pes)**
PEG 3000	40	0,6
Na_2SO_4	1	18
Aigua	59	81,4

Dades experimentals de fases en equilibri *sense enzim*

1. Determineu la línia d'enllaç en un sistema de coordenades cartesianes indicant les coordenades (*x*, *y*) de les fases S i I.

Sobre el pla (*x*, *y*), els punts que representen les fases S i I són S (1, 40) i I (18, 0,6), de manera que el pendent de la recta que passa per aquests punts és negatiu i val:

$$p = \frac{y - y_0}{x - x_0} = \frac{0,6 - 40}{18 - 1} = -2,317$$

L'equació de la recta d'enllaç és:

$$y = 42{,}317 - 2{,}317x$$

Exemple 7.9 Extracció de lisozim amb el solvent aquós PEG 3.000-Na_2SO_4-aigua. Càlcul del repartiment del lisozim i dels polímers

Considereu ara l'extracció de lisozim L contingut en un brou homogeneïtzat amb el solvent aquós de l'exemple 7.7. Observeu que la sal s'addiciona inicialment dissolta en el brou, separada del PEG, per tal de no provocar una precipitació indeguda:

Alimentació F (lisozim L = 5 kg/h + 40 kg/h d'impuresa + 190 kg/h de Na_2SO_4, en 800 kg/h d'aigua)

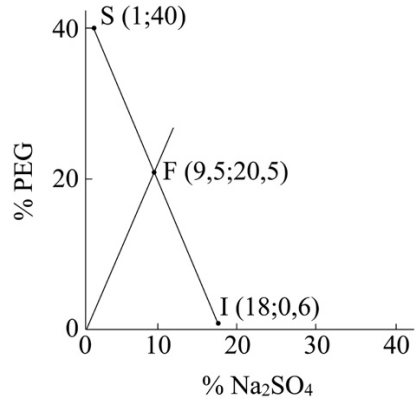
Solvent S (406 kg/h de PEG en 604 kg/h d'aigua)

a) Sobre el pla *x*, *y*, representeu la línia d'enllaç, el punt que representa l'alimentació i la composició de les fases S i I, suposant que és la línia d'enllaç calculada al problema 7.7.

Per tal de determinar la posició de l'alimentació, observeu que aquesta té una relació amb la sal del sistema de PEG/sal = 406/190 = 2,1368. Així doncs, hem de trobar la intersecció de les rectes:

$$y = 42{,}317 - 2{,}317x$$
$$y = 2{,}1368x$$

Resolent, $x_F = 9{,}5$ i $y_F = 20{,}5$, d'on la representació sobre el pla *x*, *y* serà:



b) El lisozim i les impureses tenen unes constants de repartiment que valen $K_L = 20$ i $K_{imp} = 2$, respectivament; per tant, el lisozim L s'extraurà a la fase superior S, juntament amb una mica d'impuresa, que tendirà a repartir-se, però una part important anirà a l'extracte ($K_{imp} > 1$). Calculeu la composició de les fases S i I. I calculeu també la puresa de L a la fase d'extracte S.

Resolució

a) Tenint en compte les dades de l'alimentació i del solvent, tenim la descomposició següent de corrents (kg/h). Siguin W, V, U i X, Y, Z les incògnites, que escrivim a la taula:

Components	**Alimentació**	**Solvent**	**Fase superior, S**	**Fase inferior, I**
Aigua	814	604	W	X
Na_2SO_4	190	-	V	Y
PEG	-	406	U	Z
Lisozim	5	-		
Impureses	40	-		
Total	1.049 kg/h	1.200 kg/h		

La línia d'enllaç ens dóna la composició de les fases en equilibri per al *sistema sense enzim.* De moment, tenim sis incògnites, que designem W, U, V, X, Y, Z. A més de les equacions de conservació de PEG i de sal, PEG total = 406 kg/h i sal total = 190 kg/h. En resum, tindrem el sistema de sis equacions amb sis incògnites:

$$U + Z = 406$$
$$V + Y = 190$$
$$\frac{U}{W + V + U} = 0,4$$
$$\frac{V}{W + V + U} = 0,01$$
$$\frac{Y}{X + Y + Z} = 0,18$$
$$\frac{Z}{X + Y + Z} = 0,006$$

linealitzem aquestes equacions i resolvem el sistema matricialment. Així s´obtenen els valors del components aigua, PEG i sal a les dues fases, marcats amb cursiva, a continuació:

Components	Alimentació	Solvent	Fase superior, S	Fase inferior, I
Aigua	814	604	*590*	*814*
Na_2SO_4	190	-	*10*	*180*
PEG	-	406	*400*	*6,0*
Lisozim	5	-	**4,73**	**0,27**
Impureses	40	-	**26,8**	**13,2**
Total	1.049 kg/h	1.010 kg/h		

Vegem ara com es reparteixen el lisozim i les impureses a partir de les seves constants d'equilibri. Les constants són $K_L = 20$ per al lisozim L, i $K_{imp} = 2$ per a les impureses. Apliquem l'equació de Kremser (v. Eq. 7.21) per al lisozim i per a les impureses.

Lisozim. Com que S/F = 1.010/1.049 ~ 1, el factor d'extracció del lisozim valdrà $E_x = K_L$ S/F ~20 i, per tant, la recuperació en una etapa ideal N = 1 valdrà:

$$\frac{x_1}{x_F} = \frac{E_x - 1}{E_x^{N+1} - 1} = \frac{20 - 1}{20^2 - 1} = 0,047$$

$$\frac{y_1}{x_F} = 1 - 0,047 = 0,953$$

Així doncs, s'extreu a la fase S el 95,3 % del lisozim de l'alimentació:

Impuresa: Anàlogament, aplicant Kremser per a les impureses, $K_{imp} = 2$ i $E_{x,\,imp} = 2$, essent N = 1, es troba:

$$\frac{x'_{imp}}{x'_{Fimp}} = \frac{E_x - 1}{E_x^2 - 1} = \frac{2 - 1}{4 - 1} = 0,33$$

$$\frac{y'_{imp}}{x'_{Fimp}} = 1 - 0,33 = 0,67$$

És a dir, el 67% de la impuresa present a F se'n va a la fase superior. Així doncs, es tindran les quantitats que figuren en negreta a la taula anterior. Vegem ara l'augment de puresa de l'extracció. De la taula anterior:

$$\text{Puresa en } F = \frac{5}{5 + 40} = 0,11\,(11\%)$$

$$\text{Puresa en } E = \frac{4,73}{4,73 + 26,8} = 0,15\,(15\%)$$

Per tant, l'extracció purifica el lisozim (15 % > 11 %). Seran necessàries més etapes d'extracció per millorar la puresa fins al valor que s'especifiqui.

7.8 Conclusions

S´ha donat un tractament de l´extracció general, presentant primer els mètodes gràfics, per a alimentacions concentrades (x_F ~ 0,1-0,5). Després, s´ha aplicat a les dissolucions diluïdes (x_F < 1-2%). Ambdós tractaments son útils tant per als estudiants d´enginyeria com per als de biotecnologia.

L´interès en Biotecnologia és gran per a l´extracció d´antibiòtics, que no convé concentrar per evaporació abans de l´extracció. Si es tracta de fermentacions que donen altres metabòlits de baix PM (cetones, alcohols, àcids orgànics, etc) en concentracions del 1-3%, es recomana llavors evaporar abans de l´extracció, fins al 10-15%. Per a enzims, proteïnes i antibiòtics s´ha de procedir directament a l´extracció, ja que podem desnaturalitzar la proteïna durant l´evaporació.

S´ha estudiat amb certa profunditat i exemples l´extracció amb solvent aquós bifàsic, fent servir els conceptes de l´operació d´extracció LL. Aquesta tècnica és emprada quan no es pot posar en contacte un metabòlit o una biomolècula (proteïna o ADN o altre) amb solvent orgànic. Les solucions de polietilenglicol (PEG) i dextrà (o algunes sals, o polielectròlits) formen 2 fases aquoses immiscibles, que extreuen selectivament a la fase menys densa la biomolècula d'interès.

7.9 Notació

a	Area específica de gotes, m^2/m^3
A	Secció transversal columna, m^2
D	Diàmetre de la columna, m2
E	Cabal màssic d´extracte, kg/s
E_x	Factor d´extracció, = mS/F
F	Cabal màssic d´alimentació, kg/s
HTU_{Ox}	Alçada de la unitat de transferència global refinat, m
HETS	Alçada equivalent de l´ etapa teórica, m
k_x	Coeficient de película de tranferència de massa, del refinat kg/m2/s
K_x	Coeficient global de transferència de massa, kg/m2/s
m	Coeficient de repartiment, = y/x,
N	Nombre de etapes de eqilibri de la separació
NTU_{ox}	Nombre de unitats de transferencia, costat refinat, OR
(r´´)	Flux de difusió, $kg/m^2/s$
(r´´´)	Flux de difusió volumetric, = (r´´)a, $kg/m^3/s$
R	Cabal màssic de refinat, kg/s
S	Cabal màssic de solvent, kg/s
x	Fracció màssica de solut en refinat,
x_1, x_2	Fracció massica a entrada i sortida de la columna,
x_F	Fracció màssica de solut en alimentació,
x_N	Fracció màssica a la sortida de les etapes,
y	Fracció màssica de sollut en extracte,
z	Coordenada vertical de la columna, m
z_T	Alçada efectiva de la columna, m

Adsorció

L'adsorció és una operació de transferència de massa en què un solut dissolt en un fluid es transfereix a la superfície d'un sòlid porós per al qual el solut té afinitat. La solució de partida pot ser líquida o gasosa. El procés està controlat per l'equilibri de fases sòlid-fluid, de forma que, en un temps infinit, s'assoleix l'equilibri termodinàmic. Tanmateix, en un temps de contacte finit, la quantitat de solut adsorbida pel sòlid depèn de la velocitat de transferència de massa (a la capa límit externa fluid-sòlid), de la velocitat de difusió intrapartícula (en el porus del sòlid) i de la velocitat intrínseca d'adsorció. La superfície del carbó està integrada per centres actius amb afinitat pel solut. En un centre actiu, la velocitat intrínseca d'adsorció és, en general, reversible. Com que la superfície interna d'adsorbent és molt gran (pot ser de fins a 1.500 m^2/g d'adsorbent), potencialment hi ha una gran capacitat de capturar solut (entre el 20 i el 30 % del pes de l'adsorbent). El procés invers de l'adsorció és la desorció, que té lloc quan una quantitat de carbó carregat de solut es posa en contacte amb un solvent net de solut.

L'adsorció és la precondició per a la catàlisi heterogènia quan l'adsorbat, a més, reacciona en el centre actiu. L'adsorció simple pot ser una fisiosorció o una quimiosorció. La primera comporta una energia d'activació (i una calor d'adsorció) de magnitud no gaire més gran que la calor de condensació del solut. En canvi, en la quimiosorció, l'energia és molt més gran. Normalment, els adsorbents que s'empren en la tecnologia ambiental i en la biotecnologia són inespecífics. Més endavant, explicarem els adsorbents més específics que es fan servir en la cromatografia. En cromatografies especialitzades, trobem adsorbents molt més específics.

El contacte del sòlid amb el fluid pot ser per suspensió de les partícules d'adsorbent en la dissolució per tractar en presència d'agitació, com a la figura 8.1, en què es fa la suspensió de les partícules d'adsorbent en el medi líquid. Una altra manera de posar en contacte el fluid i el sòlid és fer passar la dissolució de fluid que conté el solut a través d'un llit fix de partícules d'adsorbent, com es veu a la figura 8.2, en una disposició en llit fix emprada en tecnologia ambiental, per tal de recuperar substàncies orgàniques volàtils (VOC) i regenerar l'adsorbent amb vapor. En el cas de diversos llits d'adsorbent, el sòlid se satura (capta solut i es posa en equilibri amb l'alimentació) i

s'ha de regenerar. Industrialment, les VOC poden implicar uns quants llits d'adsorció (2 o 3), de forma que, mentre un llit està actiu, el segon està en regeneració i el tercer està en espera. Sovint n'hi ha prou amb dos llits (v. figura 8.2), amb una distribució correcta de temps en cadascun.

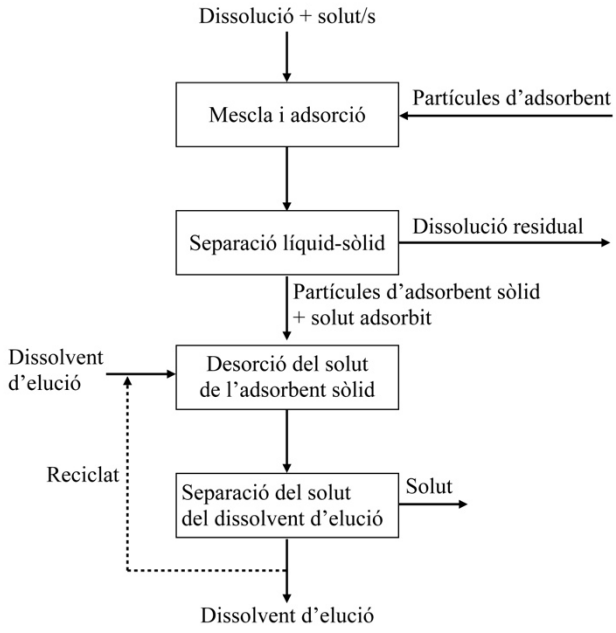


Fig. 8.1
Operacions de contacte d'un brou amb adsorbent en forma de partícules en suspensió. I recuperació del solut i l'adsorbent (basat en A. Margaritis)

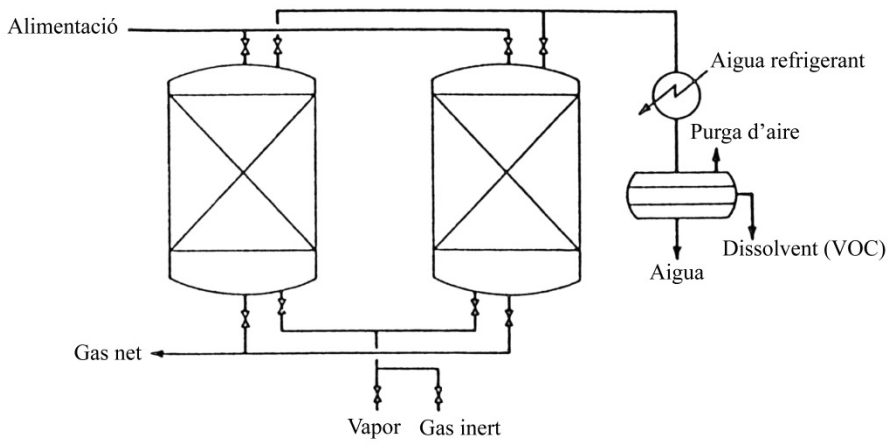


Fig. 8.2
Captura de VOC (p. ex., toluè de l'aire) en un llit d'adsorbent i recuperació del solut per desorció amb vapor i posterior condensació

En biotecnologia, es recorre sovint a la disposició d'una columna de rebliment d'adsorbent, a vegades de dimensions molt superiors a les d'una columna cromatogràfica (de diàmetre d'1 o 2 cm i d'1 m de longitud), que pot arribar a tenir un diàmetre de 80 cm o més, en l'adsorció de la producció.

Lluny del punt crític del solvent, l'adsorció és un procés moderadament exotèrmic i, per tant, el procés invers (desorció) és endotèrmic, és a dir, requereix calor. Per tant, per alliberar el solut adsorbit a baixa temperatura (30ºC), es pot optar per una desorció tèrmica a temperatures de vapor saturat (120-160ºC) o de forn (cap als 900ºC), quan el solut i l'adsorbent ho permeten. En biotecnologia, no és possible fer-ho tèrmicament si es vol recuperar un bioproducte valuós, i s'opta per una desorció amb eluent, que afavoreix l'alliberament del solut cap al solvent d'elució modificant aquest l'equilibri a favor de la desorció.

Una via interessant és la desorció amb fluid supercrític, que permet operar-la en condicions tèrmiques suaus, quan s'empra un fluid supercrític que té una isoterma crítica a una temperatura pròxima a l'ambient i a pressió moderada, per exemple, CO_2 o un alcà lleuger, com C_2 a C_4. Aquests actuen, en realitat, com a solvents o eluents en condicions properes al punt crític, és a dir, de forma molt suau (per al cas del CO_2, el punt crític és 31ºC i 72 bar, aproximadament). A prop del punt crític del CO_2, l'adsorció és endotèrmica (Recasens *et al*., 1993).

8.1 Fonaments de l'adsorció i aplicacions a la biotecnologia

En biotecnologia, les instal·lacions d'adsorció generalment són petites, però, en el cas dels antibiòtics i d'altres, poden ser grans instal·lacions. Alguns exemples d'aplicació de l'adsorció són el procés de l'àcid cítric, en què es neteja la dissolució de reextracció amb carbó activat abans de la retenció a la columna de bescanvi iònic, on convé que només s'adsorbeixi el producte principal. Altres bioproductes que utilitzen l'adsorció són el procés de l'àcid làctic, les penicil·lines i alguns aminoàcids com la lisina i d'altres.

L'adsorció va acompanyada de dos processos:

- la desorció reversible del procés per recuperar el producte i
- la regeneració de l'adsorbent, sempre que aquest sigui valuós.

Taula 8.1
Productes biofarmacèutics recombinants purificats per adsorció

Bioproducte	**Vendes, milions de $**
Insulina	1.000
Hormona creixement humà	900
Interferons	500
Eritropoietina	400
Activador teixit plasminogènic	200

L'adsorció-desorció és una operació de separació que es pot calcular de forma precisa, com l'extracció líquid-líquid que hem vist al capítol anterior. Aquestes operacions impliquen conèixer les dades de velocitat i d'equilibri dels processos. Generalment, aquestes dades són difícils d'obtenir i molt sovint són accessibles a partir de les dades del propi procés a la planta del propietari. A la taula 8.1, es donen dades de la importància de l'adsorció en la producció de bioproductes farmacèutics obtinguts per tècniques

d'ADN recombinant. Com es pot veure, el valor econòmic dels productes és considerable.

L'adsorció-desorció és important en la purificació i la cromatografia de les proteïnes i els àcids nucleics, a una escala inferior a la dels processos industrials citats. Però el procés d'adsorció-desorció funciona a més gran escala que el de cromatografia. En algun cas, la purificació es realitza adsorbint preferentment les impureses en una columna a la qual es bomba un adsorbat impur. L'adsorbent captura el solut i deixa eluir el contaminant. Després, a l'etapa de desorció, s'inverteix l'afinitat amb un eluent adequat i el solut es desorbeix. En general, es pot fer que els fronts d'adsorció siguin força aguts, cosa que permet una bona resolució.

En aquest capítol, tractem dels fonaments de l'adsorció, dels processos d'adsorció (operació per càrregues i operació en una columna de rebliment) i, finalment, de les metodologies de canvi d'escala (LUB, moments de la resposta).

8.2 Velocitat i equilibri d'adsorció segons Langmuir

Considerem la superfície de l'adsorbent amb un nombre finit de centres actius. Les hipòtesis de Langmuir són les següents (Smith, 1981):

1. La superfície de l'adsorbent és energèticament uniforme. Per tant, la calor d'adsorció, Δh_{ads}, és constant i independent del grau de cobertura de la superfície o θ.

2. No hi ha interaccions entre les molècules adsorbides.

3. El mecanisme d'adsorció és sempre el mateix i és reversible.

4. El màxim grau de cobertura és igual a una monocapa.

Sigui q la quantitat d'adsorbat adsorbida, en mol/kg adsorbent pur, i sigui q_m la màxima quantitat d'adsorbat corresponent a una monocapa per a $\theta = 1$. La diferència $q_m - q$ serà la quantitat de llocs actius vacants, en mol/kg adsorbent. Si exposem la superfície de l'adsorbent a un corrent de gas, la velocitat d'adsorció es considera de segon ordre, és a dir, proporcional al nombre de centres vacants i a la concentració del solut a la fase fluida. Així, doncs:

$$r_a = k_a(q_m - q)C \tag{8.1}$$

on la velocitat d'adsorció és expressada en mol/kg·s; la constant k_a, en m^3/mol·s, i C, en mol/m^3. La velocitat de desorció serà de primer ordre:

$$r_d = k_d q \tag{8.2}$$

on les unitats de r_d són mol/kg·s; les de q, mol/kg, i k_d en s^{-1}.

La velocitat neta d'adsorció serà, doncs:

$$r = r_a - r_d = k_a (q_m - q) C - k_d q \tag{8.3}$$

En equilibri, r = 0. Llavors, aïllant la quantitat adsorbida, q, en equilibri amb la concentració a la fase gasosa, C, es tindrà:

$$q = \frac{K_c q_m C}{1 + K_c C} \tag{8.4}$$

on:

$$K_c = \frac{k_a}{k_d} \tag{8.5}$$

en què K_c és la constant d'equilibri, expressada en m^3/mol. L'expressió 8.4 és la isoterma de Langmuir a la temperatura a la qual estan avaluades k_a, k_d i K_c. La isoterma de Langmuir és, doncs, no lineal i té dos paràmetres, que són K_c i q_m. Aquests es determinen a partir d'uns quants valors d'equilibri fluid-sòlid, determinats a T constant. La isoterma es pot expressar com:

$$\theta = \frac{q}{q_m} = \frac{K_c C}{1 + K_c C} \tag{8.6}$$

en què K_c depèn de T. A T = constant, per a C gran, el valor de q se satura a $q = q_m$, és a dir, $\theta = 1$ (v. isoterma de Langmuir a la figura 8.3).

A vegades, la quantitat d'adsorbat captat pel sòlid s'expressa en massa, kg; llavors, les unitats dels paràmetres són: q i q_m, en kg solut/kg adsorbent; K_c, en m^3/kg. En sistemes d'adsorció des del gas, la C s'expressa en pressió parcial, atm, bar, ppm o psi. A vegades, també s'expressa en volum de líquid (σ gas en CN) retingut per adsorció per kg d'adsorbent.

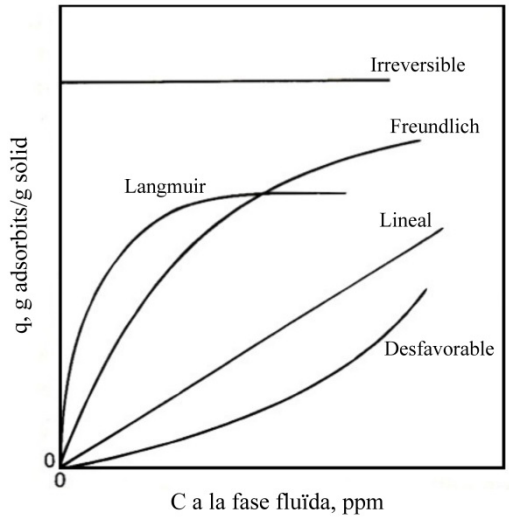


Fig. 8.3
Isotermes d'adsorció ideals més freqüents

8.2.1 Altres isotermes: la isoterma lineal i la de Freundlich

Considerem ara l'equació 8.6 i suposem que fem servir la concentració de solut en kg massa, en comptes de mol. Així, doncs, C estarà expressat en kg/m^3. Per a valors de C que tendeixin a 0, i també si q---> 0, la isoterma de Langmuir es converteix en lineal i adopta, llavors, la forma següent:

$$q = K_c q_m C = K'C \tag{8.7}$$

on K_c s'expressa en m^3/kg; q_m, en kg solut/kg adsorbent; C, en kg solut/m^3, i K', en m^3/kg. Llavors, tenim una isoterma lineal que és molt útil a la pràctica, que és en tot similar al coeficient de repartiment, m, utilitzat en l'extracció líquid-líquid (v. figura 8.3). Molt sovint, interessa que la constant K' de l'expressió 8.7 sigui adimensional. Si suposem que ρ_p (kg/m^3) és la densitat de la partícula humida, multiplicant els dos membres de l'equació 8.7 per ρ_p, tindrem:

$$q\rho_p = K'\rho_p C \tag{8.8}$$

que serà la isoterma lineal, la qual es pot escriure com:

$$q\rho_p = KC \tag{8.9}$$

on K és adimensional; així, doncs, $q\rho_p$ i C tenen les mateixes unitats, kg/ m^3, cosa que matemàticament és convenient, com veurem més endavant (K' s'expressa en m^3/kg i ρ_p, en kg/m^3, a l'equació 8.8). El producte $q\rho_p$ representa la càrrega de solut per unitat *de volum* de partícula. L'equació 8.9 representa, doncs, una expressió senzilla i útil quan disposem de poques dades d'equilibri, i en tenim prou amb una constant de repartiment fluid-sòlid (v. isoterma lineal a la figura 8.3). Per a adsorbats complexos (ADN, proteïnes), normalment és suficient tenir una constant de repartiment.

8.2.2 Energètica

Diversos autors han examinat la constant de Henry, K', utilitzant cromatografia de gas, líquid o fluid supercrític. L'expressió precisa de la constant de Henry, amb cobertura petita, es defineix a partir de l'equació 8.7 de la manera següent:

$$K' = \lim_{c\to 0}\left(\frac{q}{c}\right) = K_c q_m \tag{8.10}$$

Fent servir l'equació de Clapeyron, que relaciona les constants d'equilibri amb p i T, a θ constant, i la calor d'adsorció, s'obté la variació de K' amb T per a gasos a baixa pressió o líquids, com:

$$\left(\frac{\partial \ln K'}{\partial T}\right)_{\theta=0,P} = \frac{\bar{h}^{solid} - \bar{h}^{fluid}}{RT^2} \tag{8.11}$$

on el numerador és Δh_{ads}, que és la calor diferencial d'adsorció per mol de solut. Aquesta equació prediu una constant de Henry tal que, si l'adsorció és exotèrmica, K' disminueix en augmentar la temperatura. A baixa pressió o en fase líquida, $\Delta h_{ads} < 0$, és a dir, l'adsorció és exotèrmica, i, si es compleixen les hipòtesis de Langmuir, la calor d'adsorció serà constant amb la cobertura, θ. A la figura 8.4, es dóna la calor diferencial d'adsorció per a diferents adsorbents i fluids. Es veu que la calor d'adsorció és negativa i que varia fortament en funció de la cobertura, cosa que indica que no es compleixen les hipòtesis de Langmuir. En la majoria dels casos, l'equació de Langmuir no es compleix i, per tant, és preferible utilitzar la isoterma lineal o bé la isoterma de Freundlich (v. figures 8.3 i 8.5), on s'observa que aquesta isoterma no se satura.

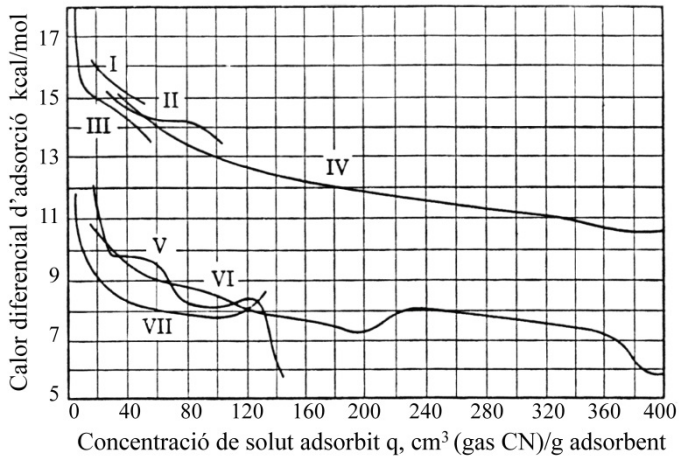


Fig. 8.4
Calor diferencial d'adsorció versus quantitat adsorbida. I, II, III, orgànics sobre carbonis activats; IV, íd. sobre gel de sílice; V, VI, SO2 sobre carbons, i VII, amoníac sobre carboni activat (Hougen et al., Chemical Process Principles, vol. I, 1954)

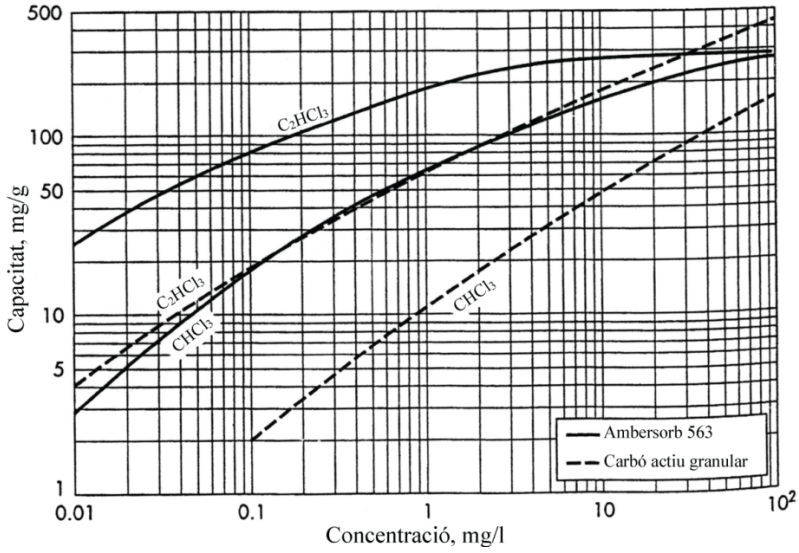


Fig. 8.5
Isotermes de Freundlich (aire i aigua) sobre carbó activat

8.2.3 Regeneració tèrmica

L'equació 8.11 indica que, en el cas més freqüent d'adsorció exotèrmica, podem recuperar el solut desorbint-lo, afegint calor (vapor saturat) a la pròpia instal·lació d'adsorció. En principi, hi hauríem d'afegir una quantitat de calor equivalent a Δh_{ads} per mol de solut. Això, però, no és suficient perquè la instal·lació absorbeix calor (està freda) i el llit també, per tal de portar-lo a la temperatura de desorció. El fet és que se n'ha d'aportar bastant més. Generalment, *s'utilitzen de 5 a 6 kg de vapor/kg de solvent* per recuperar, quantitat que té en compte tots els conceptes d'absorció de calor del procés i la instal·lació, i els canvis d'entalpia durant el cicle de treball del llit.

8.2.4 Regeneració de l'adsorbent en biotecnologia

En biotecnologia, operem també en un llit de rebliment d'adsorbent, però, com que per regenerar no podem treballar a molt alta temperatura (l'adsorbat és termolàbil), s'inverteix l'adsorció fent un canvi de solvent en comptes d'un canvi de temperatura, la qual es manté baixa. Es regenera emprant un solvent amb una constant d'equilibri favorable a la desorció (K molt diferent de la d'adsorció), com es veurà a l'exemple 8.4.

Exemple 8.1.

Un assecador d'aire per adsorció sobre gel de sílice té instal·lats 112,5 kg d'adsorbent, que inicialment contenen 12,6 kg d'aigua retinguda. Calculeu la calor generada per aquesta aigua adsorbida per aquesta càrrega inicial, q, suposant que les dades són les de la figura 8.4 (corba IV). Compareu-ho amb la calor latent de condensació del vapor d'aigua a 1 atm (a).

Calculem la càrrega inicial q, en cm^3 de vapor en CN/g d'adsorbent per entrar al gràfic:

$$q = \frac{12,6}{112,5} = 0,112\, g/g$$

$$= \frac{0,112}{18} \times 22,4 \times 1000 = 139 cm^3_N$$

expressada en cm^3 normals serà, doncs, de 139. La calor d'adsorció diferencial, com es llegeix al gràfic (v. figura 8.4), per a q = 139, val -12,5 kcal/mol d'aigua, o bé -2.902 kJ/kg d'aigua adsorbida. Quan el vapor d'aigua condensa a 1 bar (a) dóna -2.258 kJ/kg (taules del vapor). És a dir, es tracta d'un procés no gaire exotèrmic, en què la calor d'adsorció és de l'ordre de la calor de condensació. Vegeu, però, que la calor varia amb la cobertura (v. figura 8.4) i que, per a q = 0, quan comença l'adsorció, la calor pot arribar a ser un 40 % més alta, aproximadament de - 3.900 kJ/kg, per als primers kg que s'adsorbeixen.

8.2.5 Isoterma de Freundlich

Veiem que la calor d'adsorció varia amb el grau de cobertura i, per tant, no es compleixen les hipòtesis de Langmuir. En realitat, sobre una superfície real, hi ha un nombre finit de centres actius amb una distribució exponencial d'energies d'activació pel que fa a la velocitat d'adsorció. Així, doncs:

$$\theta = \exp\left(-\frac{\Delta h_{ads}}{\Delta h_0}\right)$$

$$\Delta h_{ads} = -\Delta h_0 \ln\theta$$

Amb aquests supòsits, i assumint la llei de Henry, es dedueix la isoterma de Freundlich (Krebs i Smith, 1986). Aquesta té la forma següent:

$$q = KC^n \quad n<1 \tag{8.14}$$

La forma d'aquesta equació suggereix que *log q vs log C*, per a parells de punts en equilibri, és una línia aproximadament recta de pendent *n*, que permet trobar per regressió els paràmetres de la isoterma, K i n. I, per tant, es dóna en gràfics doblement logarítmics (v. figura 8.5, per a soluts líquids o gas). A la taula 8.2 es donen unes quantes isotermes de Freundlich d'interès en biotecnologia.

Taula 8.2
Isoterma de Freundlich, tipus $q= KC^n$ (Aigua, 25ºC)

Solut	Adsorbent	Unitats de q ; C	Valor de K	Valor de n	Ref.
SO2	Carbó activat	mol/g ; mol/cm3	0,180	0,532	Smith (1981)
Gentamicina	Carbó activat	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.
Fenol	Carbó activat	mmol/g ; mmol/L	2,16	0,229	Recasens et al (1993)

8.2.6 Isoterma generalitzada per carbó activat

A la figura 8.6, es dóna la correlació q en funció de la pressió parcial de l'adsorbat en aire adsorbint-se sobre carbó activat tipus BPL de la companyia Pittsburgh (1.040 m^2/g). Les unitats de les ordenades i les abscisses són poc usuals i s'aclareixen als textos (McCabe *et al.*, 1993). El gràfic serveix per a parafines lleugeres, derivats orgànics clorats i compostos de sofre orgànics, a diverses temperatures, a les quals s'ha de tenir la pressió de vapor de l'adsorbat, la densitat del líquid en el punt d'ebullició, etc. El gràfic ens dóna *q vs p* en equilibri, amb un solut gasós, a una pressió parcial en la fase fluida a temperatura T.

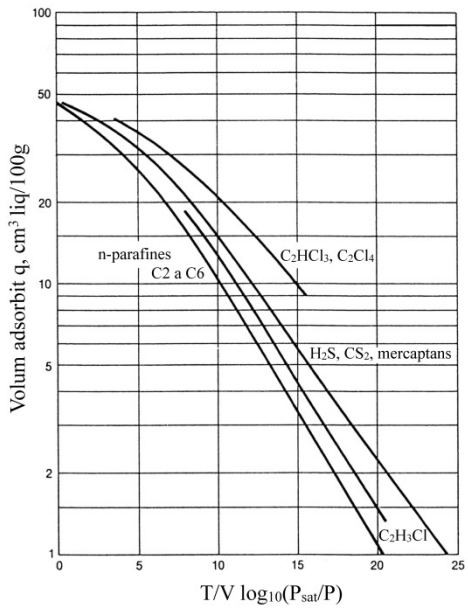


Fig. 8.6
Correlació generalitzada sobre Pittsburg BPL Activated Carbon (McCabe et al., 1993). Dades d'equilibri q versus p, de compostos orgànics sobre carbó activat des de l'aire

8.3 Càlcul de les operacions d'adsorció

A continuació, tractem dels casos que es poden calcular amb més precisió. Són aquests:
- Una etapa o varies etapes de contacte per càrregues
- Operació d´adsorció en un llit fix, isoterma lineal (Henry)
- Operació de desorció d´un llit fix, isoterma lineal (Henry)
- Moments de la corba de ruptura
- Càlcul de canvi d´escala de columnes (mètode LUB, i moments)
- Operació d´adsorció en un llit fix, isoterma no-lineal (Freundlich)

Els exemples que es donen són de biotecnologia.

8.3.1 Una etapa o diverses etapes de contacte. Operacions per càrregues

Suposem que tenim un volum de líquid F, que conté una concentració C_0, i el mesclem amb W kg d'adsorbent, que té una càrrega q_0 de solut. Suposem que, en l'adsorció, el volum de líquid no varia i que la càrrega inicial q_0 de l'adsorbent no és 0. El balanç de solut entre t = 0 i t = ∞ serà el següent:

$$Wq_0 + FC_0 = Wq + FC \tag{8.15}$$

i la línia d'operació:

$$q = q_0 - \frac{F}{W}\left(C - C_0\right) \tag{8.16}$$

on C i q estan en equilibri d'adsorció. Per tant, han de complir la isoterma corresponent. Si suposem que coneixem la isoterma de Freundlich, estaran en equilibri:

$$q = KC^n \tag{8.17}$$

La intersecció de les dues línies anteriors (v. equacions 8.16 i 8.17) dóna les condicions finals de l'adsorció C i q, que s'obtenen fàcilment, de forma gràfica o numèrica (v. figura 8.7).

Per a diverses etapes per càrregues, fent diferents adsorcions sobre un mateix volum F de dissolució (v. figura 8.7), amb diferents masses conegudes d'adsorbent, dóna el sistema d'equacions següent:

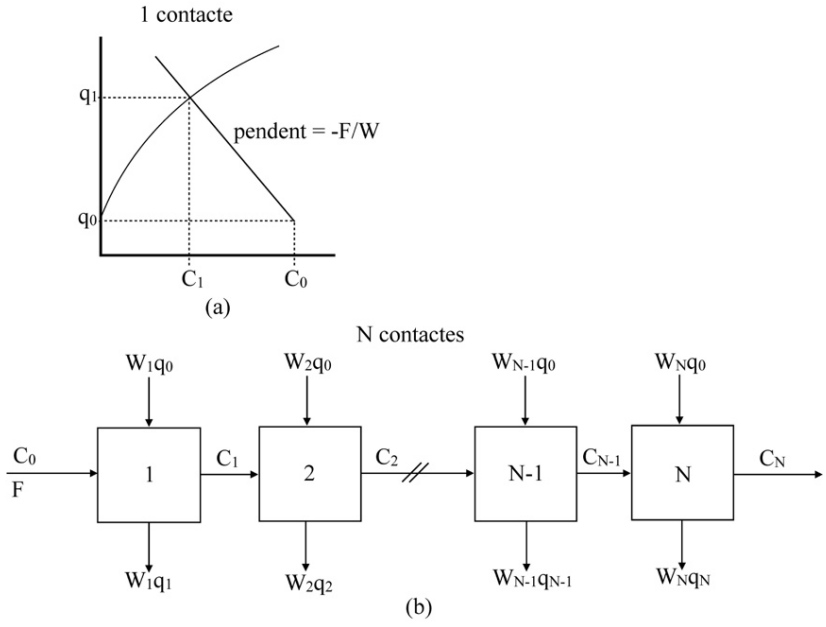


Fig. 8.7
Contacte en una etapa d'un volum de dissolució F, amb una massa W de carbó activat. Contacte en N etapes successives, amb addició d'adsorbent a cada etapa

$$W_1 q_0 + FC_0 = W_1 q_1 + FC_1$$

$$W_2 q_0 + FC_1 = W_2 q_2 + FC_2 \tag{8.18}$$

$$W_N q_0 + FC_{N-1} = W_N q_N + FC_N$$

$$q_i = KC_i^n \quad i = 1, N \tag{8.19}$$

sistema de 2N equacions i 2N incògnites, que té solució gràfica o numèrica.

Exemple 8.2. Volem recuperar el 98 % d'un metabòlit contingut en 3 L d'un brou de fermentació per contacte amb carbó activat amb agitació. La concentració inicial del bioproducte és de 46 mg/L. *a*) Calculeu la massa de carbó que s'ha utilitzar. *b*) Calculeu el tant per cent de producte adsorbit per kg de carbó verge utilitzat.

Nota: La isoterma del producte sobre carbó és q (mg/g) = 35,1 $C^{0,41}$ (C en mg/L).

a) Les dades són: F = 3L, C_0 = 46 mg/L, q = 35,1 $C^{0,41}$. El balanç de massa serà:

$$\frac{C_0 - C}{C_0} = 0,98$$

$$C = C_0\left(1 - 0,98\right) = 0,92$$

$$F\left(C_0 - C\right) = 3(46 - 0,92) = Wq = 135,2mg$$

El valor de q ha d'estar en equilibri amb C = 0,92; per tant, q i W valdran:

$$q = 35,1(0,92)^{0,41} = 33,9\,mg/g$$

$$135,2 = W33,9$$

$$W = 3,98g$$

b) La càrrega del carbó serà q = 33,96 mg/g i, per tant, en tant per cent serà = (0,135/3,98) × 100 = 3,39 %, < 4 %.

8.3.2 Operació d'adsorció en llit fix, isoterma lineal

Considerem una columna de rebliment plena d'esferes d'adsorbent retingudes a la columna. La columna té una altura L. Considerem l'entrada d'un esglaó de solut, C_0 h(t), a z = 0, on C_0 és la concentració de solut a la fase fluida. Ci és la concentració de solut al fluid dels porus de l'adsorbent. Els balanços d'adsorbat en el fluid exterior a les partícules tindran en compte les etapes en sèrie següents: 1) la dispersió axial al fluid, 2) la transferència de massa externa a les partícules, 3) la difusió intrapartícula al fluid dels porus, 4) la adsorció reversible a l'interior del sòlid. L'última etapa correspon a l'adsorció lineal corresponent a una isoterma d'adsorció en equilibri local. Amb aquests supòsits, el balanç de solut al corrent de fluid serà:

$$\alpha\frac{\partial C}{\partial t} + u\frac{\partial C}{\partial z} = E\frac{\partial^2 C}{\partial z^2} - \frac{3(1-\alpha)}{R}k_m(C - Ci\,|_{r=R}) \qquad (8.20)$$

on α és la fracció buida del llit, E és el coeficient de dispersió axial basat en l'àrea transversal del llit, u és la velocitat superficial del fluid i l'últim terme és el flux de difusió a la superfície externa de les esferes:

$$k_m(C - Ci|_{r=R}) = De\left.\frac{\partial Ci}{\partial r}\right|_{r=R} \tag{8.21}$$

en què r és la coordenada radial de l'esfera i R, el seu radi. El balanç de massa de solut dins l'esfera, de porositat β, és:

$$\beta\frac{\partial Ci}{\partial t} = De\left[\frac{\partial^2 Ci}{\partial r^2} + \left(\frac{2}{r}\right)\frac{\partial Ci}{\partial r}\right] - \rho_p k_a^{"}\left(Ci - q/K\right) \tag{8.22}$$

on De és la difusivitat efectiva a l'esfera i q és la concentració de solut adsorbit a r = r. L'expressió de la velocitat reversible de l'equació 8.22 és l'expressió lineal de Langmuir quan la càrrega q és molt inferior a q_m. A les equacions anteriors, k_m és el coeficient de transferència de massa fluid-sòlid, que ve donat, per exemple, per la correlació de Wakao-Furazkri per a llits fixos (v. Consideracions finals).

De l'equació 8.22, es dedueix que la velocitat d'adsorció es pot calcular com:

$$\rho_p\frac{\partial q}{\partial t} = \rho_p k_a^{"}\left(Ci - q/K\right) \tag{8.23}$$

És usual suposar equilibri local (adsorció ∞ ràpida) als centres actius de l'adsorbent; en aquest cas, l'equació anterior derivaria en una condició d'equilibri, del tipus q = K Ci (isoterma lineal de Langmuir, amb K en m^3/kg).

8.3.3 Perfil parabòlic intrapartícula i força impulsora lineal

La dificultat principal per resoldre les equacions anteriors és deguda al càlcul dels perfils interiors de Ci(r) i q(r), i a l'avaluació del flux a r = R, a les equacions 8.20, 8.21 i 8.22. Diversos autors han demostrat que, si se suposen uns perfils parabòlics de concentracions intrapartícula, de Ci i q, la força impulsora es pot escriure com a combinació de resistències, de la manera següent (McCabe *et al*., 1993):

$$\frac{1}{K_p} = \frac{1}{k_m} + \frac{d_p}{10De} \tag{8.24}$$

o, equivalentment, la constant global de transport de massa valdrà:

$$K_p = \frac{5k_m}{5 + Bi} \tag{8.25}$$

on Bi és el nombre de Biot de massa de l'esfera, $Bi = k_m R/D_e$.

Per a Bi << 5, $K_p = k_m$ i, per a Bi >> 5, $K_p = 5\ D_e/R$, segons si domina la resistència externa o la interna, respectivament. La teoria de la força impulsora lineal permet tenir en compte la combinació de resistències (equació 8.24), per a mòduls de Thiele d'adsorció o reacció inferiors a 2, és a dir, per a una certa resistència intrapartícula,

combinada amb la resistència externa. En aquestes condicions, diversos autors mostren que l'aproximació és excel·lent, sempre que el temps d'operació sigui no gaire petit (Tomida i McCoy, 1985). Si s'utilitza aquesta hipòtesi, l'equació de difusió esfèrica (equació 8.22) es pot substituir per la següent:

$$\beta \frac{\partial \overline{Ci}}{\partial t} = 3\frac{K_p}{R}(C - \overline{Ci}) - \rho_p k_a''\left(Ci - \frac{\overline{q}}{K}\right) \tag{8.26}$$

on les concentracions amb barra superior, indiquen promitjos sobre el volum de l´esfera. Per a a la funció q, p.e.:

$$\overline{q} = \frac{3}{4\pi R^3}\int_0^R 4\pi r^2 q(r)\,dr \tag{8.27}$$

i anàlogament per a Ci (r). Amb les mitjanes de Ci i q, si s'insereixen els perfils parabòlics sota la integral anterior, s'obté la contribució de la De, eq 8.24. Llavors la velocitat d´adsorció en funció de la força impulsora, es pot escriure com:

$$\rho_p(1-\alpha)\frac{\partial \overline{q}}{\partial t} = K_p a\left(C - \frac{\overline{q}}{K}\right) \tag{8.28}$$

noteu que (1- α) representa la fracció del volum de partícules/ volum de llit en un llit fix.

8.3.4 Equilibri local (o en un centre actiu)

En adsorció i desorció és conegut que els processos en un centre actiu tenen lloc en equilibri, o sigui, que el procés és infinitament ràpid. I que l´etapa que retarda el procés és la difusió intrapartìcula i la difusió a la capa límit externa. Per a tant, el terme de velocitat d´adsorció, es redueix a la condició d´equilibri $\overline{q} = K\overline{Ci}$, que considerem en tot el desenvolupament que segueix, i que permet eliminar del model.

Amb l´eq (8.26) , l´eq (8.28), i eliminant Ci amb la condició d´equilibri, es pot escriure una equació de velocitat relativa al volum de fluid, com:

$$\left(\rho_p + \frac{\beta}{K}\right)(1-\alpha)\frac{\partial \overline{q}}{\partial t} + K_p a\left(C - \frac{\overline{q}}{K}\right) = 0 \tag{8.29}$$

8.3.5 Model de l´ adsorció en llit fix: Corba de ruptura

Amb aquestes hipòtesis i agrupant termes, les equacions del model (8.26) a (8.29), es transformen en el següent sistema lineal:

$$\frac{\partial C}{\partial t} + v\frac{\partial C}{\partial z} + k'\left(C - \frac{\overline{q}}{K}\right) = 0 \tag{8.30}$$

$$\frac{\partial \overline{q}}{\partial t} + k\left(C - \frac{\overline{q}}{K}\right) = 0 \tag{8.31}$$

on les constants k´i k estan especificades a la Notació, i v és la velocitat intersticial del fluid, v = u/α. La difusió intrapartícula està ara inclosa implicitament en la funció *q* promitjada sobre el volum de l´esfera; junt amb la condició d´equilibri local, eq 8.29.

Les condicions de contorn i inicials per al problema d´adsorció, eqs (8.30-8.31), son:

$$C(z=0,t)=C_0h(t) \qquad C(z,t=0)=0 \qquad \overline{q}(z,t=0)=0 \tag{8.32}$$

on h(t) és l´ esglaó unitari. Havent pres els valors mitjans de Ci i de q, eq 8.27, la variable radi de l´esfera r, no apareix en el model, cosa que fa el problema soluble analíticament. Una solució analítica de les eq 8.30 i 8.31 amb 8.32, és calculable com han demostrat diversos autors amb diverses simplificacions (p.e., Bird et al., 1975).

Taula 8.3. Solucions analítiques dels models d´adsorció i desorció d´un llit fix d´esferes poroses iguals. Cas d´equilibri local lineal i resistències de transport de massa extern i intern

Adsorció. Condicions inicials, eqs. (8.33).
Per t > z/v:

$$X=\left.\frac{C(z,t)}{C_0}\right|_{ads}=J\left[\frac{zk'}{v},k\left(t-\frac{z}{v}\right)\right]=J(\zeta,\tau)$$

$$Y=\left.\frac{\overline{q}(z,t)}{KC_0}\right|_{ads}=1-J\left[k\left(t-\frac{z}{v}\right),\frac{zk'}{v}\right]=1-J(\tau,\zeta)$$

Per t< z/v:

X = 0
Y= 0

Desorció. Condicions inicials, eqs. (8.37).
Per a t > z/v,

$$X'=\left.\frac{C(z,t)}{C_0}\right|_{des}=J\left[\frac{zk'}{v},k\left(t-\frac{z}{v}\right)\right]=J(\zeta,\tau)$$

$$Y'=\left.\frac{\overline{q}(z,t)}{q_0}\right|_{des}=1-J\left[k\left(t-\frac{z}{v}\right),\frac{zk'}{v}\right]=1-J(\tau,\zeta)$$

Per a t < z/v,

X´= 1
Y´= 1

A la Taula 8.3 es dona un resum de les solucions analítiques del model lineal , eq. (8.30, 8.31, amb 8.32), sensa simplificacions, junt amb el cas de desorció estudiat més endevant. El model és bi-paramètric, ja que hi ha la constant d´equilibri, K, i el coeficient global de transferència de massa, K_p. Les hipòtesis del model en resum son:

– Adsorbent esfèric de radi R
– Dispersió axial nul.la en sentit de z+
– Adsorció infinitament ràpida, equilibri local

– Força impulsora lineal, K_p combinada, (externa + resistència intrapartícula).

Introduint les funcions reduïdes, X i Y, les condicions inicials i de contorn per al cas d´adsorció (vegeu Notació):

$$X(z=0,t)=1 \quad X(z,t=0)=0 \quad Y(z,t=0)=0 \tag{8.33}$$

i la solució del sistema d´eq 8.30, 8.31 i 8.32, a cada posició, z , i temps, t, val (Taula 8.3):

$$X=\left(\frac{C}{C_0}\right)_{ads}=J(\zeta,\tau) \qquad Y=\left(\frac{q}{KC_0}\right)_{ads}=1-J(\tau,\zeta) \tag{8.34}$$

on J és la funció de Goldstein, definida com:

$$J(\zeta,\tau)=1-e^{-\tau}\int_0^{\zeta}e^{-\zeta}I_0(2\sqrt{\tau\zeta})d\zeta \tag{8.35}$$

Les funcions adimensionals de la posició, z, i el temps, t, respectivament, per a $K\rho_p>>\beta$ (veure Tomida- McCoy) son:

$$\zeta=\frac{K_p a z}{\alpha v} \qquad \tau=\frac{K_p a\left(t-\frac{z}{v}\right)}{K\rho_p(1-\alpha)} \tag{8.36}$$

o *a* es l'àrea específica del rebliment, que per esferes iguals val

$$a=\frac{3(1-\alpha)}{R}$$

Una solució analítica del sistema 8.31 i 8.32, es troba aplicant la transformada de Laplace seguida de convolució. Vegeu a la Taula 8.3 les solucions exactes del sistema pel cas d´adsorció lineal. Noteu que $\rho_p(1-\alpha)=\rho_B$. La primera eq 8.36 és la variable de longitud de llit, i la segona és la variable de temps. Les gràfiques de la funció J (ζ,τ) és donen a la Fig 8.8, essent s i t, variables genèriques. Per a avaluar J (ζ,τ) s´utilitza directament la Fig 8.8, o bé la integral de l´eq 8.35 es calcula numèricament. Els ordinadors personals tenen la funció de Bessel I_0 inclosa en la biblioteca, per tant, una forma ràpida de calcular J es calcular directament la integral de l´expressió eq 8.35. El codi per calcular J es dona en 3 sentències a la Taula 8.4. D´altra banda, el maneig de la funció J és molt senzill per a fer càlculs generals i s'il·lustra en un exemple següent.

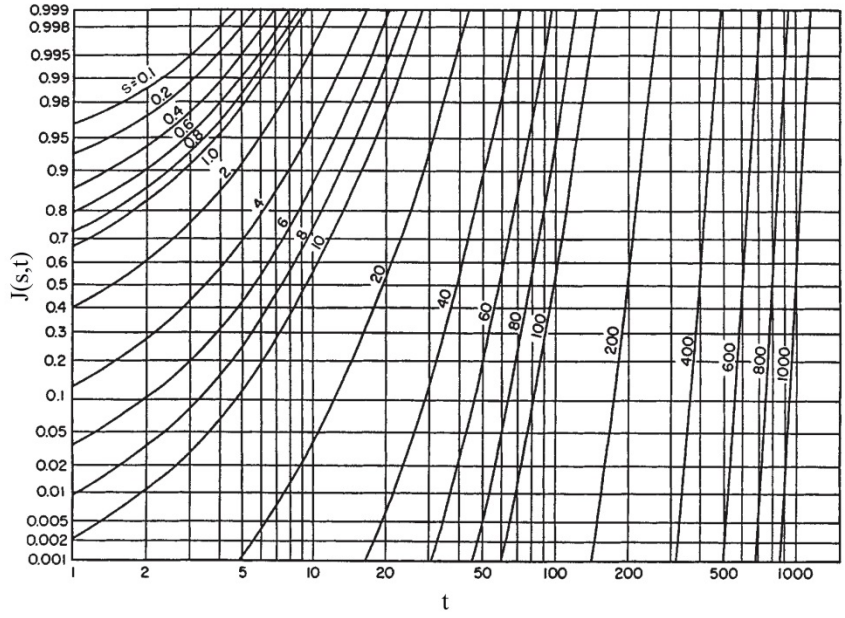


Fig. 8.8.
Funció J(s,t) enfront de t, amb s = constant, per la dinàmica d'un llit fix en una adsorció lineal (Perry-Green, 1980). Al text, les variables s i t es designen per ζ i τ, respectivament (v. definició a l'equació 8.36)

Volem avaluar J(s,t)per s= 3 t= 6 i altres

```
x=[0:0.1:s]
y=exp(-x).*besseli(0,2.*sqrt(x*t))
area=trapz(x,y)
J=1-exp(-t)*area
J(3,6)=0.88
J(10,10)=0.54
J(2,8)=0.98
J(2,6)=0.95
```

Taula 8.4.
Codi per la funció J (s,t)

Abans però vegem com es produeix l´adsorció d´un llit fix (Fig 8. 9). El model indica que la resposta de C/C_0 és funció del temps, t, per a una posició, z = L, per tant permet obtenir tota la corba de ruptura a temps posteriors.

La Fig 8.9 ens dona el perfil de C/C_0 a cada temps i cada posició. A t_1 hi ha una forta caiguda de concentració a la fase fluida (corba contínua) per que el fluid al entrar es troba amb un llit completament regenerat (vegeu condicions inicials). Al cap d´uns minuts el adsorbent prop de l´entrada se satura i està desseguida en equilibri amb l´entrada. La forma de la corba a t_2 es transforma amb una sigmoide. En aquest temps la concentració a l´adsorbent, q, és la corba de punts. Aquesta zona, anomenada de transferència de massa, o ZTM, és la zona activa del llit i en la Fig 8.9 abarca corbes en que C i q estan separades (per a t_2, línia contínua i de traços, respectivament). Aquesta zona es manté de forma const. per a isotermes favorables (Langmuir, Freundlich, etc) al augmentar el temps. Aquesta zona va avançant al llarg del llit a certa velocitat, v_s, inferior a v, sense canviar de forma. Entre un temps comprès entre t_3 i t_4, el solut comença a aparèixer a la

sortida del llit a z = L, i la corba de resposta dinàmica que es veu des de z = L en endevant, s´anomena corba de ruptura. Les solucions de la corba X i Y venen donades per la solució del model, eq 8.34.

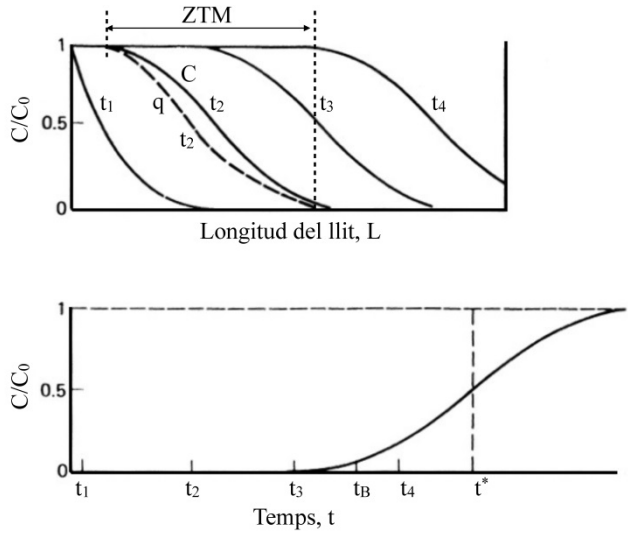


Figura 8.9
Avançament de l'ona de saturació al llarg d'un llit d'adsorbent. MTZ és la zona de difusió activa; tB és el temps d'operació en què es comença a fugar solut a la sortida i en què parem d'adsorbir. t* és el temps estequiomètric de l'ona plana

Per al disseny del llit, s´especifica la màxima quantitat d´adsorbat que deixem escapar del llit, vegeu l´adsorbat perdut a $t = t_B$. A la Fig 8.10, es veu també, la capacitat de llit no utilitzat. Aquest valor es pren normalment com un 5 % del valor final de la corba de ruptura. En columnes de bescanvi iònic per a desionització d´aigua (columna aniònica), aquest és el valor de la fuga de cations acceptada en el disseny.

Més endevant calcularem la velocitat d´avançament del front, així com el % de llit no utilitzat o LUB (length of unused bed), ja que aquest és un concepte important.

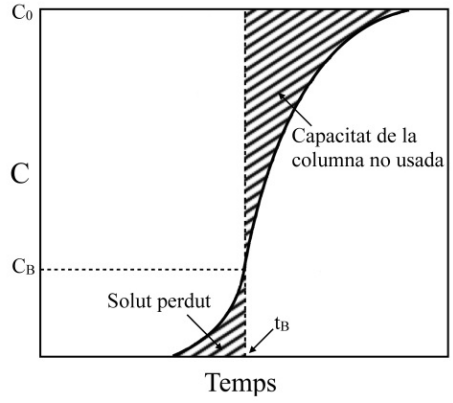


Fig. 8.10
Quan parem d'adsorbir, a t = tB, hem perdut una petita quantitat de solut i hi ha una part considerable de llit no usat, a la dreta del temps d'operació

Exemple 8.3. Temps de ruptura d'un adsorbidor de llit fix

A baixa concentració, l´equilibri d´adsorció de la novobiocina sobre polímer de bescanvi iònic Dowex 21K, té forma lineal, $q = 125\ C$ amb q i C en mg/mL, amb la const. d´equilibri adimensional ($K\rho_p$ = 125). Per a aquesta columna, el valor del coef de transferència de massa combinat val $K_pa = 82\ h^{-1}$. Estimar el punt de ruptura admissible (en que suposem que $C/C_0 = 0{,}05$) a la sortida de la columna. Aquesta té una longitud L= 20 cm, i opera a una velocitat del fluid de v = 40 cm/h. La fracció buida del llit és del 50%.

Calcularem els valors quan la fracció a la sortida del llit val C/C0= 0,05, fent servir el gràfic de la Fig 8.8

$$\zeta = \frac{K_p a z}{\alpha v} = \frac{82 \times 20}{0{,}5 \times 40} = 82$$

Per a $\zeta = 82$ i X= C/C0 = J = 0,05, τ val = 60 aprox., per tant el temps es calcula de l´expressió de τ =60, que és:

$$\tau = \frac{K_p a\left(t - \frac{z}{v}\right)}{K\rho_p(1-\alpha)} = \frac{82 \times \left(t - \frac{20}{40}\right)}{125 \times (1-0{,}5)}$$

d´on t = 46,2 h

8.4 Operació de desorció de solut d'un llit fix, isoterma lineal

La solució de la corba de ruptura per al cas de desorció s'obté per a les mateixes equacions d'adsorció (equacions 8.29 a 8.31), però canviant les condicions de contorn. Fem, doncs, un canvi de funcions, suposant ara unes altres condicions de contorn. En condicions de desorció, el llit està inicialment saturat d'adsorbat i a t = 0 fem una entrada en esglaó de solvent pur, $C_0 = 0$. Fem el canvi, *X'=1 - X* i *Y'=1 - Y*. Ara, les condicions inicials i de contorn seran les següents:

$$X'(z=0,t)=0 \quad X'(z,t=0)=Y'(z,t=0)=1 \tag{8.37}$$

que corresponen a una entrada a z = 0, $C_0 = 0$. Llavors, la solució de la corba de desorció, en termes de les funcions reduïdes, X' i Y', es demostra fàcilment que val:

$$X' = 1 - X = \left(\frac{C}{C_0}\right)_{des} = J(\zeta,\tau) \quad Y' = 1 - Y = \left(\frac{\bar{q}}{q_0}\right)_{des} = 1 - J(\tau,\zeta) \tag{8.38}$$

on la funció J (s,t) vé donada com abans per la gràfica generalitzada, Fig .8.8.

Exemple 8.4. Per desorbir un solut, s'ha de canviar l'afinitat del solut pel solvent d'elució.

S´ha aïllat una proteïna (una possible vacuna) per adsorció des d´un tampó per contacte amb una resina de bescanvi iònic en un llit fix. La resina consisteix en esferes de 0,011 cm de diàmetre, amb una fracció buida del llit de $\alpha = 0,37$. El llit és de 100 cm de longitud, i 83 cm de diàmetre, i s´alimenta a una velocitat de v = 0,052 cm/s. En aquestes condicions la proteïna s´adsorbeix amb un coeficient de transferència de massa $K_p = 6 \times 10^{-6}$ cm/s i una constant d´equilibri adimensional de $K\rho_B = 27$. Després de carregar tot el llit, es planifica la desorció fent servir un tampó més àcid com a eluent a fi de desorbir la proteïna del llit. La constant d´equilibri d´adsorció en el nou tampó val $K\rho_B = 0,22$ (unes 100 vegades menys que el valor d´adsorció) romanent constants els altres paràmetres. Amb el model biparamètric, calcular:

a) Quant de temps haurem d´eluir la columna fins tenir una concentració a la sortida d´un 10% del valor màxim?; b) quina càrrega de proteïna quedarà retinguda en el llit en aquest moment?

Adsorció: Utilitzarem la Fig 8.8 en els dos casos. Les dades per a entrar a la Fig 8.8, son les següents: $\alpha = 0,37$; v = 0,053 cm/s, $K_p = 6 \times 10^{-6}$ cm/s.

$$a = \frac{6(1-\alpha)}{d_p} = \frac{6 \times (1-0,37)}{0,011} = 343 cm^{-1}$$

$$\zeta = \frac{K_p a z}{\alpha v} = \frac{6 \times 10^{-6} \times 343 \times 100}{0,37 \times 0,053} = 10$$

Aquest valor de ζ=10 es mantindrà constant durant l´adsorció i la desorció, ja que no depen de la constant d´equilibri, que és la que canvia. Per a l´adsorció tindrem, que el paràmetre de temps per a assolir la saturació, $X = C/C_0 = 1$, valdrá (veure Fig 8.8, i eq 8.34)

$$X = 1 = J(10, \tau)$$
$$\tau = 30$$

***Desorció*:** Per a la desorció, fem servir notació de primes. *a*) Apliquem les equacions 8.38. Durant la desorció, observarem una corba de ruptura exponencial decreixent fins a $C/C_0 = 0,1$. Farem servir les equacions 8.38 per als valors dels paràmetres:

$$\zeta = 10$$
$$X' = (C/C_0)'_{des} = J(10, \tau') = 0,10$$
$$\tau' = 5$$

Conegut el temps adimensional durant la desorció, τ', calculem el temps real. Observeu que la densitat del llit està inclosa en els valors de K adimensionals. És a dir:

$$K\rho_B = K\rho_p (1-\alpha) = 0,22$$

$$\tau' = 5 = \frac{K_p a}{K\rho_p (1-\alpha)}\left(t - \frac{L}{v}\right) = \frac{6\times10^6 \times 343}{0,22}\left(t - \frac{100}{0,053}\right)$$

$$t = 2436s = 40,6\,\text{min}$$

a) La retenció de la proteïna residual sobre l'adsorbent serà:

$$Y' = \left(\frac{q}{q_0}\right)_{des} = 1 - J(\tau', \zeta) = 1 - J(5,10) = 1 - 0,93 = 0,07$$

és a dir, un 7 % de la proteïna queda retinguda al llit en el moment de l'elució, quan $C/C_0 = 0,1$.

8. 4.1 Resum de les solucions del models d´ adsorció lineal

A la Taula 8.3 es resumeixen les solucions analítiques del comportament del l´adsoció i desorció d´un llit fix, quan el procés és lineal amb una isoterma de Henry. Noteu que les solucións de la Taula 8.3 son generals i s´obtenen mitjantçant la transformació de Laplace de les eq 8.31a i b, i 8.32, seguida de convolució, amb les hipòtesis anteriors d´equilibri local i flux de pistó sensa dispersió axial en la direcció z.

Per tant, com a processos de velocitat hi ha: La resistencia externa i interna combinades en K_p, segons el nombre de Biot. L´expressió de K_p combinada admet una certa resistència intrapartícula (fins un mòdul de Thiele de < 2 per a reacció d´adosrció).

8.5 Pèrdua de càrrega per fricció en llits porosos

En la mecànica de fluids s´estudia el fregament del fluid en llits de partícules sòlides. Quan un gas o un líquid passen per un llit de rebliment la fricció a les parets és negligible comparada amb la del propi rebliment. Avui dia l´equació més general de pèrdua de càrrega és l'equació de Ergun per a llits de partícules esfèriques iguals, que conté les contribucións laminar i turbulenta en una sola equació, que és (McCabe et al., 1993):

$$\frac{-\Delta P}{L} = \frac{150(1-\alpha)^2 \mu u}{\alpha^3 d_p^2} + \frac{1,75(1-\alpha)u^2}{\alpha^3 d_p} \qquad (8.39)$$

on dp= 2R, i μ, la viscositat absoluta. El primer terme de la dreta dona la caiguda de pressió en flux laminar, que per a llits fixos és de Re < 90, i el segon terme en flux turbulent, Re >120. On Re és el nombre de Reynolds relatiu al diàmetre de la partícula (en llit fix la transició té lloc a Re = 90-120). En Biotecnologia i cromatografia fem servir la primer terme de la dreta de l´eq 8.39, ja que les velocitats son petites, de fraccions de mm/min. En tecnologia ambiental (VOCs), fluidització, filtres de sorra, i altres, farem servir els dos termes de l´equació 8.39. Per a partícules irregulars, el diámetre, dp, a utilitzar conté un factor de forma apropiat, $d_p\phi$. En les unitats del SI de l´eq 8.39 son Pa/m.

8.6 Càlcul empíric del canvi d'escala: mètode LUB

Considerem sistemes que tenen una corba d'avançament (zona de transferència de massa) de forma constant. No coneixem les dades d'equilibri d'adsorció, i solament amb la resposta empírica d'un llit de proves de planta pilot i laboratori volem calcular l'adsorbidor de planta per canvi d'escala.

Temps estequiomètric i temps de ruptura. En principi, quan volem calcular un adsorbidor, calculem el temps estequiomètric, que seria el mínim temps per a l'adsorció. Aquest es defineix suposant que la velocitat de pas del fluid per l'adsorbidor és suficientment lenta per saturar el llit, de manera que el fluid surt en equilibri amb l'adsorbent. Això implica que la velocitat de TM és infinitament ràpida, el front d'ona és pla i el temps d'adsorció és el mínim possible. Considerant 1 m^2 de secció transversal, tenim que, si C_0 i q_{sat} estan sempre en equilibri, i el temps és estequiomètric t*, es complirà:

$$uC_0t^* = L\rho_B q_{sat} \tag{8.40}$$

estant C_0 en equilibri amb q_{sat}. El temps estequiomètric t* valdrà, doncs:

$$t^* = \frac{L\rho_B q_{sat}}{uC_0} \tag{8.41}$$

i, per tant, la velocitat del front estequiomètric serà:

$$v_s = \frac{uC_0}{\rho_B q_{sat}} \tag{8.42}$$

A la Fig 8.9 es veu que quan t $= t_B$, l´ona al no ser plana dins del llit, comença a deixar anar solut a la sortida a z = L (és a dir, el solut comença fugar). El temps d´operació pràctic del llit es fixa de manera doncs que s´admet un valor màxim de fuga de solut o una valor de t_B tal que p.e. $C/C_0 = 0{,}05$. Per tant al temps t_B *hi ha una fracció de llit no utilitzat* o una longitud de llit no usat, o LUB (length of unused bed) que assumim que no aprofitem, per especificació i per economia, per què no podem perdre més solut que el que perdem a t_B. El disseny del llit per a canvi d´escala es fa tenint en compte que aquest valor de LUB es mantindrà constant en l´operació a escala més gran.

8.6.1. Càlcul de la LUB de proves a escala reduïda

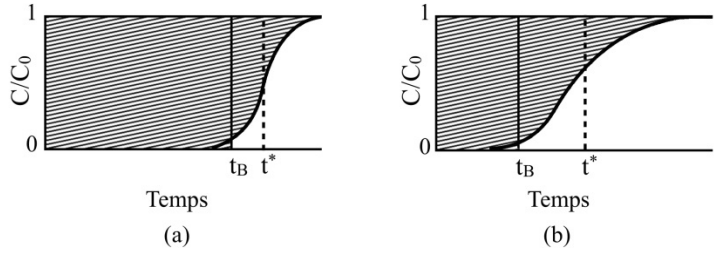


Fig. 8.11
Segons quina sigui la variància de la corba de ruptura, serà més eficaç el llit. La variància de tota la corba permet fer un canvi d'escala fiable

Vegeu la figura 8.11. La fracció de llit útil es pot calcular avaluant el quocient:

$$f_{util} = \frac{\int_0^{t_B} \left(1 - \frac{C}{C_0}\right) dt}{\int_0^{\infty} \left(1 - \frac{C}{C_0}\right) dt} \tag{8.43}$$

on el numerador és proporcional a la fracció d'alimentació adsorbida *fins* a t = t_B, i el denominador és proporcional a la quantitat *total* adsorbida fins a C/C_0 =1 (t= ∞), on les integrals es calculen de la corba de ruptura experimental. Llavors, la LUB es calcula com la fracció de llit no utilitzat, és a dir:

$$LUB = (1 - f_{util})L \tag{8.44}$$

A la figura 8.11, s'observa la relació entre t_B i t*, corresponents a L_B, i el final del llit L, respectivament. Fent servir la velocitat del front estequiomètric v_s per calcular les distàncies L i L_B, tindrem:

$$LUB = L - L_B = v_s\left(t^* - t_B\right) = L\left(\frac{t^* - t_B}{t^*}\right) \tag{8.45}$$
$$L = L_B + LUB$$

d'on:

$$t_B = t^*\left(1 - \frac{LUB}{L}\right) \tag{8.46}$$

que ens donen equacions suficients per dimensionar el llit. Per tal d'obtenir els valors de t_B i de t*, es poden utilitzar les integrals del numerador i del denominador de l'equació anterior, respectivament, a partir d'un o dos assajos en una planta pilot o en un laboratori en condicions controlades, en què mesurem C/C_0 sobre la corba de ruptura a diferents temps. En aquests assajos, en què disposem de C/C_0 *vs* t, calculem les integrals següents:

$$t_B = \int_0^{t_B} \left(1 - \frac{C}{C_0}\right) dt \tag{8.47}$$

$$t^* = \int_0^{\infty} \left(1 - \frac{C}{C_0}\right) dt \tag{8.48}$$

Aquest procediment s'anomena *disseny per canvi d'escala*, i en el model i en la instal·lació final es mantenen constants la velocitat del fluid i la grandària i porositat del adsorbent. Amb aquests dos factors, s'assegura que la constant global de transport, K_p és constant. El valor de la longitud del llit L, però, no s'imposa que sigui constant, però sí que s'imposa que la distància LUB ho sigui. A partir d'aquestes hipòtesis, se seleccionen la longitud L del llit gran i el temps d'operació o de ruptura.

Exemple 8.5. Càlcul d'un llit d'adsorció, mètode LUB.

A la taula següent, es donen les dades de ruptura, $C_{sortida}$ *vs* t, d'una columna d'adsorció de proves al laboratori (5 cm de diàmetre i 15 cm de longitud). El cabal del fluid era de 400 cm^3/h i la concentració d'alimentació del bioproducte era de $C_0 = 0,75$ U/L (U, unitats d'activitat biològica). Es vol fer una columna més llarga, de 30 cm, extrapolant les dades de la columna petita pel mètode LUB. A més, es vol saber quin serà el temps de ruptura (t_B) de la columna llarga.

Concentracions de ruptura d'una columna d'adsorció, $C_0 = 0,75$ U/L

t (h)	20,5	26,7	32,0	36
$C_{sortida}$ (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 unitats d'activitat per litre. Per $t = \infty$, $C/C_0 = 1$

Es calculen les integrals gràfiques de la funció 1-C/C0 *vs* t, equacions 8.47 i 8.48, fent servir les dades de la taula per realitzar la integral enfront de t, i s'obté $t_B = 21,4$ h i $t^* = 31,2$ h. Per tant, per a la columna de laboratori, de 15 cm, tindrem:

$$f_{util} = \frac{21,4}{31,2} = 0,685 \qquad LUB = (1-0,685)15 = 4,7cm$$

La velocitat superficial de la columna petita i la gran, i valdrà:

$$u = \frac{Q}{S} = \frac{400}{\pi 5^2/4} = 20,4\,cm/h$$

Equacions de l'adsorbent per a la columna de laboratori, L= 15 cm, t* = 31,4 h, u = 20,4 cm/h. Aplicant l'equació del temps estequiomètric, es tindrà:

$$\frac{uC_0 t^*}{L} = \rho_B q_{sat}$$

de la qual podem calcular el terme de la dreta:

$$\rho_B q_{sat} = \frac{20,4 \times 0,00075 \times 31,4}{15} = 0,0321 U/cm^3$$

Aquest valor serà també bo per a la columna gran (el mateix adsorbent).

Columna gran, L = 30 cm. Els paràmetres següents seran constants: LUB = 4,77, u = 20,4 cm/h i, per a l'adsorbent, $\rho_B\, q_{sat} = 0,0321$ U/cm^3. Calculem, doncs, t_B i t*:

$$\frac{LUB}{L} = \frac{4,77}{30} = 0,153$$

$$t^* = \frac{L\rho_B q_{sat}}{uC_0} = \frac{30 \times 32,1}{20,4 \times 0,75} = 62,4h$$

$$t_B = t^*(1 - LUB/L) = 62,9 \times (1 - 0,153) = 53,3h$$

que ens donen les condicions de treball de l'adsorbidor gran.

8.7 Moments de la resposta temporal

La corba de resposta transitòria d'un llit fix o una columna cromatogràfica en què s'introdueix una entrada en esglaó o pols permeten mesurar els moments de resposta. Aquests són el moment d'ordre zero (que, per a una adsorció reversible sense reacció, val 1), el temps de residència o moment d'ordre 1, i el moment d'ordre 2 o dispersió. Així, doncs, per a la sortida C (z,t), el moment d'ordre n val:

$$m_n = \int_0^\infty t^n C(L,t)dt \tag{8.49}$$

i el moment absolut d'ordre n val:

$$\mu_n = \frac{m_n}{m_0} = \frac{\int_0^\infty t^n C(L,t)dt}{\int_0^\infty C(L,t)dt} \tag{8.50}$$

Per a n = 0, $m_0 = 1$. Per a n = 1, ens dóna el temps de residència mitjà, μ_1. I, per a n = 2, ens dóna la dispersió del senyal de sortida. Vegeu Levenspiel (1975) per a una exposició clara del tema i per al càlcul dels moments utilitzant traçadors en sistemes no reactius.

La dispersió és el moment central de 2n ordre respecte a la mitjana:

$$\mu_2' = \frac{\int_0^\infty (t - \mu_1)^2 C(L,t)dt}{\int_0^\infty C(L,t)dt} \tag{8.51}$$

Els moments es determinen experimentalment, mesurant les concentracions a z = L, i calculant les integrals anteriors. Amb el senyal analògic o digital del detector es poden calcular directament els moments. El segon pas és relacionar els moments amb els paràmetres del model. No cal resoldre les equacions del model per a calcular els moments, vegeu Annex A. N´hi ha prou amb obtenir la transmitància de la concentració dinàmica del model, C (L, s), cosa que és relativament més fàcil. Fent una entrada en funció de impuls, a partir de les equacions de conservació del model, eq (8.20, 8.21i 8.22). I a continuació aplicant el teorema de Van der Laan per a calcular els moments. Els moments de ordre 1 i 2 anteriors, son les derivades primera i segona de C (L,s) avaluades a s = 0 (vegeu Annex A). Per les equacions del model, i següents, les contribucions als moments son el primer moment absolut (Furusawa et al., 1976):

$$\mu_1 = \frac{L}{V}(1+\delta_0)$$
$$\delta_0 = \frac{1-\alpha}{\alpha}(\beta + \rho_p K) \tag{8.52}$$

i el segon moment central, calculat a partir del moment absolut de segon ordre $\mu_2^{'} = \mu_2 - \mu_1^2$,val:

$$\mu_2^{'} = \frac{2L}{v}(\delta_{\text{int rap}} + \delta_{ad} + \delta_f + \delta_{ax}) \tag{8.53}$$

Les contribucions al primer moment i el segon moment, provenen doncs de les δ_0 i δ_1 . Ens interessa sobretot la dispersió del senyal a la sortida del llit (corba de ruptura). La Fig 8.11 indica que com més es dispersa el senyal, més gran serà la fracció de llit desaprofitat (corba de la dreta de la Fig 8.11), per tant hem de veure la contribució de cada paràmetre a la variància total del senyal, σ^2_{tot} a fi de tenir una corba el menys dispersa possible.

Les contribucions a la variancia total es calculen individualment. Les quantitats δ tenen dimensions (temps). Les contribucions a σ^2 que donem tot seguit son adimensionals (Blanch i Clark, 1997). Així tenim:

1. Difusió 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. Dispersió axial:

$$\sigma^2_{ax} = \frac{2\delta_{ax}}{L/v} = \frac{2E}{vL}(1+\delta_0)^2 \tag{8.55}$$

3. Transferència de la massa externa:

$$\sigma^2_{film} = \frac{2\delta_{film}}{L/v} = \frac{2(1-\alpha)}{\alpha}\frac{(\beta+\rho K)^2 vR}{3k_m L} \tag{8.56}$$

4. Velocitat d'adsorció:

$$\sigma^2_{ads} = \frac{2\delta_{ad}}{L/v} = \frac{2(1-\alpha)}{\alpha}\frac{(\rho K)^2}{k_a}\frac{v}{L} \tag{8.57}$$

Blanch i Clark (1997) donen aquestes equacions però en funció del nombre d´unitats de transferencia (1/N, inversos de les sigmes). La interpretació però és la mateixa. Es important notar que excepte la dispersió axial (que disminueix al augmentar la velocitat) les altres contribucions a la dispersió del senyal son directament proporcionals a la

velocitat del fluid, per tant, com més petita sigui la velocitat del fluid, tindrem corbes d´adsorció menys disperses amb més aprofitament del llit.

8.8 Canvi d'escala basat en els paràmetres del model

Els moments donen una guia molt útil per a canviar d´escala una columna d´adsorció o cromatogràfica. Ja hem vist que cal minimitzar la variància de la resposta. Hi ha tres factors operatius que afecten la dispersió. Aquests son:

- Mida de la partícula d´adsorbent
- Velocitat del fluid
- Longitud del llit
- Coef. de velocitat, k_m, k_a, E,

8.8.1 Metodologia simple de canvi d'escala

Volem resoldre el problema d´incrementar la producció sense empitjorar la dispersió. El mètode més segur de canvi d´escala consisteix en mantenir tots els factors constants: dp, L, i v, i al mateix temps, incrementar la secció del llit, per a assolir una producció més gran. El mètode de canvi d´escala més senzill consisteix agrupar en paral.lel 100, 200 o més columnes d´adsorció, en un conjunt més gran equivalent. Com que mantenim la velocitat igual, un examen de les contribucions a la dispersió, ens diu quins factors haurem de mantenir constant.

Quin inconvenient té aquest mètode? El problema serà poder fer un esglaó (o un pols) perfecte a z=0 i t=0, per un gran diàmetre de llit. L´altre problema associat a una gran secció, amb partícules petites, és una pèrdua de càrrega massa gran. Vegeu eq d´Ergun, eq 8.39, en que la -ΔP és inversament proporcional a dp^2 (terme laminar). Una gran -ΔP implica una compressió indesitjable del llit, i una deformació inadmissible de les esferes d´adsorbent contra el fons de la columna. Per tant, per a canvis d´escala molt grans adoptarem altres estratègies.

8.8.2 Metodologia més elaborada de canvi d'escala

Cal adonar-se'n que l´efecte més important de l´augment de la dispersió del senyal de sortida, no és la difusió axial del solut que a escala gran no té gran influència. Si no el retard intrapartícula, degut al temps que el solut inverteix en l´interior de les partícules si aquestes son massa grans. Per a mantenir la dispersió deguda a la difusió intrapartícula, haurem de mantenir constant la seva contribució, eq. (8.54), que és:

$$\sigma^2_{\text{int}ra} \infty \frac{R^2 v}{15 D_e (1-\alpha) L} = const \qquad (8.58)$$

Per al llit ampliat, augmentarem el diàmetre de partícula i per tant disminuirà la pèrdua de càrrega del llit (-ΔP/L). Com que d_p (i R) augmenta, a l´eq anterior veiem que haurem d´allargar el llit (augmentant L) i/o disminuir la velocitat v, del fluid, per a compensar el major temps de difusió en la partícula més gran. Ja es veu que aquesta metodologia, és una mica més difícil d´implementar que l´anterior, però que funciona. Vegeu a l´exemple següent per veure com s´aplica aquest criteri.

Cal esmentar que la resta de efectes dels diferents processos sobre σ^2_{tot} son inferiors al de la difusió interna, i doncs l'eq anterior es un criteri adequat per a la dispersió global. Tenint en compte la difusió interna s´acostuma a utilitzar mides de partícula molt petites.

Exemple 8.6. Canvi d'escala, controlant la dispersió

Al laboratori, fem una separació satisfactòria en una columna d'adsorció a escala reduïda, en les condicions següents:

– Diàmetre de la partícula adsorbent $d_p = 20$ μm

– Velocitat superficial del líquid u = 0,1 mm/s

– Altura de la columna L= 10 cm

– Diàmetre de la columna D = 1 cm

La planta de producció prevista farà una producció 10.000 vegades més gran que la de la planta pilot, i volem especificar la columna d'adsorció gran, és a dir, dimensionar la columna d'adsorció considerant dos criteris de canvi d'escala: 1) Mantenir v i el diàmetre de l'adsorbent d_p en el pas a escala gran. 2) Prenent una partícula de mida més gran, de 0,1 mm, i a velocitat constant, calcular la longitud del llit per a l'adsorbidor de producció.

1. Considerem u = u', dp = dp'. Les primes corresponen al llit gran. La igualtat de velocitats implica que la secció del llit gran haurà de complir la relació següent de seccions de les columnes:

$$\frac{u'S'}{uS} = \frac{S'}{S} = 1\times10^4$$

Els diàmetres del llit petit i gran són D i D', respectivament. Llavors:

$$\frac{\pi D'^2}{\pi D^2} = 10^4 \qquad \frac{D'}{D} = 100$$

d'on, si D = 1 cm és el diàmetre de la columna petita, el diàmetre de la columna gran ha de ser D' = 100 × 1 cm = 1 m.

2. Per a una producció 10.000 vegades més gran, necessitarem un diàmetre de llit d'1 m. Ara imposem que el diàmetre de partícula de la columna gran sigui d_p' = 0,1 mm, i també la condició de l'equació 8.58. Es tindrà:

$$\frac{(dp')u'}{L'} = \frac{(dp)u}{L}$$

on les velocitats són iguals. Substituint, tindrem:

$$\frac{(0,1)^2 u}{L'} = \frac{(0,02)^2 u}{L}$$

$$\frac{L'}{L} = \left(\frac{0,1}{0,02}\right)^2 = 5^2 = 25$$

Per tant, la longitud del llit gran serà L' = 25 × L = 25 × 10 = 250 cm = 2,5 m, i el diàmetre del llit de producció serà d'1 m.

8.9 Adsorció no lineal: isoterma de Freundlich

S'han presentat els fonaments de l'operació d'adsorció. A la primera part, s'han explicat les isotermes de Langmuir i Freundlich amb els seus aspectes energètics. A la segona part, s'ha emprat la isoterma de Henry o Langmuir lineal per al disseny de llits d'adsorció i també s'ha estudiat l'operació inversa de desorció, que s'utilitza sovint en biotecnologia per recuperar bioproductes adsorbits. En ambdós casos, s'ha utilitzat la solució analítica del model basat en la funció J(s,t), definida gràficament per Hiester-Vermeulen (Perry-Green, 1980). Això dóna un mètode de càlcul exacte de l'adsorció i la desorció fàcil d'aplicar, si es coneixen la constant d'equilibri i el coeficient global de transferència de massa.

Per al cas de llits profunds, la solució asimptòtica de Rosen dóna resultats semblants, però solament és aplicable a llits llargs, en que el parámetre de longitud ζ val = 15 o més gran, com suggereix Ruthven. Per a valors de ζ petits, la solució de Rosen es poc pràctica per la seva complexitat, i és preferible llavors utilitzar el mètode de J(s,t). Per valors grans de ζ, la solució analítica de Rosen sí que és pràctica, ja que es pot calcular fàcilment amb la funció dels errors. Per aquest cas, vegeu els exemples de Ibarz i Barbosa-Cànovas (2005). En biotecnologia els llits d´adsorció corresponen a $\zeta < 8$-10.

8.9.1 Isoterma no-lineal: Càlcul del punt de ruptura

El mètode que presentem a continuació és aplicable a Freundlich, que és la isoterma més utilitzada en tecnologia de VOC i en biotecnologia (v. taula 8.2). Considerem el cas no lineal (v. Eq. 8.14). La isoterma de Langmuir completa també és no lineal i es presta a aquest tractament, que es dóna a continuació.

La figura 8.9 representa el moviment de la ZTM des de l'entrada al llarg del llit i la figura 8.10, el solut perdut quan el temps de ruptura és t_B i la capacitat no utilitzada o desaprofitada de la columna. A z = L, el llit està exhaurit. Això té lloc en un temps t_E.

L'ona d'adsorció, C/C_0, manté una forma constant en moure's per dins del llit des de z = 0 fins a z = L (v. Fig. 8.9).

Cal remarcar que un llit serà tant més eficaç com més trigui el temps de ruptura. Això indica que hi ha menys variància de l'ona de sortida. La forma del perfil de C/C_0 *vs*. z i de la corba de ruptura depenen dels paràmetres dels moments. L'operació del llit i la rapidesa en què apareix solut a la sortida són mesures de la qualitat o de les prestacions de l'adsorbidor. Un temps t_B petit indica una gran dispersió i vol dir que l'adsorció és ineficient.

Representarem el moviment de l'ona com es fa a la figura 8.9 i la ruptura, a la figura 8.10.

8.9.2 Estimació del punt de ruptura. Disseny de l'adsorbidor

Com es pot veure, (1) si la forma de l'ona és constant i (2) si la longitud de la ZTM també és constant, es podrà calcular el punt de ruptura sempre que puguem estimar la velocitat de l'ona. Aquest últim punt és fonamental: és necessari poder calcular la velocitat de translació de la ZTM (v. Fig. 8.9), com veurem més endavant.

A la figura 8.9, hem explicat que en determinades condicions s'obté una ZTM de forma constant al llarg del llit. Això passa quan la isoterma és *favorable,* condició que es dóna amb les isotermes de Langmuir i Freundlich. Efectivament, considerem, per exemple, la isoterma de Langmuir de la figura 8.3. Veiem que compleix que a tots els punts s'obté una disminució de la variació de q quan C augmenta i, per tant, dq/dC és negatiu o constant a prop de la saturació. Així doncs, hi haurà una velocitat de la ZTM més gran en concentracions d'adsorbat més grans. Així doncs, a prop de l'entrada del llit, la ZTM tindrà una velocitat més gran, que es reduirà més endavant. La ZTM tendeix, doncs, a ser més estreta aigües avall. A mesura que avança, però, s'eixampla pels efectes dels components de la variància. Els dos efectes donen una ona amb una forma constant en conjunt (v. Fig. 8.9, a partir del temps t_2). Això es representa a la figura 8.9, en què es veu el recorregut de l'ona amb una forma constant.

El mètode simplificat de càlcul que proposem ara es basa en l'estimació de la longitud de ZTM i la velocitat de l'ona, v_s, per tal de poder predir el valor de t_B. Una hipòtesi addicional és que la corba ruptura és simètrica respecte al centre en què $C/C_0 = 0{,}5$. Aquesta és una hipòtesi de llit fix ideal, és a dir, reblert segons un apilament regular o ideal. A la figura 8.9 *infra*, es veu que el front estequiomètric passa per t* per a $C/C_0 = 0{,}5$. D'acord amb això, la velocitat de l'ona de saturació vindrà donada per l'equació 8.42, és a dir:

$$v_s = \frac{u\,C_0}{\rho_B\,\overline{q}_{sat}} \tag{8.59}$$

on u (= α v) és la velocitat superficial; v és la velocitat intersticial i q_{sat} és la càrrega d'adsorbat en equilibri, amb C_0 = conc. de C a z = 0 i z > L. α és la porositat del llit i t* és el temps estequiomètric.

La hipòtesi de la corba de ruptura simètrica permet escriure el temps de ruptura en funció de $z_a/2$, de la forma següent:

$$t_B = \frac{L - z_a/2}{v_s} \tag{8.60}$$

en què t_B és el temps estimat de ruptura; z_a és la llargada de la corba de ruptura (v. Fig. 8.12); v_s és la velocitat de translació de l'ona, donada per l'equació 8.59, i L és la longitud total del llit, amb un valor de z en què $C/C_0 = 1$ (llit exhaurit). Les equacions 8.59 i 8.60 permeten calcular el punt de ruptura, t_B, coneixent la isoterma. Vegem- ho.

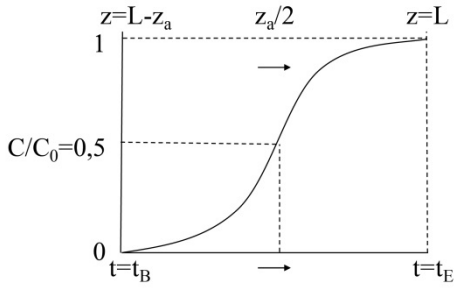


Fig 8.12
Corba de ruptura simètrica: La longitut de la ZTM val za. A la mitad del interval (L-za, L), C/C0 val 0,5

Primer calculem les relacions C-q en el llit amb la isoterma de Freundlich. La forma constant de la onda d´adsorció, implica que el seu pendent és constant, amb les condicions de contorn següents, és a dir:

$$\begin{aligned} &\frac{d\overline{q}}{dC} = \text{const.} \\ &C = 0 \quad \text{per} \quad \overline{q} = 0 \\ &C = C_0 \ \text{per} \ \overline{q} = q_{sat} \end{aligned} \tag{8.61}$$

d'on s'obté, per integració:

$$\overline{q} = \frac{q_{sat}}{C_0} C \tag{8.62}$$

Substituint aquest valor de *q* a l'equació 8.28, es pot escriure que la velocitat d'adsorció en funció de la força impulsora de concentració val:

$$\rho_B \frac{d\overline{q}}{dt} = \frac{\rho_B q_{sat}}{C_0} \frac{dC}{dt} = K_p a (C - C^*) \tag{8.63}$$

on C és la concentració a la fase fluida, C* és la concentració a la fase fluida en equilibri amb *q a la fase sòlida*, a través de la isoterma de Freundlich, i C - C* és la força impulsora *a la fase fluida* en un punt del llit. Veurem després la utilitat d'aquesta equació en l'interval entre z = L- z_a i z = L, en què z_a és la longitud de la corba de ruptura.

Càlcul de la longitud z_a(=ZTM):. Per a una corba de ruptura simètrica, fem servir l´eq (8.63) per calcular z_a. Per a una secció transversal de llit d'1 m^2 i cabal volumètric u, la quantitat adsorbida valdrà:

$$1\text{m}^2 \times dz_a = \frac{\text{kg/s adsorbits}}{\text{Flux adsorció,kg/(m}^3\text{s)}} = \frac{u\,dC}{K_p a(C - C^*)} \tag{8.64}$$

Integrant aquesta equació, s'obté z_a

$$z_a = \frac{u}{K_p a}\int_{C_B}^{C_E} \frac{dC}{(C - C^*)} \tag{8.65}$$

on C_B i C_E són les concentracions a la ruptura i a l'exhauriment, respectivament.

Si ara substituïm el valor de z_a de l'equació 8.65 a l'equació 8.60, fent servir v_s de l'equació 8.59, s'obté el temps de ruptura. L'expressió resultant per a t_B és:

$$t_B = \frac{\rho_B q_{sat}}{uC_0}\left[L - \frac{u}{2K_p a}\int_{C_B}^{C_E} \frac{dC}{(C - C^*)}\right] \tag{8.66}$$

Observeu que aquesta equació permet calcular la t_B d'un llit de longitud L, coneguda la isoterma que relaciona C amb C*, que en el cas general és no lineal, i el coeficient de transport de massa, K_p. A vegades, es pot obtenir la integral analítica de l'equació 8.64 i fer-la servir a l'equació 8.65. Tanmateix, el més fàcil és expressar la força impulsora a partir de la isoterma i avaluar la integral numèricament. L'exemple següent, degut a Katoh, il·lustra el procediment que cal seguir per al cas d'una isoterma de Freundlich. L'equació 8.66 és també l'equació de disseny del llit, és a dir, quan interessa calcular L, fixat el temps d'operació del llit, i els paràmetres adients.

Exemple 8.7. Càlcul d'un adsorbidor: predicció del temps de ruptura amb la isoterma de Freundlich

Es fa servir una columna de 25 cm de longitud amb un rebliment de partícules de carbó vegetal porós com a adsorbent (suposem esferes de 0,6 mm de diàmetre). El corrent d'entrada a l'adsorbidor es fa a una velocitat intersticial d'1,6 m/h; la porositat de llit = 0,5. La concentració del solut en el corrent d'entrada és de C_0 = 1,1 mol/m^3. De les proves de laboratori, es coneix la isoterma del solut sobre carbó a la temperatura de treball, que és:

$$\rho_B \overline{q} = 1.270C^{0,11}$$

on ρ_B = 386 kg/m^3, q s'expressa en mols de solut/kg de carbó i C, en mols/m^3. El solvent és aquós. Suposem un coeficient de transferència de massa volumètric, $K_p a$ = 9,2 h^{-1}, que es compleix la hipòtesi del perfil constant de l'ona d'adsorció i que la corba de ruptura és simètrica.

Calculeu per a aquest llit el temps de ruptura en operació normal. Durant l'operació, les concentracions a l'entrada de la columna son 1,1 mol/m^3 i la sortida, 0,11 mol/m^3.

Tenim les dades següents:

L = 0,25 m; mida del carbó d_p= 0,66 mm; C_0 = 1,1 mol/m^3; α = 0,5; K_pa = 9,2 h^{-1}

Velocitat superficial u = α v = 0,5 × 1,6 = 0,8 m/h

Plantegem la integral de l'equació 8.65; per a cada valor de C, necessitem poder calcular C* amb la isoterma. Aquesta relaciona punts en equilibri, C*-q:

$$\rho_B \overline{q} = 1.270(C^*)^{0,11}$$

Per a dos punts diferents de la isoterma, dividint membre a membre:

$$\frac{\overline{q}}{q_{sat}} = \left(\frac{C^*}{C_0}\right)^{0,11}$$

Així doncs, la relació entre C i C* es pot calcular a partir de C* següent:

$$\left(\frac{C}{C_0}\right)^{1/0,11} = \frac{C^*}{C_0} \quad \text{d'on} \quad C^* = C_0\left(\frac{C}{C_0}\right)^{9,1}$$

Aquest valor de C* permet calcular la força impulsora, C-C*, de la integral de l'equació 8.65. Donant valor a C_0 = 1,1, la integral que s'ha de resoldre és la següent:

$$Int = \int_{0,1C_0}^{0,9C_0} \frac{dC}{C - C_0(C/C_0)^{9,1}} = \int_{0,11}^{0,99} \frac{dC}{C - 0,462\,C^{9,1}}$$

Integrant numèricament (per trapezoides) amb 10 valors de C entre 0,11 i 0,99, s'obté que la integral val = 2,33 (adimensional).

Calculem ara t_B amb l'equació 8.66:

$$t_B = \frac{1.270 \times 1,1^{0,11}}{0,8 \times 1,1}\left[0,25 - \frac{0,8 \times 2,33}{2 \times 9,2}\right] = 216\,\text{h}$$

Per tant, el temps de ruptura és bastant gran, 216 h, si tenim en compte la poca profunditat del llit, L = 25 cm.

8.10 Avaluació dels paràmetres i consideracions finals

Sovint hem de triar un model de càlcul simple o fer-ne servir un de més elaborat. Aquí hem fet servir la hipòtesi que la constant global de velocitat d'adsorció és una combinació de resistència externa i interna; per tant, permetria tenir en compte part de la difusió a la capa límit i una resistència intrapartícula moderada, fins a un mòdul de Thiele no superior a 2 (Tomida i McCoy, 1985), la qual cosa permet fer-ne un càlcul gràfic, exacte i senzill

(v. Eq. 8.24 i 8.25), basat en la funció J(s,t), o més elaborat (isoterma no lineal), com a l'exemple 8.7.

Per avaluar k_m (i, llavors, K_p), es recomana la correlació més moderna per a llits fixos, la de Wakao-Furazkri (v. Fig. 8.12), que abasta des de Re = 1 fins a Re = 1.000. La correlació és:

$$Sh = \frac{k_m d_p}{D_{12}} 2 + 1{,}1\,\mathrm{Re}^{0{,}6}\, Sc^{1/3} \tag{8.67}$$

Pel que fa a la resistència intrapartícula, haurem d'avaluar la difusivitat intrapartícula, D_e, a partir de la difusivitat binària, D_{12}, fent:

$$D_e = \frac{D_{12}\beta}{4} \tag{8.68}$$

on β és la porositat interna de la partícula, i el factor 4 és un factor empíric mitjà, basat en la catàlisi heterogènia.

Els casos de les isotermes no lineals de Freundlich o Langmuir es poden tractar també amb la metodologia de la funció J(s,t), com han demostrat diversos autors, fent servir les funcions adimensionals ζ i τ, però definides per a cada cas. En moltes referències, aquest càlcul s'aplica a la biotecnologia per a anticossos monoclonals, a la cromatografia de separació de sucres, etc., i permet utilitzar la figura 8.8 en sistemes no lineals. El mètode que s'explica a l'apartat 9.1 i s'il·lustra a l'exemple 8.7 és aplicable sempre que coneguem k_m i es compleixi la hipòtesi del patró d'adsorció constant.

En aquest capítol, s'ha estudiat la metodologia del canvi d'escala dels absorbidors basat en la LUB, i en els valors dels moments de la resposta temporal. S'han presentat uns quants problemes del canvi d'escala basat en problemes que es presenten en adsorció i cromatografia aplicades a la biotecnologia.

8.11 Consideracions finals

S'han presentat els fonaments de l'operació unitària de l'adsorció. A la primera part, s'han explicat les isotermes de Langmuir i Freundlich amb detall, juntament amb els seus aspectes energètics. A la segona part, s'ha emprat la isoterma de Langmuir lineal per al disseny de llits d'adsorció, i també s'ha estudiat l'operació inversa de desorció, que s'utilitza sovint en biotecnologia per a la recuperació de bioproductes adsorbits. En ambdós casos, s'ha utilitzat la solució analítica del model basat en la funció J(s,t) definida gràficament per Vermeulen (Perry-Green, 1980). Això dóna un mètode precís de càlcul de l'adsorció i la desorció, si es coneixen la constant d'equilibri i el coeficient global de transferència de massa.

Sovint hem de triar entre un model de càlcul simple, o bé fer servir un model més elaborat. Aquí hem fet servir la hipòtesi que la constant global de velocitat d'adsorció és una combinació de resistència externa i interna; per tant, permetria tenir en compte part de la difusió a la capa límit i una resistència intrapartícula moderada, fins a un mòdul de Thiele no superior a 2 (Tomida i McCoy, 1985), la qual cosa permet un càlcul exacte (v.

equacions 8.24 i 8.25). Per avaluar km, es recomana la correlació més moderna per a llits fixos, de Wakao-Furazkri (v. figura 8.12), que abasta des de Re = 1 fins a Re = 1.000. La correlació és:

$$Sh = \frac{k_m d_p}{D_{12}} = 2 + 1{,}1\,\mathrm{Re}^{0{,}6}\, Sc^{1/3} \qquad (8.69)$$

Pel que fa a la resistència intrapartícula, hem d'avaluar la difusivitat intrapartícula, D_e, a partir de la difusivitat binaria, D_{12}, accessible a la literatura, fent:

$$D_e = \frac{D_{12}\beta}{4} \qquad (8.70)$$

on 4 és un factor empíric mitjà, inspirat en la catàlisi heterogènia.

Els casos de les isotermes no lineals de Freundlich i de Langmuir es poden tractar també amb la metodologia de la funció J(s,t), com han mostrat diversos autors, fent servir les funcions adimensionals ζ i τ, però definides per cada cas. Aquest càlcul es troba, en moltes referències, aplicat a la biotecnologia per a anticossos monoclonals, cromatografia de separació de sucres, etc., i permet utilitzar la figura 8.8 en sistemes no lineals.

En aquest capítol, s'ha estudiat la metodologia de canvi d'escala d'adsorbidors basada en la LUB i en els valors dels moments de la resposta temporal. S'han presentat uns quants problemes de canvi d'escala, basats en problemes que es presenten en l'adsorció i la cromatografia aplicades a la biotecnologia.

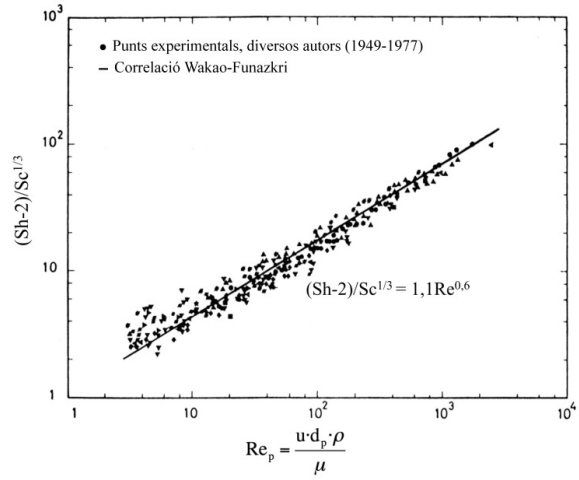


Fig. 8.13
Correlació de Wakao-Funazkri per transferència de massa en llits fixos amb líquids o gasos (v. correlació al text)

8.12 Notació

a	area específica, m^{-1}
Bi	nombre de Biot de massa, = $k_m R/D_e$
C	concentració molar, mol/m^3
Ci	conc molar al fluid dels porus, mol/m^3
D_{12}	difusivitat molecular, m^2/s
D_e	difusivitat efectiva, m^2/s
d_p	diàmetre esfera, m
F	volum disolució, m^3
f_{util}	fracció de llit útil
h	entalpia molar, J/mol
h(t)	esglaó unitari a t=0
Δh	valor entalpia adsorció, J/mol
I_0	funció de Bessel modificada, de classe 1 i ordre 0
J(s,t)	funció J, de dos arguments genèrics, eq 8.35
K	const. equilibri
k'	= $K_p a/\alpha$
k	= $K_p a/(1-\alpha)(\rho_p+\beta/K)$
k_a	Const cinètica d´adsorció,
K_c	k_a/k_d, const equilibri d´adsorció, m^3/kg, K´= $K_c q_m$
k_m	coef. transferència de massa,m/s
K_p	coef. TM global, def. eq 8.24, m/s
L	longitud adsorbidor, m
LUB	longitut de llit no utilitzat, m
m_n	moment d´ordre n, eq 8.49
P	pressió, Pa
q	conc. d´adsorbat sobre sòlid, q_m, id valor màxim, mol/kg
q_{sat}	valor d´equilibri amb C_0, mol/kg
R	radi esfera, m
r	coordenada radial a l´esfera, m
r_a	velocitat d´adsorció, mol/m^3s, r_d, de desorció
Re	nombre de Reynolds, uρdp/μ
Sc	nombre de Schmidt, ρ/μD
Sh	nombre de Sherwood, eq 8.59
t	temps, s
t*	temps estequiomètric,s
t_B	temps de ruptura, s
u	velocitat superficial, m/s
v	velocitat intersticial, m/s
v_s	velocitat del front estequiomètric, m/s
W	massa d´adsorbent sòlid, kg
X	C/C_0 durant l'adsorció
X´	1-X, durant la desorció
Y	q/q_0 durant l'adsorció
Y´	1-Y, durant la desorció
z	posició, m

α	porositat del llit
β	porositat de la partícula
δ	contribucions a dispersió total, s^2, eq 8.53 a 8.57
μ_0	moment absolut d´ordre 0 = 1
μ_1	moment absolut d´ordre 1, s, eq 8.50
μ_2	moment absolut d´ordre 2, s^2 eq 8.51, μ'_2= id id centrat
ρ_p	densitat de la partícula,kg/m^3
$\Delta\sigma^2$	variància del senyal, s^2, eq 8.53
τ	temps adimensional, eq 8.36
θ	cobertura adsorbent= q/q_m
ζ	longitut de llit adimensional, eq 8.36

Cromatografia

En aquest capítol, s'estudia la cromatografia en general i la cromatografia líquida d'elució aplicada a la biotecnologia, com a procés de separació i purificació a escala de producció. D'una banda, es pressuposa que l'estudiant coneix la cromatografia de gasos en matèries pràctiques com l'anàlisi instrumental, i d'altra, es dóna per descomptat que els enginyers químics coneixen la teoria del flux no ideal, com també la dinàmica i el control de processos.

Des d'un punt de vista general, la figura 9.1 proporciona un esquema dels usos de la cromatografia general avui. En biotecnologia, interessen els processos de separació. Cal observar que el grau de purificació després de la separació cromatogràfica, la ultrafiltració o l'electroforesi pot ser de prop del 98 %. Tanmateix, en algunes aplicacions farmacològiques, aquesta puresa és insuficient i són necessàries operacions posteriors per tal d'assolir una concentració d'impuresa de parts per milió –i, a vegades, de parts per bilió.

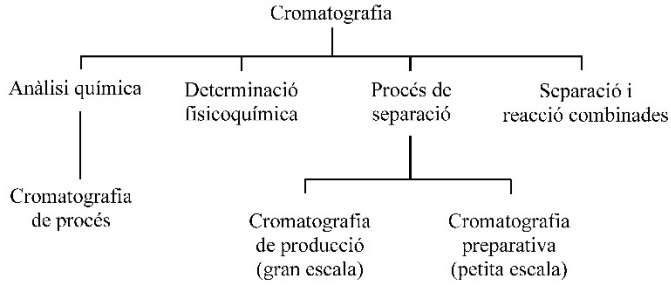


Fig. 9.1
Usos de la cromatografia avui dia. En biotecnologia, interessa la cromatografia com a procés de separació i adaptació per a la producció

Amb el desenvolupament de les tècniques d'ADN recombinant per a la fabricació comercial de proteïnes, la cromatografia ha agafat un nou impuls. En un mateix procés de producció, s'empren avui diverses purificacions cromatogràfiques per tal d'assolir diferents objectius en un mateix procés. El conjunt de tècniques de cromatografia líquida que es fan servir en biotecnologia es resumeixen a la taula 9.1, en què se'n donen les característiques principals. A la figura 9.2, es veu l'aplicació de la cromatografia en un procés complex de separació de l'interferó recombinant. En el procés, s'utilitza una

combinació de diferents columnes de cromatografia: de bescanvi iònic, d'afinitat, de fase inversa, la permeació sobre gel i d'altres tècniques de migració, com la ultrafiltració i la diàlisi, l'electroforesi, etc., com es veu a la figura 9.2. L'escala de producció pot ser gran -per exemple, una planta d'insulina biològica humana fa uns 2.000 kg/a i pot tenir fins a 12 columnes de 50 cm de diàmetre dels diversos tipus de cromatografia.

Taula 9.1
Mètodes cromatogràfics de biosepara-ció a gran escala

Tipus de croma-tografia	**Mecanisme de re-tenció**	**Resolució/ velocitat/capacitat**	**Aplicació típica**
Bescanvi iònic	Reacció iònica	Alta/alta/alta	Proteïnes, virus
Interacció hi-drofòb.	Adsorció L-S	Bona/bona/alta	Polipèptids
Afinitat	Bioafinitat	Excel·lent/ alta/alta	Antigen-anticòs
Fase invertida	Repartiment L-L	Excel·lent/ alta/alta	ADN, plasmidis
Exclusió per mida	Permeació sobre gel	Modesta/bona/alta	Proteïna, plasmidis, ADN

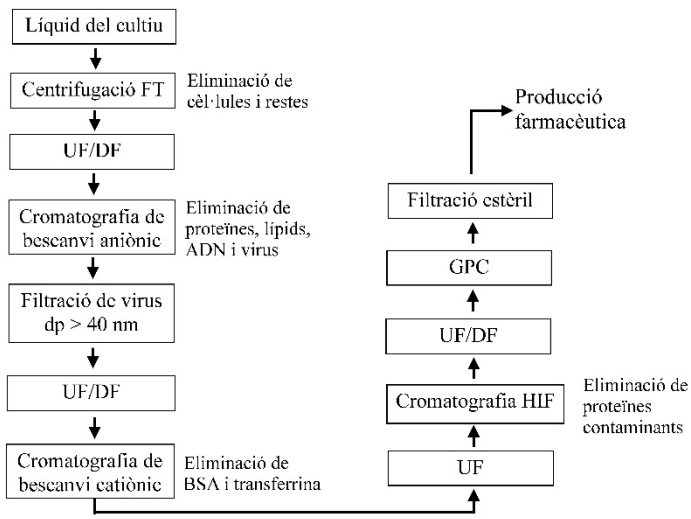


Fig. 9.2
Operacions de separació en la producció d'un interferó recombinant a partir del brou de fermentació filtrat. UF/DF = ultrafiltració/diafiltració; Centrif./FFT = centrifugació/filtració tangencial contínua; GPC= cromatografia de permeació sobre gel; HIC = cromatografia d'adsorció hidrofòbica

Així com l'adsorció se centrava en un adsorbat (v. capítol 8), la cromatografia com a procés de separació es basa en l'adsorció-desorció de dos soluts o més en una o diverses columnes i, per tant, en principi, és tracta d'una separació multicomponent. La teoria dels moments de la resposta temporal d'un adsorbidor (v. capítol 8) s'aplicarà aquí a la cromatografia (v. resum de la teoria dels moments al final d'aquest capítol). Per als enginyers químics (Wankat, 1999), la cromatografia és un procés de separació no estacionari, que es basa en la diferència de velocitat de transferència de massa dels components, i no es pot analitzar amb el concepte d'etapa d'equilibri (si bé es fa servir el concepte d'equilibri local). La columna es pot descriure hidràulicament com un nombre determinat de recipients en sèrie que contenen adsorbent, o bé com un tub

reblert de partícules d'adsorbent, que són travessats per un flux no estacionari de components sotmesos a adsorció-desorció. En principi, se segueix la teoria de la distribució del temps de residència, ampliada amb la transferència de massa externa i interna, i l'adsorció.

En aquest capítol, s'estudien primer els fonaments de la cromatografia lineal, les bases físiques de la cromatografia d'elució, la teoria de la retenció i l'eficiència de la separació. I, després, els tipus de cromatografia de la biotecnologia de producció.

9.1 Fonaments de la cromatografia d'elució

El tipus més corrent de cromatografia és el d'elució en una columna de rebliment, en què l'alimentació és un pols sobtat de mostra que s'ha de separar en els seus components. Aquest tipus es mostra esquemàticament a la figura 9.3. Consta d'un injector on s'introdueix un pols de Dirac d'una dissolució de dos compostos A, B i C, que es volen separar al llarg de la columna. Aquest està reblert d'un sòlid porós, que adsorbeix selectivament un component preferentment. Després, es continua eluint la fase mòbil al llarg del tub. La banda de soluts es continua separant, com es mostra a la figura 9.3. El corrent de sortida del tub es vigila contínuament amb un detector capaç de quantificar i registrar els perfils de la sortida. La velocitat de cada banda depèn de les característiques d'adsorció de cada component en el rebliment sòlid. A la figura 9.3, el solut B va més ràpid que el solut A. Això vol dir que té menys afinitat pel sòlid i més afinitat per la fase mòbil. Així doncs, per separar fem ús de la migració diferencial, que és un procés que es basa en la velocitat diferencial dels components. Per raó d'aquestes característiques d'interacció entre el fluid i el sòlid, la cromatografia s'empra també per determinar coeficients de distribució ELL (en cromatografia, líquid-líquid), coeficients d'activitat ELV (en cromatografia, gas-líquid) i per a l'anàlisi química. Les àrees sota la corba de resposta de cada component són proporcionals a la quantitat de substància que elueix i depenen del tipus de detector que s'empra, pel que fa al seu valor instrumental. El moment d'ordre zero de la resposta val la unitat, perquè tractem amb adsorció reversible i sense reacció química.

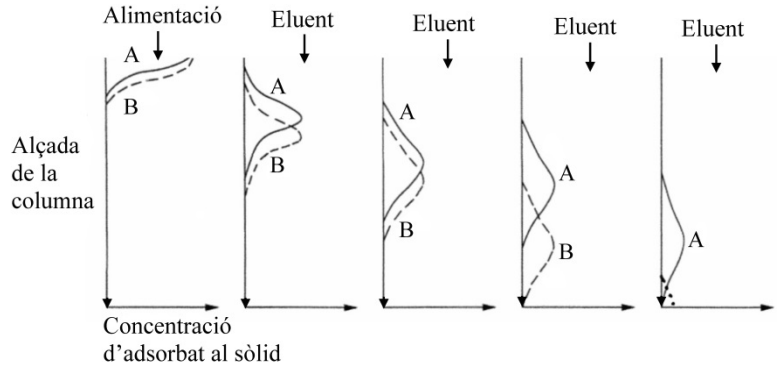


Fig. 9.3
Moviment de dos components, A i B, en una columna de cromatografia. Vegeu la injecció de la mostra (a l'alimentació, A i B estan junts); la separació progressiva d'A i B, i l'eixamplament dels pics, gràcies a l'acció de l'eluent. Al final de la columna, el component A està contaminat amb B.

La cromatografia de producció comercial es pot obtenir repetint operacions per càrregues, com l'anterior, fent successives injeccions, una darrera l'altra, a la mateixa co-

lumna. El cicle d'injecció es temporitza de manera que, a la sortida de l'últim pic d'una operació a la sortida de la columna, es procedeix a la injecció següent, com es mostra a la figura 9.3. Així doncs, hi ha dos o tres pics en resolució corrent per la columna durant el procés de separació.

9.1.1 Velocitat del front d'ona d'un component

El balanç de component en la fase mòbil de la figura 9.3 ve donat per l'equació 8.20 del capítol anterior (Adsorció), que ara escrivim per al component j:

$$E\frac{\partial^2 C_j}{\partial z^2} - u\frac{\partial C_j}{\partial z} = \varepsilon\frac{\partial C_j}{\partial t} + (1-\varepsilon)\rho_p\frac{\partial \overline{q_j}}{\partial t} \qquad (9.1)$$

on s'ha substituït el terme de transferència de massa, $K_p a$, per la velocitat d'adsorció, fent ús de les equacions 8.21 i 8.23, i del concepte de força impulsora lineal. A l'equació 9.1, u és la velocitat superficial del fluid. La velocitat intersticial (o lineal) del fluid serà u/ε.

Volem calcular la velocitat d'un pic quan recorre la columna a cabal constant del portador. Fem les simplificacions següents:

1) Dispersió axial negligible, E = 0

2) Equilibri local d'adsorció, segons Langmuir, q* = f (C)

Llavors, l'equació 9.1 es transforma en:

$$u\frac{\partial C_j}{\partial z} + \varepsilon\frac{\partial C_j}{\partial t} + (1-\varepsilon)\rho_p\frac{\partial \overline{q_j}}{\partial t} = 0 \qquad (9.2)$$

A fi de considerar sols la fase fluida, fem servir la relació següent:

$$\left(\frac{\partial \overline{q}}{\partial t}\right)_z = \left(\frac{\partial q^*}{\partial t}\right)_z = \left(\frac{\partial q^*}{\partial C}\right)\left(\frac{\partial C}{\partial t}\right)_z \qquad (9.3)$$

on la derivada dq*/dC depèn de la isoterma d'adsorció. Substituint aquesta expressió a l'equació 9.2 i traient factor comú a dC/dt, s'obté una equació diferencial en termes de $C_j(z,t)$, per al component j:

$$\frac{\partial C_j}{\partial t} + \frac{u}{\varepsilon + (1-\varepsilon)\left(dq^*/dC\right)\rho_p}\frac{\partial C_j}{\partial z} = 0 \qquad (9.4)$$

que és una equació d'ona cinemàtica de primer ordre. Si considerem una entrada en pols, el front del component j es mou a la velocitat u_j, o velocitat de l'ona de xoc, que val:

$$u_j = \frac{u}{\varepsilon + (1-\varepsilon)q'(C)\rho_p} \qquad (9.5)$$

Aquesta velocitat és constant si la temperatura és constant. El moviment és, doncs, uniforme. L'ona del component j es mou més lentament que el fluid. Per a una isoterma lineal, (dq*/dC) $\rho_p = K_a$, l'expressió de la velocitat *efectiva* del front de j és:

$$u_j = \frac{u}{\varepsilon + (1-\varepsilon) K_a} \tag{9.6}$$

i, per tant, el temps que el component j triga a recórrer la longitud L serà:

$$\overline{t_{Rj}} = \frac{L}{u}\left[\varepsilon + (1-\varepsilon) K_a\right] = \frac{L}{v}[1 + \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} K_a] \tag{9.7}$$

que s'anomena *temps de retenció del component j* (equació 9.7). Aquest temps es pot obtenir a partir del moment de primer ordre (v. capítol anterior).

A una temperatura donada de la columna, el temps de retenció reflecteix la identitat d'un component, ja que el temps de retenció conté informació solament de K_a. A partir del raonament i de les expressions anteriors, es pot calcular la longitud de columna per separar dos soluts a partir de les seves constants d'adsorció o, inversament, les constants d'adsorció es poden estimar a partir del temps de retenció de cadascun d'ells. No sabem, però, si les constants dels components han de ser molt diferents o poc, per tal que se separin els pics. L'exemple següent ho aclareix.

Exemple 9.1 Separació de dos pics cromatogràfics.

De dos components 1 i 2, en coneixem del laboratori els coeficients de repartiment adimensionals, que valen $K_1\rho_p = 7{,}5$, i $K_2\,\rho_p = 7{,}8$. La columna de producció treballa amb una alimentació líquida tal que la velocitat superficial del de l'eluient és de 23 cm/h (un valor habitual),, i té un diàmetre de 63 cm, i una fracció buida és de $\varepsilon = 0{,}33$. Volem separar els dos components almenys 8 min l''un respecte de l''altre a la sortida. Calcular Calculeu-ne la longitud mínima de columna.

Per calcular les velocitats dels fronts dels dos soluts, fem servir l'equació 9.6, amb u = 23 cm/h = 0,385 cm/min. Les K_a són molt properes: $K_{a1} = 7{,}5$ i $K_{a2} = 7{,}8$, i les velocitats dels fronts d'1 i 2 són:

$$u_1 = \frac{u}{\varepsilon + (1-\varepsilon) K_{a_1}} = \frac{0{,}385}{0{,}33 + 0{,}67 \times 7{,}5} = 0{,}0718\,\text{cm/min}$$

I, anàlogament, s'obté u_2=0,0692 cm/min. Imposem ara que la diferència de temps de retenció sigui 8 min, si L és la longitud mínima de la columna:

$$t_{R_2} - t_{R_1} = \frac{L}{0{,}0692} - \frac{L}{0{,}0718} = L\left(\frac{1}{0{,}0692} - \frac{1}{0{,}0718}\right) = 8\,\text{min}$$

d'on s'obté L = 17,9 cm. Com es veu, per a K_a semblants es pot tenir una separació acceptable amb una columna relativament curta.

9.2 Anàlisi d'una columna com una sèrie de N adsorbidors

A continuació, suposem que tenim un conjunt de plats que contenen adsorbent en què el portador i l'adsorbent estan en equilibri respecte del component. La notació correspon a la figura 9.4 per a un recipient. Seguim el mètode de Villermaux (1983), que es basa en les transmitàncies dels blocs i les fórmules de Van der Laan, per tal d'obtenir-ne els moments (v. annex al final del capítol). Considerem una entrada en pols ideal en el plat inicial de la columna.

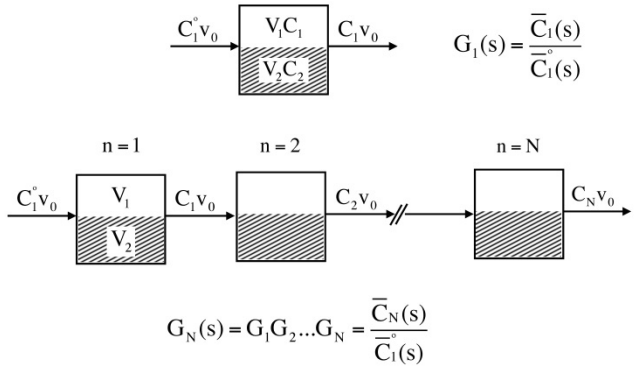


Fig. 9.4
Part superior: Un recipient que conté adsorbent travessat per un corrent de fluid. C1 i C2 són les concentracions del solut en la fase mòbil i en la fase fixa, respectivament, de volums V1 i V2. G(s) és la transmitància del bloc 1. Part inferior: N blocs en sèrie, amb transmitància $G_N(s)$

El balanç del component per al plat 1 és el següent (v. figura 9.4):

$$v_0 C_1^0 = v_0 C_1 + V_1 \frac{dC_1}{dt} + V_2 \frac{dC_2}{dt} \tag{9.10}$$

Es defineixen els paràmetres següents. El factor de capacitat k' es defineix com:

$$k' = \frac{K_a V_2}{V_1} = \frac{K_a (1-\varepsilon)}{\varepsilon} \tag{9.11}$$

K_a és el coeficient de repartiment (suposant equilibri instantani):

$$C_2 = K_a C_1 \tag{9.12}$$

i el temps de retenció i el temps mitjà de residència al volum total, respectivament, es defineixen com:

$$t_R = \bar{t}(1+k') \tag{9.13, 9.14}$$

$$\bar{t} = \frac{NV_1}{v_0}$$

Transformant al domini de Laplace l'equació 9.10, s'obté la transmitància del primer plat, en funció del nombre total de plats, que val:

$$G_1(s) = \frac{\overline{C_1}}{\overline{C_0}} = \frac{1}{1 + st_R/N} \tag{9.15}$$

Per a N plats en sèrie:

$$G_N(s) = \frac{\overline{C_1}}{\overline{C_0}} = \frac{1}{(1 + st_R/N)^N} \tag{9.16}$$

el límit de la qual per a N = molts plats esdevé:

$$\lim_{N\to\infty} G_N(s) = e^{-st_R} \tag{9.17}$$

que és un retard pur amb un temps de retard t_R. La inversió de $G_N(s)$ és immediata amb taules i dóna:

$$E(t) = \frac{N^N}{t_R}\frac{(t/t_R)^{N-1}}{(N-1)!}\exp\left(-Nt/t_R\right) \tag{9.18}$$

que coincideix amb la distribució de temps de residència de N mescladors perfectes en sèrie amb un temps de residència total t_R i que és una llei de Poisson. Quan N és no sencer, es fa (N-1)! = Γ(N). Si N és molt gran, la llei exponencial de l'equació 9.18 és una llei normal (Levenspiel, 1999) (v. figura 9.5). Aplicant les fórmules de Van der Laan (v. Annex 1), s'obtenen els moments. Així, per a una columna de N plats d'equilibri en sèrie, es té:

$$\mu_1 = t_R \tag{9.19}$$

$$\sigma_t^2 = \frac{t_R^2}{N} \tag{9.20}$$

on t_R és el temps de residència (s) i σ_t^2 és la variància (s^2), i són similars al resultat del model de recipients en sèrie.

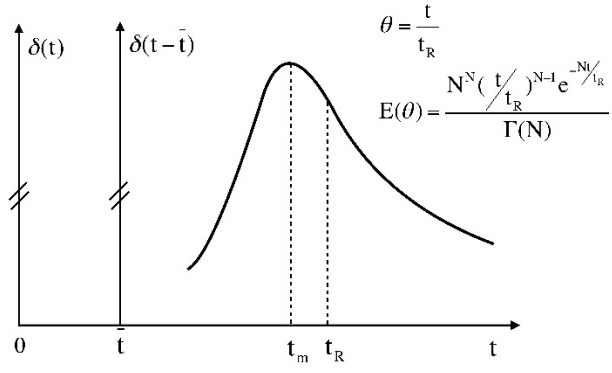


Fig. 9.5
Resposta de N adsorbidors en sèrie, a una entrada en pols δ (t). δ (t-t̄) és la resposta del solvent. E(t) equival a la funció de DTR de N recipients en sèrie, temps de residència t_R. E(t) s'obté invertint G_N (s) amb taules. Per a N ~200 o més, E(t) és una llei normal, si no és una llei gamma. Vegeu Levenspiel (1978)

9.2.1 Conseqüències

1) Quan N és gran, l'E(t) anterior tendeix a ser una llei normal. Llavors, l'amplada del pic a la base és, aproximadament, igual a $4\sigma_t$, és a dir:

$$\boldsymbol{w = 4\sigma_t = 4\frac{t_R}{\sqrt{N}}} \tag{9.21}$$

Per tant, per a una columna de 1.000 plats, la desviació tipus valdrà:

$$\sigma_t = \frac{t_R}{\sqrt{1000}} \approx \frac{t_R}{32}$$

Així, per a un pic que surti a t_R = 6 min, l'amplada a mitja alçada serà $2\sigma_t$ = 2×6/32=0,37 min, i la base del pic serà, aproximadament, $4\sigma_t$ = 0,74 min.

2) El temps al qual es produeix el valor màxim de la resposta és:

$$t_m = t_R\left(1-\frac{1}{N}\right) \neq t_R \tag{9.22}$$

i, per tant, per a N gran, t_m i t_R són iguals.

3) Les dimensions de la columna *vs*. el nombre de plats. Si augmentem la llargada d'una columna afegint-hi plats en sèrie, com que el temps del solvent és proporcional al nombre total de plats, és interessant veure que la separació entre dos pics varia amb N (v. exemple 9.1), però les amplades dels pics varien amb $\sqrt{N}$. Per tant, la separació millora.

4) El model de cromatografia lineal basat en recipients en sèrie, si bé pot tenir en compte la dispersió axial (a través de N), no té en compte la transferència de massa fluid-partícula. Això és important, ja que el nombre de Reynolds del fluid a la columna és molt petit i, per tant, la resistència externa pot ser notable. El model següent incorpora aquesta resistència.

9.2.2 Efecte de la transferència de massa

A l'apartat anterior, el fluid entrava en equilibri d'adsorció infinitament ràpid. A la realitat, hi ha resistència fluid-sòlid a l'exterior de les partícules de rebliment, de manera que la velocitat és finita (v. figura 9.5). L'equació 9.10 s'ha d'escriure ara com:

$$v_0\left(C_1^0 - C_1\right) = V_1\frac{dC_1}{dt} + k_p a\left(C_1 - \frac{C_2}{K_a}\right) \tag{9.23}$$

on el segon terme de la dreta representa una velocitat finita. En aquestes condicions, es defineix el temps característic de la transferència de massa externa, t_m, com:

$$t_m = \frac{K_a V_2}{k_p a} \tag{9.24}$$

El model de l'equació anterior té dos paràmetres: un d'equilibri, K_a i un de velocitat, k_p. Els altres paràmetres són k'i $\underline{t}$, i t_R, definits anteriorment (v. equacions 9.11, 9.13 i 9.14).La transmitància dels N recipients en sèrie de la columna es demostra que és, en aquest cas:

$$G_i(s) = \frac{\overline{C_i}}{C_i^0} = 1 + \frac{s\bar{t}}{N}\left(1 + \frac{K'}{1+st_m}\right) \tag{9.25}$$

que té aspecte senzill però no admet inversió per taules. Solament se'n poden calcular els moments. Aquests són:

$$\mu_1 = t_R = \bar{t}(1+k') \qquad (9.26, 9.27)$$

$$\sigma_t^2 = \frac{1}{N} + \frac{2K't_m}{(1+K')t_R}$$

9.3. Anàlisi d'una columna contínua

Ens referim ara a la figura 9.6, en què la columna és considerada un espai lliure per on passa el fluid en contacte amb un rebliment d'adsorbent sòlid. Les condicions radials de la columna són uniformes. Per tant, les variables són ara la longitud z i el temps t. Les equacions de conservació del solut per al cas més general en què hi ha dispersió axial al fluid i velocitat de TM finita, amb la fase adsorbent en estat transitori, seran, per a la fase mòbil:

$$\varepsilon u\frac{\partial C_1}{\partial z} + \varepsilon\frac{\partial C_1}{\partial t} + k_p a\left(C_1 - \frac{C_2}{K}\right) = \varepsilon E\frac{\partial^2 C_1}{\partial z^2} \qquad (9.28)$$

I, per a la fase estacionària:

$$(1-\varepsilon)\frac{\partial C_2}{\partial t} - k_p a\left(C_1 - \frac{C_2}{K}\right) = 0 \qquad (9.29)$$

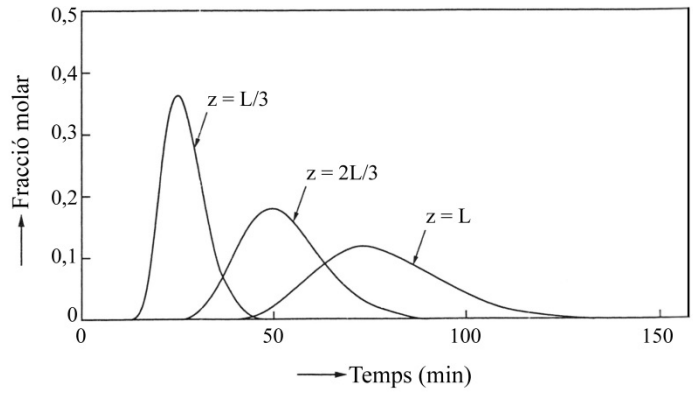


Fig. 9.6
Càlcul de la progressió d'un component al llarg d'una columna (en temps) a tres llocs de la columna (a 1/3 de l'entrada, a 2/3 de L i al detector L). Observeu l'eixamplament dels pics. Per a dispersió simple, vegeu Levenspiel (1978)

Evidentment, en introduir més processos elementals en el model, més paràmetres apareixen i més complexa és la transmitància G(s), i més difícil és obtenir els moments (Villermaux, 1983). S'haurien de poder avaluar moments d'ordre superior a 2, a fi de poder tenir més equacions per avaluar més paràmetres. A les equacions 9.28 i 9.29, hi ha tres paràmetres (K, k_f i E). En principi, es necessitarien tres moments per determinar-los, però el moment zero és 1, i els altres dos no són suficients. A més, hi ha dos problemes. El primer és que els moments d'ordre superior a 2 contenen més error, per

l'efecte de les cues dels pics, que s'amplia amb les potències t^2 t^3 t^4, que es fan més grans a temps llargs. I el segon, que la informació sobre els paràmetres continguda en els moments és redundant i, per tant, no aporta més dades, sinó més error.

Villermaux (1983) ha obtingut els moments per a la columna d'aquest cas (v. equacions 9.28 i 9.29), que són, el primer moment:

$$\mu_1 = t_R = \bar{t}\left(1+\frac{1-\varepsilon}{\varepsilon}K\right) \tag{9.30}$$

i el segon moment central adimensional:

$$\sigma^2 = \frac{\sigma_t^2}{t_R^2} = \frac{2}{Pe} + \frac{2K'}{1+K'} \times \frac{t_m}{t_R} \tag{9.31}$$

on el segon terme de la dreta està relacionat amb el coeficient de transferència de massa, i el nombre de Péclet, amb el coeficient de dispersió axial, i són, respectivament:

$$t_m = \frac{K_a(1-\varepsilon)}{k_p a}$$
$$Pé = \frac{uL}{\varepsilon E} \tag{9.32, 9.33}$$

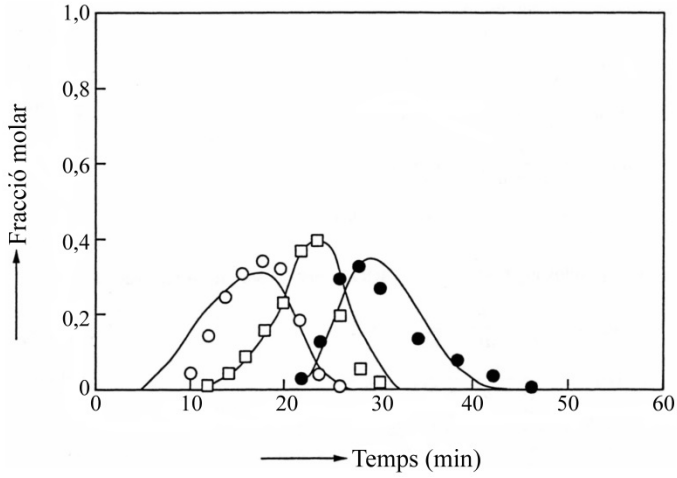


Fig. 9.7 Provatura de separació de m-xilè (○), etil-benzè (□) i p-xilè (●), per cromatografia de gasos sobre un rebliment de zeolita, portador N_2, detector FI. Dades de Storti *et al.* (1985)

La figura 9.6 demostra l'aspecte dels fronts d'ona del component quan passa per tres punts d'una columna i com s'eixamplen (Varma i Morbidelli, 1997). S'observa que els pics no són simètrics a causa de les dispersions que apareixen a l'equació del segon moment. La figura 9.7 mostra el cromatograma de la separació m-xilè, etil-benzè i p-xilè amb iso-propil benzè com a solvent, sobre una columna de zeolita (Storti *et al.*, 1985). L'eixamplament dels pics correspon als efectes acumulatius de la dispersió axial (a través del nombre de Péclet) i de les resistències de transferència de massa del segon moment.

9.4 Eficàcia de la columna: equació de Van Deemter

El model de columna més estudiat ha estat el que s'ha definit a les equacions 8.20 a 8.24 del capítol anterior i s'ha comentat al començament d'aquest capítol (v. equació 9.1). Al capítol anterior, s'han donat les expressions dels moments a través de les equacions 8.52 a 8.57. L'expressió de la dispersió d'un component a la columna ve donada per:

$$L = HETP \times N \tag{9.34}$$

on HETP és l'alçada equivalent del plat teòric i N, el nombre de plats teòrics. HETP i N es poden expressar, en funció dels moments, de la forma següent:

$$HETP = \frac{L\mu_2'}{\mu_1^2} \qquad N = \frac{\mu_1^2}{\mu_2'} \tag{9.35}$$

on el segon moment central ve donat per l'expressió del capítol anterior (equacions 8.53 a 8.57) i el primer moment ve donat per les equacions 8.52. L'expressió de la HETP calculada amb els moments dóna:

$$\frac{\mu_2'}{\mu_1^2} = \frac{2v}{L}\left[\frac{E}{v^2} + \frac{\varepsilon}{1-\varepsilon}\left(\frac{R^2}{15D_e} + \frac{R}{3k_m}\right)\right] \tag{9.36}$$

d'on, aproximant la difusivitat axial per l'expressió:

$$E = \eta D_{12} + \lambda d_p v \tag{9.37}$$

de les equacions 9.35 s'obté la HETP:

$$HETP = 2\lambda d_p + \frac{2\eta D}{v} + 2\frac{\varepsilon}{1-\varepsilon}\frac{R^2}{15D_e}v \tag{9.38}$$

on v és la velocitat intersticial. Treballs pioners de Van Deemter *et al*. (Harrison *et al*., 2003) donen una expressió teòrica i empírica de la HETP denominada *de Van Deemter*:

$$HETP = A + \frac{B}{u} + Cu \tag{9.39}$$

del tot similar a l'equació 9.38, pel que fa a la variable v, i que presenta un òptim de velocitat d'operació en què H és mínim. A les figures 9.8, 9.9 i 9.10 es representa la forma de l'equació per a diversos casos pràctics.

En la cromatografia líquida, l'eluent és un solvent líquid orgànic, un tampó o aigua. Així doncs, la D de l'equació 9.38 representa la difusivitat molecular en el líquid, que serà petita, comparada amb la d'un solut en un gas. Per a la cromatografia líquida, la

HETP es reduiria, doncs, a l'expressió següent, basada en els moments, que obvia el terme constant A de l'equació de Van Deemter:

$$HETP \approx 2\lambda d_p + 2\left[\frac{\varepsilon}{1-\varepsilon}\frac{R^2}{15D_e}\right]v \qquad (9.40)$$

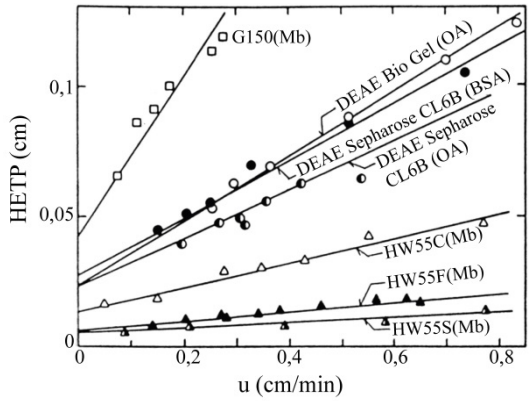


Fig. 9.8 Valors de HETP *vs.* velocitat superficial per a columnes de GPC (G150, HWFFC i HW55F) i bescanvi iònic (DEAE-Sepharose i Biogel). Proteïnes: mioglobina (Mb), ovoalbúmina (OA) i seroalbúmina bovina (BSA). De Blanch i Clark (1997)

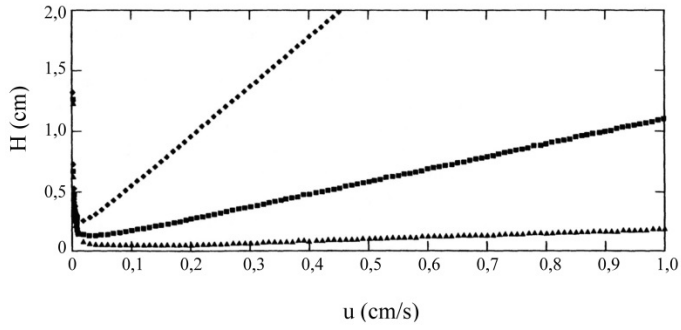


Fig. 9.9 Equació de Van Deemter, HETP *vs.* u, per a tres diàmetres de partícula. Més pendent: 0,050 mm, pendent mitjà: 0,025 mm, mínima pendent mínim: 0,010 mm. De Harrison *et al.* (2003)

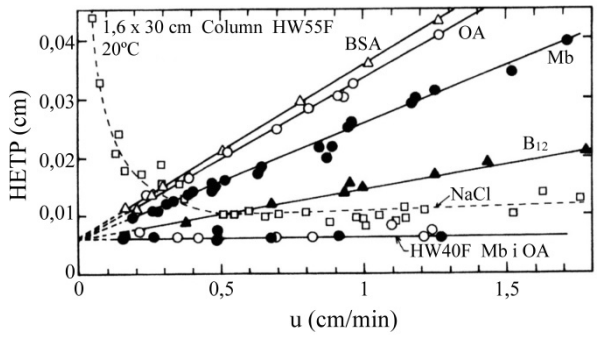


Fig. 9.10 HETP *vs.* u, per a cromatografia de GPC de diverses proteïnes (seroalbúmina, BSA; ovoalbúmina, OA; mioglobina, Mb; vitamina B12) i columnes HW55 (mides de partícula: 0,044, 0,035 i 0,075 mm). Vegeu la branca (per a u = 0) per a NaCl, a causa de la difusivitat més gran. Els valors de les proteïnes s'extrapolen al mateix HETP. Yamamoto *et al.* (1987)

que separa l'efecte de la mida de partícula del de la velocitat. La figura 9.8 representa la dependència de la HETP experimental enfront de la velocitat per a columnes de cromatografia de gel-permeació i bescanvi iònic que s'utilitzen en la separació de proteïnes. Observeu que el terme de dispersió axial, B/v, de l'equació 9.39 no s'aprecia per a velocitats de menys de 0,5 mm/min. A la figura 9.9, es mostra l'equació de Van Deemter per a diversos diàmetres de partícula del rebliment, associats al pendent R^2 de l'equació de la HETP *vs*. la velocitat v.

Per a proteïnes sobre columnes de GPC, Yamamoto *et al*. (1987) han correlacionat l'altura reduïda, $h = HETP/d_p$, amb la velocitat adimensional ($v^* = vd_p/D_{12}$) per a diverses proteïnes sobre diverses columnes de GPC. Utilitzant les dades extrapolades de la figura 9.10, per a H *vs*. u, s'obté la representació adimensional de la figura 9.11. Per a GPC de baixa o alta pressió, el valor mínim de HETP és de $2d_p$, com s'observa a la figura 9.11.

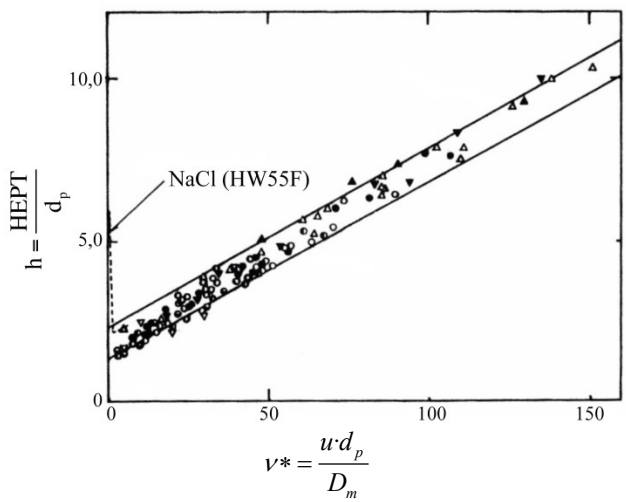


Fig. 9.11
HETP/d_p *vs*. v*, per a columna de GPC HW55. La figura inclou les dades de la figura 9.10 i Na Cl. Yamamoto *et al*. (1987)

9.5 Paràmetres que defineixen la separació de dos components

De les equacions anteriors, convé recordar les que defineixen k' i t_R per al component j, que són, respectivament:

$$\mu_1 = t_R = \bar{t}\left(1 + \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} K_a\right) \tag{9.41}$$

on la K_a és del component j, i t_{Rj} val:

$$t_{Rj} = \bar{t}\left(1 + k'_j\right) \tag{9.42}$$

i k_j' val:

$$k'_j = \frac{K_{aj}(1-\varepsilon)}{\varepsilon} \tag{9.43}$$

9.5.1 Resolució de dos pics

La resolució de dos pics es defineix amb un nou paràmetre R_{12}, que reflecteix el fet que la diferenciació de dos pics és: *a*) directament proporcional a la diferència de temps de retenció i *b*) inversament proporcional a l'amplada base dels pics, que en forma algebraica s'escriu com:

$$R_{ij} = \frac{\left|t_{Ri} - t_{Rj}\right|}{(w_i + w_j)/2} \tag{9.44}$$

Com que, a cabal constant, els temps de retenció són proporcionals als volums de portador passat a t = t, es pot escriure també com:

$$R_{ij} = \frac{\left|V_{Ri} - V_{Rj}\right|}{(w_i + w_j)/2} \tag{9.45}$$

on ara les amplades w estaran expressades també en volum i k' s'expressarà com:

$$k'_j = \frac{V_{Rj} - V_0}{V_0} \tag{9.46}$$

on V_{Rj} és el volum d'elució de j i V_0 és el volum buit de la columna. Aquesta definició és útil quan disposem d'una indicació de la variable volum V(t) en la instrumentació de la columna.

El valor desitjable de la resolució R_{ij} és 2 o més gran. Però la resolució depèn d'altres factors, com veurem tot seguit.

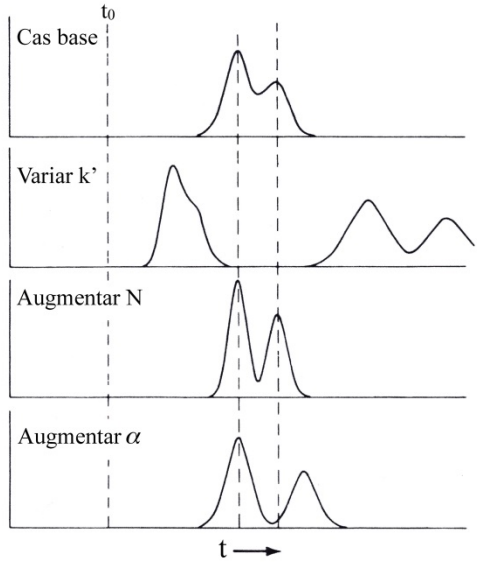


Fig. 9.12 Influència dels paràmetres α, k' i N en la resolució de dos pics (cas base). Vegeu-ne l'explicació al text. Adaptat de Snyder i Kirkland (1974)

A la figura 9.12, es representen la HETP i aquests paràmetres R_{ij} per a columnes de molts plats. A l'última figura, es veu que una cosa és R i una altra és N, però que ambdues contribueixen a millorar la separació. La relació de R amb els paràmetres dels dos

components d'una separació es pot deduir fàcilment de la definició i d'altres equacions anteriors. Es demostra que (Blanch i Clark, 1997):

$$R_{ij} = (\alpha - 1)_{select} \times \left(\frac{k'}{1+k'} \right)_{retenció} \times \left(\frac{\sqrt{N}}{4} \right)_{plats} \quad (9.47)$$

en què intervenen els tres factors que assenyalem. Comentem el seu efecte sobre el cas base del cromatograma de la figura 9.12.

Selectivitat: En el primer, α (>1) és el factor de separació dels dos components, és a dir, que és de naturalesa termodinàmica, i, dependent per tant, de la temperatura (vegeu C. capítol 8, equació 8.11):

$$\alpha = \frac{k'_2}{k'_1} = \frac{K_{a_2}}{K_{a_1}} \quad (9.48)$$

depèn, a més, de l'afinitat solvent-sòlid i, per tant, de la naturalesa d'adsorció de la columna.

Retenció: El factor de retenció k' de l'equació 9.47 és la mitjana aritmètica de k'_1 i k'_2, i mesura la fracció dels soluts presents a la fase sòlida i, d'altra banda, l'afinitat pel líquid de la fase mòbil. Els solvents forts tenen una k' petita i, inversament, els solvents pobres donen una k' gran.

Nombre de plats: Ve determinat per la llargada de la columna L i pels factors que influeixen en la HETP disponible. Com més gran és N, més estrets són els pics i, per tant, més petit és el denominador de R_{ij}. N és el nombre de plats de la columna i representa l'eficàcia de la columna. Els valors desitjables per a la cromatografia líquida són $N > 10^4$ i $k' > 5$.

9.5.2 Control de la resolució

Una vegada establerts la columna i l'eluent, volem millorar la separació, donada per l'expressió última de R_{ij} (equació 9.47). Suposem que el cas base experimental té l'aspecte del cas base del cromatograma de la figura 9.12, en què els pics se solapen a la base. Hi aplicarem els passos següents:

Primer: Un augment del factor α produeix un desplaçament del centre d'un pic respecte al centre de l'altre i un increment ràpid de la resolució. El temps de separació i les altures dels pics responen força per a canvis relativament petits en α. La banda inicial passarà a ser la indicada.

Segon: Un augment del nombre de plats disminueix l'amplada dels pics, com hem vist (equació 9.21), inversament relacionada a la desviació tipus dels pics. Però el temps de retenció no en queda afectat.

Tercer: Un canvi en el factor k' té un gran impacte, com es veu a la 9.12. Quan el factor k' cau en l'interval $0,5 < k' < 2$, la separació empitjora molt. En aquests primers

passos, es recomana operar amb k' dins el rang òptim, que és $1 < k' < 10$.

La sensibilitat dels factors en R és el següent: $k' > \alpha > N$, essent k' el paràmetre més sensible i N, el menys.

9.5.3 Control de l'amplada del pic

L'evolució temporal de la variància del pic té interès en la producció i/o purificació de proteïnes i en el canvi d'escala de la columna en dissenyar la columna de plena escala. Recordem que el major factor d'eixamplament del pic és el temps de difusió intrapartícula. La variància adimensional en funció de la variància donada per l'equació 8.48 del capítol anterior és la següent:

$$\sigma_a^2 = 2\frac{1-\varepsilon}{\varepsilon}\frac{R^2}{15D_e}K_a^2\frac{v}{L} \qquad (9.49)$$

Ara fem $\sigma_t = t_R\sigma_a$ i calculem la base del pic en funció de la desviació tipus, considerant un pic normal, és a dir, $w(t) = 4\sigma_t$. Inserint la variància adimensional de l'equació 9.49 en aquesta darrera equació i introduint L en funció de la velocitat del pic i el temps, $z(t) = u_j\, t$, s'obté l'expressió de w(t) en funció del temps, o z(t), com:

$$w_j(t) = 4\sqrt{\frac{2(1-\varepsilon)}{\varepsilon v}u_j^2 t\frac{K_a^2R^2}{15D_e}} = Md_p u_j\sqrt{\frac{t}{D_e}} = Md_p\sqrt{\frac{u_j z(t)}{D_e}} \qquad (9.50)$$

on w és funció del temps t, o de la posició z(t), dins la columna, el diàmetre del rebliment és d_p i la velocitat d'ona del pic, u_j. D_e és la difusivitat intrapartícula. Aquesta equació per a w(t), junt amb la velocitat d'ona del pic, u_j, són les dues equacions que caracteritzen el moviment uniforme del pic dins la columna. M és un factor de proporcionalitat, que es pren més aviat com un factor empíric i que es pot determinar experimentalment. Vegeu com s'apliquen aquestes equacions a l'exemple següent.

Exemple 9.2. Eixamplament dels pics.

Fem una injecció de dos components designats per 1 i 2 iguals als de la figura 9.3. La separació no és immediata i necessita que els pics i les bandes se separin a la columna. Hem deduït del segon moment les amplades dels pics en funció del temps (v. equació 9.50). Els components es difonen cap a l'interior de les partícules i després cap enfora. Aquest és el motiu de l'eixamplament de les bandes. Donats els valors següents dels paràmetres: $D_e = 10^{-11}$ m^2/s, d_p = 0,010 mm, L = 10 cm, u = 1 mm/s, les constants d'adsorció K_a són semblants: $K_1 = 14{,}5$ i $K_2 = 14{,}0$; per tant, la separació serà difícil. Suposeu M = 0,1 i fracció buida de 0,33.

1. Calculeu el temps de residència de l'eluent, del component 1 i del component 2 a la columna.

2. Trobeu la distància entre els pics quan el component 2 surti de la columna.

3. Quant valen les amplades de la base dels pics en aquest moment?

1. El temps espacial de l'eluent i el temps de residència real valdran, respectivament:

$$\bar{t} = \frac{L}{u} = \frac{100}{1} = 100s$$

$$t_{eluent} = \frac{L}{u/\varepsilon} = 33s$$

Les velocitats dels fronts dels components seran:

$$u_1 = \frac{1}{0,33 + 0,67 \times 14,5} = 0,099\, mm/s$$

I, anàlogament, per al component 2, u_2= 0,102 mm/s. La diferència de velocitats és molt petita. Per tant, una columna llarga separarà els pics, però les bases s'eixamplaran. Vegem què passa al final de la columna. Els temps de retenció es calcularan amb l'equació 9.30 per a cada K_a.

$$t_{R_1} = \bar{t}\left[\varepsilon + (1-\varepsilon) K_1\right] = 100 \times (0,33 + 0,67 \times 14,5) = 1004,5s$$

I, anàlogament, $t_{R_2} = 971,0s$. El component 2 corre, doncs, més que l'1.

2. La diferència de temps entre els pics serà:

$$\Delta t_R = 1004,5 - 971 = 33,5s$$

i, en espai, haurem de calcular Δz. Quan el component 2 surt de la columna, z_2 = 100 mm i el component 1 va darrere, separat a una distància corresponent a la seva velocitat:

$$\Delta z = 100 - u_1 t_{R_1} = 100 - 0,102 \times 971 = 0,96mm$$

3. Quan el component 2 surt de la columna, les bases dels pics són:

$$w_2\,(z = 100) = Md_p \sqrt{\frac{u_2 L}{D_e}} = 0,1 \times 0,010 \sqrt{\frac{0,102 \times 100}{10^{-5}}} = 1,00mm$$

$$w_1\,(z = 99,04) = 0,1 \times 0,010 \sqrt{\frac{0,099 \times 99,04}{10^{-5}}} = 0,99mm$$

És a dir, els dos pics tenen gairebé la mateixa base, 1 mm. La posició relativa dels centres dels pics és z_1 = 99,04 i z_2 = 100 mm, és a dir, d'1 mm de diferència. Així doncs, els components estan separats, però la resolució és una mica justa i val:

$$R_{12} = \frac{100 - 99}{2/2} = 1$$

9.6 Disseny de la columna, separació de proteïnes i canvi d'escala

A la taula 9.1, hem indicat les diferents columnes, que corresponen a les diferents interaccions químiques entre el fluid i el sòlid. Una columna pot funcionar de diverses maneres:

- isocràticament (l'eluent sempre és el mateix);
- fent un canvi progressiu de concentració de l'eluent (d
- el gradient de composició de l'eluent, o no isocràticament);
- fent un esglaó sobtat d'un altre fluid eluent;
- no isotèrmicament, com en la cromatografia de gasos (quan els soluts tenen K_a similars), i
- amb moltes altres variants (desplaçament, etc.)

Aquestes variants es detallen als textos de cromatografia líquida (Snyder i Kirkland, 1972).Volem ara millorar la nostra columna d'una manera general. A fi de conèixer la R_{ij}, s'estudien els factors que afecten N a través de la HETP. En general, és desitjable un valor petit de h = HETP/dp (figures 9.10 i 9.11), a fi de tenir un valor gran de N. L'equació 9.36 dóna l'efecte de les variables d'operació de la columna i s'expressa com μ'_2/μ_1^2. Hem vist com la h mínima val 2 (en funció de la velocitat $v^* = d_p v/D_{12}$); així, per a altres velocitats, la correlació anterior és extremament útil, com per exemple la de la figura 9.10.

9.6.1 Velocitat d'operació de la columna i difusivitat dels soluts

A l'equació 9.38, el primer terme és independent de la velocitat i és directament proporcional a d_p. Llavors, HETP augmenta linealment amb la velocitat v, com mostra la figura 9.10. Per a una velocitat donada, quan la difusivitat intrapartícula D_e disminueixi, augmentarà la HETP, però no perquè augmenti l'ordenada a l'origen de la figura 9.10, que és constant. L'ordenada a l'origen ens dóna d_p, que no varia amb D_e. Un valor de D_e petit i desfavorable farà augmentar el pendent de les línies de la figura 9.9. Vegeu el pendent de les expressions de la HETP *vs*. v* (equacions 9.38 i 9.40).

Cal dir que D_e es pot obtenir de la literatura i/o estimar amb correlacions (p. ex., equació 9.52) i amb altres mètodes (per la difusivitat de proteïnes en aigua). Normalment, mesurar la difusivitat d'una proteïna en aigua és difícil, però mesurar-ne la viscositat és relativament més fàcil. I es pot relacionar amb la difusivitat prenent com a base la difusió d'esferes de Stokes-Einstein. Una correlació per a la difusivitat molecular basada en aquest model, per a proteïnes, és la de Polson (Ghosh, 2003):

$$D_{12} = 9,40\times10^{-15}\frac{T}{\mu(PM)^{1/3}} \qquad (9.51)$$

on D_{12} és la difusivitat molecular en m^2/s, T en K, i μ és la viscositat en Pa·s. PM és el pes molecular de la proteïna, en kg/kmol. La difusivitat efectiva (intrapartícula) es pot calcular com:

$$D_e = \frac{D_{12}\beta}{4} \tag{9.52}$$

on β és la porositat interna de la partícula, i 4 és un factor de tortuositat, que pot variar entre 3 i 10. Hi ha correlacions més elaborades, quan la partícula té microporus i macroporus. A fi d'estimar com pujarà la HETP en canviar D_e, aquestes estimacions són suficients.

9.6.2 Diàmetre de partícula

L'expressió de HETP/d_p *vs*. la velocitat reduïda, v*, és de molta utilitat, ja que ofereix un panorama de la gràfica:

$$h = \frac{HETP}{d_p} = a + Bv^* \tag{9.53}$$

que és interessant utilitzar junt amb l'equació que dóna R_{ij} en funció de N, remarcant que la resolució és directament proporcional a $N^{1/2}$, de h *vs*. v*, com hem vist a la figura 9.11. Aquesta gràfica permet avaluar dades d'operació de la columna que estem seleccionant. Les fórmules pràctiques aplicables per expressar la resolució en funció de L, de HETP o de h són:

$$R_{ij} \propto \sqrt{N} = \sqrt{\frac{L}{HETP}} = \sqrt{\frac{L}{hd_p}} \tag{9.54}$$

A l'exemple 9.3 es mostra la seva utilitat, ja que permet millorar la resolució amb canvis de velocitat a través de la HETP.

9.6.3 Disseny per canvi d'escala en cromatografia

Primer definirem quins són els problemes. El canvi d'escala es planteja generalment quan volem dissenyar una unitat més gran que doni més producció, i especifiquem la producció de la unitat de plena escala. Ens basem en una columna que funciona de forma acceptable en la planta pilot o en el laboratori. De vegades, però, s'especifica solament la grandària de la unitat de plena escala, com ara quan hi ha problemes d'agitació (per exemple, el fermentador té un volum 10 vegades més gran). La producció o la grandària no donen resultats iguals i poden conduir a aparells diferents. En general, el plantejament respon a:

- un augment de la producció o un augment de la grandària,
- amb un criteri d'extrapolació a conservar,
- amb lligadures addicionals (geometria, $\Delta p_{columna}$ acceptable, etc.) i

- sense sacrificar la puresa o la resolució o N_{plats}

El canvi d'escala es presenta en la majoria de les branques de l'enginyeria i té gran importància, ja que el disseny per canvi d'escala acostuma a ser necessari i fiable. En biotecnologia, hi ha problemes grans d'extrapolació en fermentadors, deguts a l'agitació, l'aeració, la mescla, la intensitat d'agitació, la calor, etc. En cromatografia, com a operació industrial per augmentar la producció, cal:

1. augmentar el diàmetre de la columna i/o

2. augmentar el volum injectat

Aquest procediment, que és força cru, representa el mètode més conservador de fer el canvi d'escala.

En condicions de cromatografia normals (isocràtiques), podem optar pel següent:

a) Si les partícules de rebliment són de la mateixa mida i característiques que al laboratori, una proposta d'escalat és mantenir constants el volum injectat i la velocitat lineal per unitat de secció transversal.

b) Si canviem el diàmetre de partícula i/o la longitud de la columna, s'imposa com a lligadura respectar el nombre N de plats a la columna gran, que controla la resolució respecte al contaminant. D'aquí es desprèn que la informació del gràfic de h *vs*. v* és de molta ajuda. És a dir, expressat amb equacions, seria: $N_{lab} = (L/HETP) = N_{planta}$

c) En condicions no isocràtiques (amb gradient d'elució), la manera d'obtenir un pic igual d'un solut en columnes de diferents dimensions consisteix a mantenir el mateix nombre de plats en les dues columnes.

Exemple 9.3 Maneig de la correlació HETP *vs*. velocitat.

Una columna de GPC amb esferes de d_p= 0,044 mm, treballa a una velocitat intersticial d'1,2 cm/min. La resolució de dos pics no és gaire bona, Rij = 0,85. Volem millorar la resolució fins a Rij > 1,2, utilitzant la mateixa longitud de columna, però disminuint la velocitat del fluid.

a) Quina velocitat de la fase mòbil necessitem?

b) Quina longitud de columna hem d'emprar per obtenir la resolució de Rij = 1,2 a la velocitat inicial, v = 1,2 cm/min?

Dades: Es pot utilitzar la correlació de la figura 9.11 per a columnes de GPC. Per a les proteïnes en aigua, feu servir una difusivitat molecular de $D_{12} = 7 \times 10^{-7}$ cm^2/s.

a) En les condicions actuals, calcularem la HETP de què disposem. Per a això, necessitem la velocitat adimensional v* que estem fent servir:

$$v^* = \frac{d_p v}{D_{12}} = \frac{2 \times 0,0022 \times 1,2}{7 \times 10^{-7} \times 60} = 125,7$$

De la figura 9.11, trobem que, per a v* = 126, h = 8, d'on:

$$HETP = hd_p = 8 \times 0,0044 = 0,035 cm$$

Les resolucions són inversament proporcionals a les HETP o a les h. Així doncs, designant el subíndex 1 per a la resolució inicial, i 2 per a la resolució incrementada, tindrem:

$$\frac{R_1}{R_2} = \sqrt{\frac{h_2}{h_1}} \qquad \frac{0,85}{1,2} = \sqrt{\frac{h_2}{8}}$$

d'on $h_2 = 4,0$. Per a aquesta h, la figura 9.11 ens dóna una velocitat adimensional de v* = 50. La nova velocitat per millorar la resolució valdrà, doncs:

$$v = \frac{v^* D_{12}}{d_p} = \frac{50 \times 7 \times 10^{-7}}{0,0044} = 8,3 cm/s$$

b) Podem optar per allargar la columna a fi de tenir una resolució millorada, sense tocar-ne la velocitat inicial. La fórmula que vincula la resolució cromatogràfica amb la longitud de la columna és:

$$R_s \propto \sqrt{\frac{L}{HETP}}$$

Així doncs, aplicant aquesta equació a les dues resolucions, amb la mateixa HETP (atès que la velocitat inicial és constant) resultarà:

$$\frac{R_1}{R_2} = \frac{0,85}{1,2} = 0,71 = \sqrt{\frac{L_1}{L_2}}$$

$$L_2 = 2L_1$$

Caldrà, doncs, duplicar la longitud de la columna.

9.6.4 Altres regles de canvi d'escala de columnes i llits fixos

Al capítol 8 (Adsorció), s'han donat dues estratègies de canvi d'escala generals que són aplicables aquí. La primera es descriu a l'apartat 8.6.1 (Metodologia elemental de canvi d'escala) i es basa, senzillament, en el trasllat de tubs en paral·lel per fer una ampliació de la secció total de la columna. En aquesta estratègia, es mantenen constants d_p, la velocitat superficial, i L.

La segona estratègia, presentada ja per adsorció al capítol 8 (8.6.2 Metodologia més elaborada de canvi d'escala), s'utilitza quan en fer el canvi d'escala ens trobem amb un problema de diàmetre massa petit de la partícula, que causa una pèrdua de càrrega inadmissible. Llavors, en podem augmentar el diàmetre d_p, modificant la velocitat superficial, i l'altura de rebliment que també es canvia. El criteri que s'ha de mantenir és el valor de la variància adimensional:

$$\sigma^2 \propto \frac{d_p^2 u}{D_e (1-\varepsilon) L} = const \tag{9.55}$$

com s'ha explicat al capítol anterior. El propòsit de mantenir σ^2 en el canvi d'escala és limitar l'eixamplament del pic degut al retard intrapartícula del solut. Vegeu l'exemple de càlcul que hi ha al capítol 8 (exemple 8.6).

9.6.5 Columnes de purificació de proteïnes: regla de Yamamoto

Quan se separen proteïnes sobre columnes de cromatografia de bescanvi iònic i d'adsorció, amb gradient d'elució (condicions no isocràtiques), Yamamoto *et al*. (Harrison *et al*., 2003) demostren que la resolució es pot expressar com:

$$R \propto \sqrt{\frac{D_{12} L}{g_t (V - V_0) v d_p^2}} \tag{9.56}$$

on V = volum total de la columna, V_0 = Ve volum vuit, v = velocitat intersticial, d_p = diàmetre de partícula, D_{12} = difusivitat molecular de la proteïna i $V-V_0 = V(1-\varepsilon)$, que es pot escriure, de forma general, com:

$$R \propto \sqrt{\frac{D_{12} \varepsilon}{V g_t (1-\varepsilon) \frac{v_0}{V} d_p^2}} \tag{9.57}$$

on $Vg_t = G$ i $v_0/V = u/L$, o la velocitat espacial del fluid en el llit. Així doncs, en un canvi d'escala en què es vulgui mantenir la resolució, a igual fracció buida, s'ha de complir:

$$G_1 \frac{v_{01}}{V_1} d_{p_1}^2 = G_2 \frac{v_{02}}{V_2} d_{p_2}^2 \tag{9.58}$$

A la pràctica, el gradient i el tipus de resina del laboratori no es modifiquen. En aquest cas, la condició anterior es redueix a la igualtat de les velocitats espacials, afectades pels diàmetres de partícula de la resina al quadrat:

$$\frac{v_{01} d_{p_1}^2}{V_1} = \frac{v_{02} d_{p_2}^2}{V_2} \tag{9.59}$$

que és equivalent a:

$$\frac{u_1 dp_1^2}{L_1} = \frac{u_2 dp_2^2}{L_2} \tag{9.60}$$

que coincideix amb l'expressió donada en la variància adimensional (equació 9.55). Si, a més, les partícules són iguals, s'obté que el criteri d'igual resolució equival a la velocitat espacial u/L constant. Els exemples que segueixen il·lustren com s'aplica aquest criteri.

En el disseny de columnes grans, s'ha de tenir en compte la caiguda de pressió, ja que les partícules són molt petites i les altures de llit són grans i, per tant, no convé que el fluid comprimeixi el llit contra el fons de la columna. Per això, en alguns dissenys, el fluid entra pel fons de la columna; tanmateix, tenen un fons superior que reté el rebliment al seu lloc. Un factor addicional és que moltes resines són toves i flexibles quan són humides, i tendeixen a col·lapsar amb la pressió.

Com que en cromatografia el flux és laminar, fem servir l'equació de Kozeny-Carman (capítol 8) per a esferes de diàmetre d_p, és a dir:

$$-\Delta P = \frac{150(1-\varepsilon)^2}{\varepsilon^3} \frac{u \mu L}{d_p^2} \tag{9.61}$$

on u és la velocitat superficial i μ és la viscositat. En unitats del sistema internacional, la caiguda de pressió s'expressa en Pa. En columnes de producció, la caiguda de pressió admissible varia entre 0,5 i 3 bar (e) i les velocitats superficials corrents, entre 30 i 300 cm/h, valors que cal tenir presents en dissenyar una columna. Recordeu, però, que un augment de velocitat només millora la dispersió axial, però afecta negativament totes les altres contribucions a la variància del pic (proporcionals a v) (v. capítol 8).

A la taula 9.1, es fa un resum del catàleg de columnes per a la cromatografia del procés, les mides normalitzades dels tubs, el diàmetre i la longitud del tub. En el canvi d'escala, és molt important reproduir exactament l'operació de laboratori pel que fa a la durada i la producció d'un cicle de treball d'una columna. El cicle va des de la injecció fins a la regeneració de la columna, en què torna a estar a punt. Normalment, s'escullen cicles de 3 a 8 h, sempre que sigui possible, per tal d'ajustar-se a dos o tres torns de treball (16 o 24 h).

Diàmetre × longitud (mm)	**Àrea transversal (cm^2)**	**Capacitat màx. ajustable (dm^3)**	**Diàmetre × longitud (mm)**	**Àrea transversal (cm^2)**	**Capacitat màx. ajustable (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

Taula 9.1
Columnes acríliques comercials per a cromatograf (adaptat de DataSheet, Millipore Inc.)

Exemple 9.4. Canvi d'escala simple.

Estem purificant una proteïna en una columna de laboratori de 5 cm de diàmetre i 20 cm de altura de rebliment. Amb la concentració de proteïna en l'alimentació, produïm 4 g/cicle, amb cicles de 8 h. Mantenint aquesta durada de cicle, volem estudiar una columna més gran que faci una producció de 12 g/h (concentració inicial de proteïna, velocitat superficial i diàmetre de partícula iguals que al laboratori).

a) Calculeu les dimensions de la columna gran. *b*) Es pot utilitzar per a aquesta producció una columna que estigui lliure a la planta pilot. La columna és de 18 cm de diàmetre interior × 50 cm d'altura, i es pot ajustar l'altura entre 0 i 12,6 litres (v. taula 9.5). Es pot utilitzar com a columna de producció?

Pressió admissible: 1-3 bar (e), segons el diàmetre (vegeu les dades del fabricant). De totes les columnes, hi ha versions de 1.000 mm de longitud. Per a diàmetres de 180 mm d.i. i superiors, hi ha versions en acer inoxidable. Es pot estimar la capacitat suposant una velocitat superficial d'e l'eluent de 100 cm/h.

a) Per a la columna de laboratori, fem una producció de:

$$M_1 = \frac{4\,g/c}{8\,h/c} = 0,5\,g/h$$

Per a la columna gran, s'hauran de fer 12 g/h. Per tant, la relació de produccions serà:

$$\frac{M_2}{M_1} = \frac{12}{0,5} = 24$$

d'on, si treballem a la mateixa velocitat superficial:

$$\frac{\pi D_2^2/4}{\pi D_1^2/4} = 24$$

Per tant:

$$D_2 = \sqrt{24} \times D_1 = \sqrt{24} \times 5 = 24,6cm$$

b) Volem ajustar les condicions de més producció a la columna de la planta pilot, que té només D = 18 cm. Imposem que la nova producció per a aquesta columna sigui de 24.

$$\frac{V_2}{V_1} = 24$$

$$V_2 = 24 \times \frac{\pi D_1^2}{4} \times L_1 = 24 \times \frac{\pi 5^2}{4} \times 20 = 9.420cm^3$$

Per tant, ajustarem l'altura del llit de la planta pilot a un volum de:

$$\frac{\pi D_2^2}{4} \times L_2 = 9.420 cm^3 < 12.600 cm^3$$

amb D_2 = 18 cm, cosa que dóna L_2 = 37 cm, que és inferior a 50 cm, i un volum de treball inferior al màxim (12,6 L).

Exemple 9.5 Extrapolació d'una columna a resolució constant.

Volem dissenyar una columna de planta amb una capacitat de producció 150 vegades la de la unitat de laboratori, que purifica una proteïna. La columna de cromatografia de bescanvi iònic del laboratori opera de la forma següent:

- diàmetre interior de la columna = 1 cm
- altura del llit de rebliment = 20 cm
- diàmetre de les partícules = 0,020 mm
- velocitat superficial = 30 cm/h

A la planta, farem servir partícules de rebliment de 0,040 mm de diàmetre. En el canvi d'escala, mantindrem la resolució que tenim al laboratori. Disposem de dues columnes de catàleg: una de 14 cm de diàmetre interior i una altra, de 18 cm de diàmetre interior, i ambdues de 50 cm d'altura.

1. Podem fer servir alguna de les columnes?
2. Per a la columna escollida, quines seran l'altura i la velocitat superficial?
3. Estimeu la pèrdua de càrrega de la columna.

Nota: La viscositat = és d'1,0 mPa. s, i la fracció buida de la columna, ε = 0,33.

1. El cabal de la columna del laboratori és:

$$Q_1 = \frac{\pi D_1^2}{4} u_1 = \frac{\pi 1^2}{4} 30 = 23,5 cm^3/h$$

Així doncs, per a la columna gran, el cabal serà: $Q_2 = 150 \times Q_1 = 3.525 cm^3 / h$

2. Provem la columna de 18 × 50 cm, per veure si és possible utilitzar-la. La velocitat superficial per a aquest cabal a la columna gran serà:

$$3.525 = \frac{\pi D_2^2}{4} u_2 = \frac{\pi 18^2}{4} u_2$$

d'on u_2 = 13,8 cm/h. L'altura de la columna ha de complir el criteri de l'equació 9.58:

$$\frac{u_1 dp_1^2}{L_1} = \frac{u_2 dp_2^2}{L_2}$$

Posant-hi valors, només queda la L_2 com a incògnita:

$$\frac{30(20)^2}{20} = \frac{13,8(40)^2}{L_2}$$

d'on s'obté que $L_2 = 37$ cm < 50 cm; així doncs, podem utilitzar la columna de 18 × 50 cm. Si fem els mateixos càlculs per a la columna de 14 × 50 cm, obtindrem $L_2 = 61,3$ cm, que és > 50 cm i, per tant, no és adequada.

3. Comprovem la caiguda de pressió per a $L_2 = 37$ cm i $u_2 = 13,8$ cm/h. Fem servir unitats del sistema internacional, perquè és més pràctic. L'equació de Kozeny-Carman serà:

$$-\Delta P = 150\frac{(1-\varepsilon)^2 u_2 \mu L_2}{\varepsilon^3 d_{p_2}^2} = 150\frac{(1-0,33)^2}{0,33^3}\frac{3,8\times10^{-8}\times0,37}{(44\times10^{-6})^2} = 13,6\times10^3\,Pa$$

aproximadament 0,13 bar, que és inferior a la pressió admissible per qualsevol columna comercial (1 bar).

9.6.6 Utilització de columnes en paral·lel

Per a la gran producció, no podrem alimentar la injecció de proteïna i fer l'elució a una sola columna, ja que es necessitaria una secció transversal molt gran. Llavors, és preferible fer servir diverses columnes en paral·lel, amb els seus cicles de treball, des de la injecció de la mostra fins a la regeneració de la columna. En aquest cas, el nombre de columnes en paral·lel dependrà de la producció de la proteïna requerida, de la producció de proteïna per a cada columna durant un cicle i del nombre de cicles diaris. Així doncs, el nombre de columnes en paral·lel, N_c, ha de complir la relació següent:

$$F_{pA} = \sum_{i=1}^{N_C} F_{pci} N_{cdi} \qquad (9.62)$$

on F_{pA} és la producció; kg prot. A/dia, F_{pci} són els kg produïts per columna i cicle, i N_{cdi}, el nombre de cicles al dia per a la columna i. Les dades de laboratori permeten determinar els valors de F_{pc} i N_{cd} durant la posada en funcionament experimental del procés a escala pilot, amb els criteris de canvi d'escala adoptats. A partir d'aquí, es calcula el nombre de columnes en paral·lel i com opera cadascuna d'elles.

Quant és una producció gran que necessiti emprar més d'una columna? Si prenem una velocitat superficial de 100 cm/h (entre 30 i 300 cm/h, *vid. supra*), per a les columnes Moduline™ 2 de la taula 9.1 de secció màxima (que correspon a 630 mm de diàmetre interior) es podrà admetre un cabal volumètric de 312 L/h durant 6 h (1,87 m^3 en total!).

Cal tenir les idees clares en utilitzar simuladors, a fi de concebre correctament les operacions de separació, en modelar un procés real en què es projecten bioprocessos de veritat. En aquest sentit, vegeu el simulador de Petrides (Harrison *et al*., 2003). Aquest autor, per a una producció de 1.800 kg/a d'insulina BH, empra tres columnes en pa-

ral·lel, C-101 al diagrama de flux, Sepharose de 140 mm de diàmetre de bescanvi de cations. Les tres columnes de Sepharose admeten un cabal total de 192 L/h. Cal saber d'on es treuen les dades d'operació fetes que s'han fet servir per escalar a partir de la columna de laboratori. Tenint en compte que la planta d'insulina té quatre columnes de cromatografia addicional (a més de la C-101 comentada), seria raonable veure la incidència de tantes columnes en un sol procés. En definitiva, recomanem que la planta que es projecti es dissenyi estretament en contacte amb els responsables de desenvolupament del procés.

El problema del nombre òptim de columnes en paral·lel és de naturalesa econòmica i de flexibilitat del procés. La lligadura que representa l'equació 9.62 és el valor de F_{pA} (la producció volguda) que és una constant independent del nombre de columnes. Durant l'optimització experimental, hem de poder trobar els factors F_{pci} i N_{cdi} que van millor. Nc es determina, llavors, per optimització econòmica.

9.7. Tipus de cromatografia més utilitzats en biotecnologia

Els tipus més corrents avui dia, com a mètode industrial de purificació, són els següents: bescanvi iònic, permeació sobre gel (GPC), interacció hidrofòbica o d'adsorció i afinitat, que es resumeixen a la taula 9.2, on es donen el mecanisme de retenció, la resolució i les aplicacions. A la taula es resumeixen els factors de purificació esperables de cada tipus. Només en presentarem els tres més importants.

Taula 9.2
Purificació obtinguda en cromatografia de biomolècules

Tipus	Factor de purificació	Exemples
Bioafinitat	1:50 a 10.000	Prot/In. globulines
Afinitat de colorant	1:10 a 100	Blau dextran/prot.
Bescanvi de cations	1:2 a 40	Citocrom C
Exclusió per mida	1:3 a 30	Hemoglobina

9.7.1 Cromatografia de bescanvi iònic

El gel que constitueix les partícules conté carregues elèctriques fixes positives o negatives amb contraions. Les partícules són esferes perfectes bastant iguals. Els grups químics lligats a la matriu es poden veure a la taula 9.3. La matriu és un polímer de poliestirè o poliacrilat reticulat, inflable en aigua en solvatar-se els grups iònics. Com que les proteïnes tenen una càrrega neta lluny del seu pI, això permet adsorbir-les selectivament en el gel de la resina, del qual desplacen els contraions. Aquest procés de separació de proteïnes depèn del pI de cada una i del seu interval d'estabilitat entorn del pI. Per purificar la proteïna, s'elueix fora la proteïna no capturada. Per recuperar-la, s'elueix amb un tampó adequat. Per exemple, hem separat una proteïna catiònica (de pI = 4, estable a l'interval 3-5), amb una resina aniònica forta (per exemple, Dowex 50 en forma sòdica) emprant un tampó de pH = 5, de manera que les altres proteïnes de pI ~7

són eluïdes fora de la columna. Per desorbir-la, necessitem una força iònica augmentada de l'eluent amb un eluent de pH inferior a 4 per tenir la proteïna protonada.

Taula 9.3
artícules de resina de bescanvi iònic més importants

Caràcter	Grup químic	Fórmula	pK
Àcid fort	Sulfònic	$-SO_3^-$	2
Àcid feble	Carboxílic	$-COO^-$	4-4,5
Base feble	Dietil-amino-etil	$-N^+H<$	9-9,5
Base forta	Trimetil-amoni quat.	$-N^+\equiv$	12

Una característica és que es pot concentrar la solució eluïda per sobre de la concentració en l'alimentació durant la captura per part de la resina (de 5 a 10 vegades més). Això és degut al fet que la captura de la proteïna en la resina produeix una solució molt concentrada a l'interior del gel. Quan es canvien el tampó i el pH i es posen a prop del pI de la proteïna, la concentració en equilibri en el solvent és molt alta (ja que, en el pI, el solvent es transforma en més bon solvent per a la proteïna) i, per tant, es desorbeix a alta concentració.

La cromatografia de bescanvi iònic s'utilitza per a productes farmacèutics, aminoàcids, proteïnes, pèptids, àcids nucleics, sucres, etc.

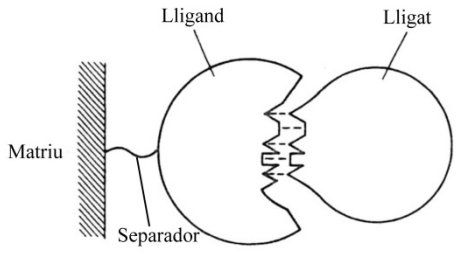


Fig. 9.13
Elements constitutius d'un lloc actiu de la cromatografia d'afinitat. El lligant està enllaçat químicament a un substrat (matriu, p. ex., agarosa) a través d'una cadena de separador. El solut o lligat reconeix el lligand i s'hi adsorbeix molt selectivament. L'adsorció pot ser de Langmuir

9.7.2 Cromatografia d'afinitat

Aquí, les partícules del sòlid són la matriu que immobilitza un *lligand* molecular a través d'una branca o separador covalent lligada al suport. El lligand té una afinitat molt específica pel *lligat* o espècie a retenir. L'especificitat és del tipus de reconeixement biològic: enzim-substrat, antigen-anticòs, enzim-cofactor, hormona-receptor, seqüència de bases-àcid nucleic complementari, etc. (v. taula 9.4). La figura 9.13 representa el tipus d'interacció, la matriu, el lligand, el lligat i el separador. En el moment actual, els lligands més selectius són els anticossos monoclonals, els adsorbents basats en pèptids. Els lligands sintètics són colorants que reaccionen amb la majoria de les proteïnes. La taula 9.4 dóna les parelles de biomaterials amb bioafinitat.

Els suports són els següents: agarosa, cel·lulosa, dextran, sílice, sorbents basats en polimetacrilat, membranes d'afinitat. Per al lector interessat en com funciona la separació d'afinitat de dues proteïnes, ens remetem a un treball que explica clarament com es

prepara l'ancoratge del lligant i com funciona l'adsorció d'afinitat i la desorció. Martín del Valle *et al*., (2002) fan la separació amb dues proteïnes (tripsina i asparaginasa) per adsorció discontínua i desorció contínua en una columna posterior, en què utilitzen un model d'equilibri de Langmuir per a l'adsorció. L'asparaginasa s'adsorbeix selectivament i la tripsina s'elueix del tot, proveint així una separació excel·lent. Altres suports estudiats són l'agarosa ancorada sobre les parets internes dels tubs del monòlit (Montes *et al*., 2004). Aquest suport permet predir la desorció amb una geometria molt simple (parets dels tubs recobertes d'agarosa en paral·lel), modelant l'elució solament amb consideracions hidrodinàmiques. El model no té paràmetres ajustables i, per tant, valida el mecanisme de desorció i proveeix un procediment directe de canvi d'escala.

Taula 9.4
Parelles de biomaterials aptes per a la cromatografia d'afinitat

Solut o lligat	**Lligand**
Enzim	Substrat, o afí Inhibidor coenzim
Hormona	Receptor
Antigen	Anticòs
Anticòs	Antigen
Polisacàrid	Lectina
Factor de coagulació	Heparina
ADN, ARN	Complementari d'ADN o ARN
Enzim NADP-dependent	Colorant sintètic
Proteïna amb histidina	Quelant de metall pesant

9.7.3 Permeació sobre gel (GPC o d'exclusió per mida)

Aquesta tècnica deriva de la tecnologia de polímers sintètics, que caracteritza la dispersió de pesos moleculars en una columna amb partícules geliformes de diferents mides de porus. Fou una rutina important els anys setanta per a la caracterització del poliestirè eluït amb solvent orgànic. Les molècules en són excloses per la mida molecular. Les més petites (sals, aminoàcids i compostos de baix PM) entren dins els porus de la matriu, mentre que les molècules grans no hi poden entrar i són eluïdes primer. En GPC, el coeficient de distribució matriu/eluent és independent de la concentració de solut, el pH, la força iònica, etc., i solament depèn de la mida molecular. El coeficient de distribució ve donat per l'equació d'Ogston:

$$K_a = \exp\left[-(1-\varepsilon)(1+\frac{d}{f})^2\right] \qquad (9.63)$$

on d és el diàmetre o radi de gir de la molècula, f és la dimensió de la fibra del gel i K_a és la constant de repartiment, $K_a = C_{fluid}/C_{sòlid}$. El diàmetre d està relacionat amb el pes molecular segons:

$$M_w = N_A \rho\left(\frac{\pi d^3}{6}\right) \qquad (9.64)$$

on la densitat ρ s'expressa en kg/m^3; d, en m, i N_A = nombre d'Avogadro.

La GPC s'empra per dessalar després de la precipitació de proteïna amb $(NH_4)_2SO_4$, canvi de tampó i dessalatge en general, i per separar proteïnes de diferent PM o deslliurar-les de les sals del brou. Un inconvenient és que la solució eluïda és diluïda i, per tant, es procura combinar la GPC amb altres tècniques, com la ultrafiltració/diàlisi i la cromatografia de bescanvi iònic, que produeixen solucions més concentrades.

9.8 Consideracions finals

Hem explicat els fonaments de la cromatografia d'elució amb la teoria dels moments de la resposta, ja que la cromatografia és un procés de separació no estacionari, i la teoria dels moments li escau perfectament. A més, els moments aporten una guia excel·lent per predir l'efecte de les variables d'operació sobre la separació. L'aplicació en biotecnologia s'ha fet centrant-nos en l'objectiu del canvi d'escala. Aquest aspecte ha estat molt poc estudiat a la pràctica de la cromatografia i és una part que l'enginyeria pot aportar a la biotecnologia industrial. Els problemes nous que la biotecnologia afronta sorgeixen quan el procés s'ha d'implementar a gran producció. S'han vist per sobre els tipus de cromatografia més útils en la biotecnologia aplicada.

9.9 Notació

a	Área específica externa, en m-1
C_j, C_1	Concentració del component j en el fluid, en mol/m^3
D	Diàmetre de la columna, en m
D_{12}, D_m	Difusivitat molecular de la proteïna, en m^2/s
D_e	Difusivitat intrapartícula, en m^2/s
d_p	Diàmetre de l´esfera, en m
E	Coeficiente de dispersió axial, en m^2/s
E(t)	Resposta de N adsorbidors en sèrie, ec. 9.18
F_p	Producció, en kg/h
F_{pc}	Producció per columna i cicle, en kg/c/cicle
G	Gradient, = Vgt
g	Acceleració de la gravedad, 9,81 m/s^2
g_t	Pendent del gradient per unitat de volum de columna, en mol/L/L
G(s), G_N(s)	Transmitància d´un bloc i de N blocs
h	Altura del plat teòric adimensional, HETP/dp
H,	HETP Altura equivalent a un plat teòric, en m
k’	Factor de capacitat, eq. 9.11
K’	Combinació de constants,= KaV2/V1
K_a	Constant d´ equilibri adimensional = □K
k_p	Coeficiente de transferència de massa, en m/s
L	Longitut de la columna, en m
M	Constante, eq. 9.5
N	Nombre de plats
N_c	Nombre de columnas en paralelo
N_{cd}	Cicles/dia
P	Pressió, en Pa
Pé	Número de Péclet, eq. 9.33
q_j, C_2	Concentració de solut sobre el sòlid, en mol/kg o kg/kg
R	Radi de l´esfera, en m
R_{ij}	Resolución de i i j, eq. 9.44
s	Variable de Laplace, en s^{-1}
t	Temps, en s
t_m	Temps de l´eq. 9.32, en s
t_R	Temps de retenció del componente j, en s
u	Velocitat superficial, en m/s
u_j	Velocitat d´ona del component j, en m/s
v	Velocitat intersticial, en m/s
v*	Velocitat adimensional, en = ud_p/D_m
v_0	Cabal volumètric, en m^3/s
V_1, V_2	Volums 1 i 2, en m^3
w	Amplada de la base, en m o s
z	Posició, en m
z(t)	Espai recorregut per l´ona en un temps t, en m

Lletres gregues

α	Factor de separació, eq. 9.48
β	Fracció buida (porositat) de la partícula
ε	Fracció buida (porositat) de la columna

μ	Viscosidad, en Pa·s
μ_2	Moment absolut de 2º orden, en s^2
μ_1	Moment absolut de 1r orden, en s
ρ	Densitat de la partícula, en kg/m^3
σ_t	Desviació tipus en temps, en s
σ_a	Desviació tipus adimensional = $\sigma t/tR$

Abreviatures

HETP	Altura equivalent a un plat teòric
GPC	Cromatografia de permeació sobre gel
UF/DF	Ultrafiltració, diafiltració
HIC	Cromatografia d´adsorció hidrofòbica

Filtració tangencial

En aquest capítol, expliquem les operacions més importants de filtració tangencial sobre membrana. Són la ultrafiltració (UF), la diafiltració (DF) i la microfiltració (MF), que es basen en la permeació de dissolucions a través d'una membrana activada per pressió mecànica. Marginalment, ens referim a la pressió osmòtica, perquè en fase líquida afecta tots els processos en què intervenen dissolucions separades per una membrana semipermeable. En biotecnologia, les operacions amb membrana d'UF/DF són molt importants i perfectament estandarditzades, amb aparells comercials disponibles de gairebé totes les mides. A la figura 9.2 del capítol anterior, que representa una part del procés de fabricació de l'interferó recombinant glicosilat, veiem que s'utilitzen repetidament la UF i la DF com a processos de concentració o rentat, o quan canviem de tampó.

En les indústries de procés (d'aigües, alimentària, de producció de matèries primeres farmacèutiques), la UF permet concentrar una alimentació evitant l'evaporació, que és més costosa. En la UF, es fa servir energia mecànica, en comptes de vaporitzar aigua. Comparada amb l'evaporació, la UF i l'osmosi inversa (OI) tenen l'avantatge que estalvien molta energia, gràcies a la recuperació d'energia mecànica per expansió del filtrat en una turbina. Un avantatge addicional és que la UF treballa prop de la temperatura ambient (10-35 ºC). Això és interessant per als bioproductes que no suportarien les temperatures de l'evaporació.

En biotecnologia, els avantatges dels processos de membrana són que permeten:

- concentrar,
- separar,
- purificar,
- rentar (sals o tampó) i
- fraccionar (menys)

una alimentació de bioproductes continguts en un brou de fermentació.

El procés de membrana fa servir energia mecànica, de forma que la pressió hidràulica provoca la permeació per efecte de la circulació tangencial. En UF, MF i DF, la pressió

és relativament baixa (menys de 10 bar), però, en l'OI, la pressió és força elevada (de 80 bar). En realitat, la força impulsora del procés és el potencial químic o la fugacitat del component d'aigua líquida a ambdós costats de la membrana. Com que el potencial químic d'un component depèn de la pressió (a més de la temperatura i la composició), s'aplica pressió hidràulica per activar el procés de transferència de massa. En els processos en què hi ha una membrana semipermeable, a una banda de la qual hi ha molècules/partícules solubles més o menys petites o macromolècules i, a l'altra banda, aigua pura, i la tendència espontània és que l'aigua entri des d'una banda de la membrana, per tal d'igualar els potencials. La pressió osmòtica es desenvolupa, doncs, en sentit contrari al del flux d'aigua que pretenem amb l'OI. La pressió efectiva que hem de realitzar al costat d'alta concentració, a fi de conduir el procés en sentit invers, ha de superar, doncs, la pressió osmòtica natural. Quan, en un procés de dessalinització per OI, hi apliquem una pressió de 80 bar, la pressió efectiva és, en realitat, més petita, ja que se li ha de restar la pressió osmòtica, que pot ser de 24 bar (v. exemple 10.1).

10.1 Processos de filtració tangencial

Taula 10.1 Processos de separació de membrana en fase líquida

	Osmosi inversa	**Nanofiltració**	**Ultrafiltració**	**Microfiltració**	**Filtre de tela o paper**
Força impulsora	Pressió hidràulica	Pressió hidràulica	Pressió hidràulica / gradient de concentració	Pressió hidràulica	Pressió hidràulica
Obertura	0,3 nm	1 nm	3 nm	0,1 μm	20 μm o més
Retingut	Ions	Molècules	Macromolècules	Micropartícules	Partícules, cèl·lules, cel. sang
PM límit, kg/kmol	> 40	> 200	> 3.000	> 100.000	
Flux, L/m^{2}h	1-40	2-80	10-100	100-500	50-200
Pressió de treball, bar	25-70	14-40	2-10	1-10	< 2

Font: Dades d'Osmonics (1993), Cheryan (1998) i Fariñas (1999)

Convé distingir els processos de membrana aplicables en biotecnologia. A la taula 10.1, es representa un diagrama de les operacions de membrana, l'interval de grandària molecular dels soluts, i les grandàries de molècula que es filtren. Vegem els tipus d'operacions en què els soluts permeen a través d'una membrana semipermeable, gràcies a un gradient de potencial. Les possibles forces impulsores són:

- gradient de concentració,
- pressió hidràulica i
- potencial elèctric,

o una combinació d'aquests. Donada una cel·la de permeació, hi ha tres corrents. La figura 10.1 il·lustra el que és cada corrent i la nomenclatura adoptada. Un és l'alimentació que volem tractar, que conté aigua, soluts i partícules. Aquesta alimentació es filtra per efecte de la membrana a un corrent que la travessa, que s'anomena *filtrat* o *permeat*, i la resta, que no passa o és retingut, s'anomena *concentrat*, *retingut* o *rebuig*. Els corrents de sortida, el filtrat i el concentrat, contenen concentracions diferents dels soluts que té l'alimentació. Les concentracions dels soluts aigües avall depenen de les diferents velocitats de permeació de cada component sobre la membrana: uns filtren ràpidament i d'altres són rebutjats completament per la membrana.

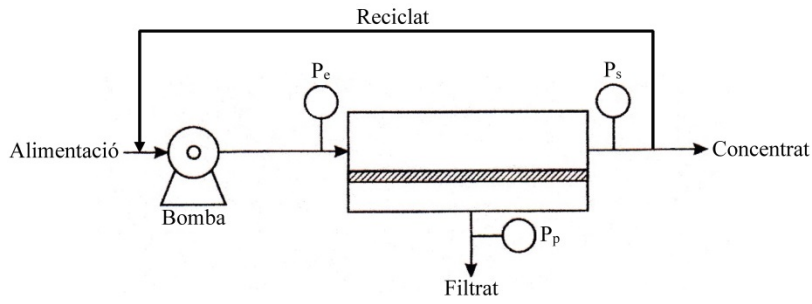


Fig. 10.1
Esquema bàsic d'una unitat d'ultrafiltració. p_e, pressió d'entrada; p_s, pressió de sortida; p_p, pressió del filtrat. El concentrat és el corrent de rebuig. Gràcies a la recirculació, la velocitat del fluid al llarg de la membrana és elevada, d'1 a 4 m/s. Aquesta provoca la pèrdua de càrrega, $p_e - p_s$. La pressió d'operació del filtre val $\Delta p = (p_e + p_s)/2 - p_p$

La *diàlisi* és un procés en el qual se separen molècules grans de molècules petites servint-se de les seves diferències de velocitat de difusió a través de la membrana. En la diàlisi, hi ha soluts que tenen afinitat per la membrana i es dissolen en ella o en el líquid oclòs en els petits porus de la membrana. El transport és degut a la transferència de massa per un *gradient de concentració* en el gruix de la membrana, més que no pas per un gradient de pressió hidràulica. Per tant, la pressió a la banda de l'alimentació de la membrana no cal que sigui molt gran.

La *microfiltració* (MF) és un procés de filtrat de partícules molt petites ($0{,}1\ \mu m < d_p < 10\ \mu m$) d'una dispersió, una emulsió, una suspensió o un col·loide. La membrana de microfiltració és una membrana de porus més petits que les partícules. Es tracta, doncs, d'una filtració convencional, però amb un sedàs d'obertura més petita, que és la membrana. La *força impulsora és la pressió hidràulica* diferencial entre l'alimentació i el filtrat, igual com en un filtre de tela. L'efecte és degut a la grandària dels porus.

La *ultrafiltració* (UF) serveix per separar macromolècules (per exemple, proteïnes) presents en una solució amb la membrana adequada. La *força impulsora de la UF és la pressió hidràulica*, però alterada pel transport de massa degut a la polarització de la membrana, fenomen característic de la UF (i de l'OI). Les partícules tractades per UF tenen entre 3 i 100 nm, i inclouen virus i pirògens, polímers en emulsió (dispersions) i macromolècules solubles de pes molecular d'entre 15.000 i 100.000.

La *diafiltració* (DF) és un procés que utilitza la mateixa instal·lació de la UF, no per retenir una macromolècula, sinó per rentar i dialitzar les sals amb aigua neta, o substituir els tampons de la molècula d'alt PM retinguda. Una aplicació típica és el rentat de sulfat

amònic, que s'utilitza en la precipitació de proteïnes. Com que la diafiltració es fa des d'un tanc d'on es pressuritza l'alimentació a la membrana, el procés de rentat es fa alimentant l'aigua o el tampó al tanc d'alimentació. La força impulsora de la DF en les operacions de rentat és el gradient de concentració, igual que en la diàlisi. La pressió aplicada és inferior a la de la UF.

L'*osmosi inversa* (OI) és un procés que s'utilitza per concentrar soluts o ions de baix pes molecular en dissolució. La força impulsora del procés és la pressió hidràulica. Al costat de la membrana on hi ha la dissolució, s'aplica una pressió que ha de superar la pressió osmòtica. Aquesta pressió pot ser considerable quan les espècies en dissolució són de mida petita (sals, molècules orgàniques lleugeres). En el cas de l'aigua de mar (salinitat del 3,45 %, NaCl, a 10ºC) la pressió osmòtica és d'uns 23 bar. A més, s'ha de superar la polarització de la membrana. En total, la pressió de treball de l'OI és de 25 a 80 bar.

La *nanofiltració* és una tècnica que treballa entre els límits de la UF i l'OI, amb un pes molecular de tall de 1.000.

A la taula 10.1, hem recollit les característiques principals dels processos industrials que acabem de discutir. I, a la taula 10.2, es resumeix la funció que acompleix cada tipus de procés de membrana en l'àmbit de la biotecnologia i en altres camps.

Taula 10.2
Usos dels processos de membrana en biotecnología

Procés	**Obertura de la membrana (interval PM)**	**Utilització**
Microfiltració	0,05 - 1 µm	Retenció de restes cel·lulars, del brou i de l'homogeneïtzat. Bacteris i cèl·lules intactes. Emulsions i dispersions
Ultrafiltració	1 nm - 100 nm (1.000 a 1.000.000)	Retenció d'anticossos, proteïnes, polisacàrids, virus, inclusions cel·lulars. Albúmina. Pèptids
Diafiltració	1 nm -100 nm	Concentració del retingut. Rentat de contaminants del retingut en la membrana, canvi de tampó, tractament abans i després de cromatografia. Retenció de vitamines, citocroms. Rentat de sulfat amònic
Diàlisi*	< 5 nm	Hemodiàlisi. Tractament del fracàs renal agut. Ronyó artificial
Electrodiàlisi**	<5 nm	Salts dissoltes en tractament d'aigües
Osmosi inversa	0,3 nm a 1 nm (< 1.000)	Potabilització de l'aigua, quan la duresa és molt alta. Antibiòtics, sucres. Potabilització de l'aigua de mar

*gradient de concentració,** potencial elèctric

En aquest capítol, estudiem primer la teoria de la filtració encreuada, en el cas dels líquids. En aquest tipus de filtració, la circulació del fluid d'alimentació és paral·lela a la superfície filtrant, a diferència de la filtració convencional, en què el líquid filtrat comprimeix frontalment el tortó dipositat sobre la tela (v. figura 10.2). Després, s'estudien

els aparells, els mòduls i les instal·lacions de filtració per membrana. Finalment, s'estudien els processos industrials discontinus i continus més interessants en biotecnologia.

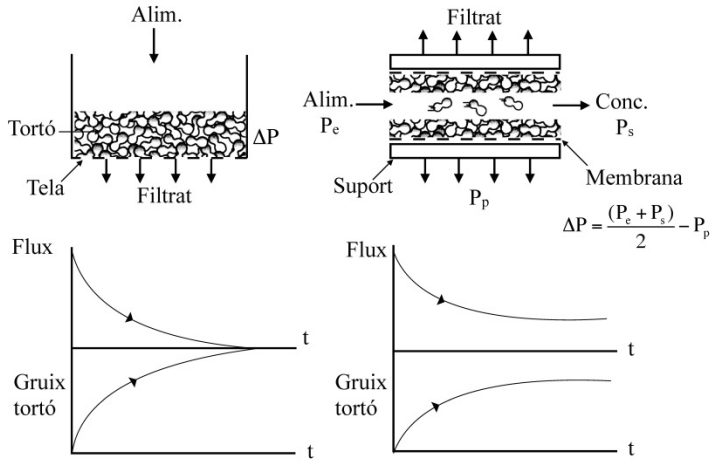


Fig. 10.2 Principi de funcionament de la filtració convencional i de la filtració tangencial. Observeu quant val Δp en cada cas

10.2 Fonaments de la filtració tangencial

Estudiem, primer, les propietats i els termes que s'empren en la tecnologia de membranes, com també els tipus de membrana. La figura 10.3 resumeix les operacions de què estem parlant. Veiem que el marge de partícules que estem filtrant van des d'1 nm a 100 nm, que és la zona de la UF.

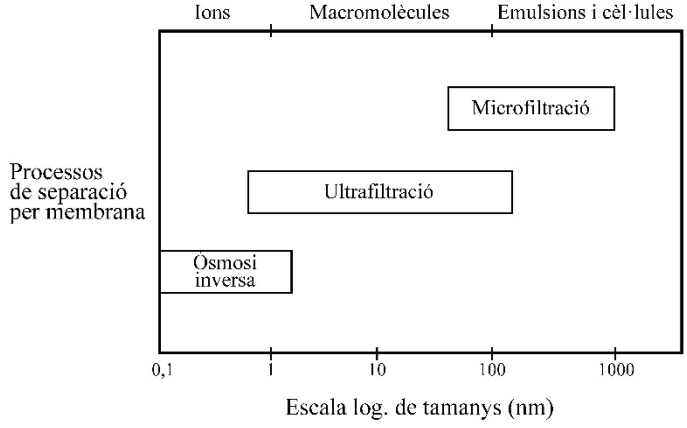


Fig. 10.3 Intervals de mides de partícula de les operacions de fil-

10.2.1 Definicions: factor de concentració, rendiment, pressió osmòtica i Δp

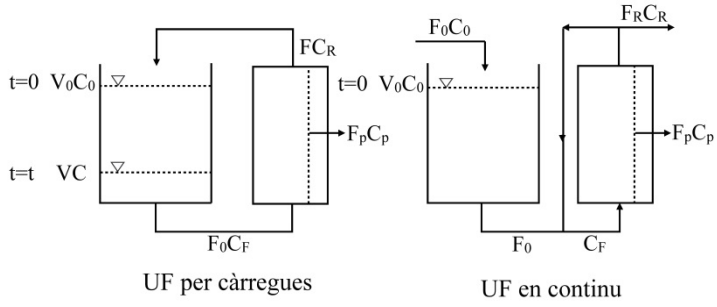


Fig. 10.4 Operacions d'UF: per càrregues amb recirculació (esquerra) i en continu amb recirculació local (dreta). Vegeu la nomenclatura i les propietats de la membrana al text

La figura 10.4 resumeix la nomenclatura d'un element de permeació contínua, en què les F són els cabals volumètrics que entren a la membrana o en surten. En les operacions per càrregues, en comptes de cabals parlem de volums. Es defineixen els termes següents com a propietats de la membrana:

Factor de concentració. En una unitat que treballa per càrregues, es defineix com:

$$f = \frac{V_0}{V} = \frac{Vol\ inicial}{Vol\ final} \tag{10.1}$$

Quan una unitat treballa en continu en estat estacionari, f es defineix com:

$$f = \frac{F_0}{F} = \frac{Cabal\ entrada}{Cabal\ sortida} \tag{10.2}$$

Factor de reducció de volum, en % sobre l'inicial:

$$\Delta V(\%) = \frac{V_0 - V}{V_0} \times 100 = (1 - 1/f)100 \tag{10.3}$$

Els valors corrents del factor de concentració en UF són de f = 2- 40 i depenen de la viscositat del concentrat.

Pressió osmòtica. Ja hem dit a la introducció que és una propietat col·ligativa de les dissolucions líquides, separades per una membrana. Ens interessa poder calcular-la, ja que frena el procés de permeació d'aigua. Designant amb el subíndex 2 el solvent, per a solucions no ideals de no-electròlits, la pressió osmòtica s'expressa com:

$$\Pi = \frac{R_g T}{V_2} \ln \gamma_2 x_2 \tag{10.4}$$

on x_2 és la fracció molar d'aigua; γ_2, el seu coeficient d'activitat, i V_2, el volum molar parcial de l'aigua. El coeficient d'activitat gamma es defineix amb la convenció que, per a $x_2 \rightarrow 1$ (o bé, $x_1 \rightarrow 0$), tenim que $\gamma_2 \rightarrow 1$. Aquesta relació es pot aplicar a dissolucions de

molècules petites en aigua (etanol, glucosa, etc., en H_2O). Per a solucions diluïdes, s'obté l'equació de Van't Hoff:

$$\lim_{C_1 \to 0} \frac{\Pi}{C_1} = \frac{R_g T}{M_1} \tag{10.5}$$

on C_1 és la concentració del no-electròlit, en kg/m^3, i M_1, el seu pes molecular, en kg/kmol. Per a electròlits de baix PM que experimenten ionització total, la concentració molar fa referència a totes les espècies presents en la dissolució. Per a les sals ionitzables, la pressió osmòtica té en compte el nombre total d'espècies i s'escriu com:

$$\Pi = \Sigma i \frac{R_g T C_1}{M_1} \tag{10.6}$$

on Σi és el nombre de ions formats per mol de sal, per exemple, per NaCl, $\Sigma i = 2$, per $Ca(Cl)_2$, $\Sigma i = 3$, etc. Per a polímers dissolts en solvent (com ara PVA, PVP, en aigua), la pressió osmòtica ve donada per una equació virial de la forma següent (Billmeyer, 1962):

$$\Pi = \frac{RTC_1}{M_n}\left(1 + \Gamma C_1^2 + \ldots\right) \tag{10.7}$$

Per a proteïnes amb alta força iònica, l'expressió pràctica que s'utilitza en ultrafiltració és la següent:

$$\Pi = AC + BC^2 + DC^3 + \ldots \tag{10.8}$$

Per a la UF de solucions de proteïnes, McCabe *et al*. (1993) fan servir l'expressió següent:

$$\Pi = 4{,}4 \times 10^{-3} C - 1{,}7 \times 10^{-6} C^2 + 7{,}9 \times 10^{-8} C^3 \tag{10.9}$$

on C és la concentració de proteïna en kg/m^3, i Π en bar. Cheryan (1998) dóna més expressions pràctiques. La taula 10.4 ofereix una petita recopilació de diversos soluts d'interès, que és útil per veure l'ordre de magnitud de la pressió osmòtica.

Taula 10.4 Pressió osmòtica d'algunes dissolucions aquoses filtració tangencial

Solut	**Concentració**	**Pressió osmòtica, bar**
Sacarosa	4,5 % sòlids	69
Extracte de cafè	28 % sòlids	34,0
Aigua de mar	3,45 % salinitat, 10ºC	23,2
Llet descremada	20-25 % proteïna	6,9
Lactosa	1 %	3,7
Etanol	14 %	9,9
Seroalbúmina bovina	44 % sòlids pH 7,4	4,8

Font: Cheryan (1998)

Caiguda de pressió a través de la membrana (pressió transmembrana). Convé distingir entre la caiguda de pressió deguda a fricció i la diferència de pressió associada al procés

d'UF. A la figura 10.1, veiem que la pressió d'entrada al mòdul és P_e, i la de sortida del concentrat és P_s. Aquesta diferència de pressió és deguda a la pèrdua de càrrega del fluid al llarg de la membrana. Veiem, a més, que la pressió del filtrat és P_p, que normalment és bastant més baixa que les altres. S'anomena PTM, o Δp, el gradient de pressió mitjà entre els dos costats de la membrana en condicions de treball a estat estacionari. Com que la pressió de l'alimentació varia entre el valor d'entrada, p_e i el de sortida, p_s, es pren el valor mitjà per calcular Δp. Així, Δp és la diferència de pressions als dos costats de la membrana, o pressió transmembrana PTM, és a dir:

$$\Delta p = p_m - p_p = \frac{p_e + p_s}{2} - p_p \qquad (10.10)$$

Amb aquesta definició, la membrana es considera que treballa a una única caiguda de pressió, que correspon a la pressió mitjana del costat de l'alimentació.

Ara bé, si els efectes de la pressió osmòtica són grans (sobretot pel costat de l'alimentació), l'Δp efectiva per al transport de soluts s'haurà de corregir d'acord amb les pressions osmòtiques dels dos costats, és a dir:

$$\Delta p = \left(p_m - p_p\right) - \left(\Pi_F - \Pi_p\right) = \left(p_F - p_p\right) - \Delta\Pi \qquad (10.11)$$

on Π_F i Π_p són les pressions osmòtiques de les dues dissolucions. Per al cas en què, per a una macromolècula, hi hagi rebuig total, R = 1, i els components de baix PM passin lliurement, R = 0, es pot considerar que el costat de baixa pressió és igual que el medi d'alta pressió en què està dissolta la macromolècula, és a dir, $\Pi_p = 0$.

A l'exemple 10.1, es calcula la pressió osmòtica en un cas i es veu com afecta la p efectiva.

Exemple 10.1 Pressió efectiva quan la pressió osmòtica és important.

Esteu purificant per ultrafiltració un antibiòtic de pes molecular moderat. La concentració molar de solut és de 0,10 kmol/m^3 i T = 298 K. La pressió aplicada a la solució és 5 bar. En aquestes condicions, el solut està completament retingut (R = 1). Considereu que el solut es comporta com una molècula no iònica i que el solvent és aigua pura. Quina és la pressió efectiva del procés?

Apliquem la fórmula de Van't Hoff, $\Pi = RTC$, on C s'expressa en kmol/m^3, i R_g= 0,0831 bar m^3/(kmol K), d'on:

$$\Pi = 0,0831 \times 298 \times 0,1 = 2,47 bar$$

$$\Delta\Pi = \Pi - 0$$

$$\Delta p - \Delta\Pi = 5 - 2,47 = 2,53 bar$$

10.2.2 Factor de retenció i propietats de la membrana

El factor de retenció o de rebuig d'un component *i* es defineix respecte a les concentracions del component a l'alimentació, F, i al filtrat, P, de la manera següent:

$$R = \frac{C_F - C_p}{C_F} = 1 - \frac{C_p}{C_F} \qquad (10.12)$$

Per descomptat, R és una propietat important de la membrana, ja que expressa el comportament de la membrana respecte dels components que reté o deixa passar. Per a la retenció total d'un component (per exemple, una macromolècula), $C_p = 0$ i, llavors, R = 1 per aquest component. Per a la retenció nul·la d'un component (per exemple, una sal), que travessa lliurement la membrana, $C_p = C_F$ i, llavors, R = 0. Els valors de R per als diversos components es determinen analitzant C_F i C_p en una alimentació i un filtrat simultanis, en una unitat d'UF de proves.

10.2.3 Membranes comercials

Una membrana ideal té tots els porus de la mateixa mida. Però, en la realitat, una membrana té una distribució estadística de diverses mides d'orifici, amb un valor mitjà i una desviació tipus. Això fa que R, en funció del PM, sigui una funció sigmoïdal com la de la figura 10.5. Idealment, voldríem que la funció acumulada fos un esglaó perfecte a un PM, però això no és possible en la realitat. Tanmateix, hi ha membranes en què el factor de retenció R *vs*. PM és bastant estret, mentre que d'altres tenen més dispersió. A la figura 10.6, representem la funció R *vs*. PM.

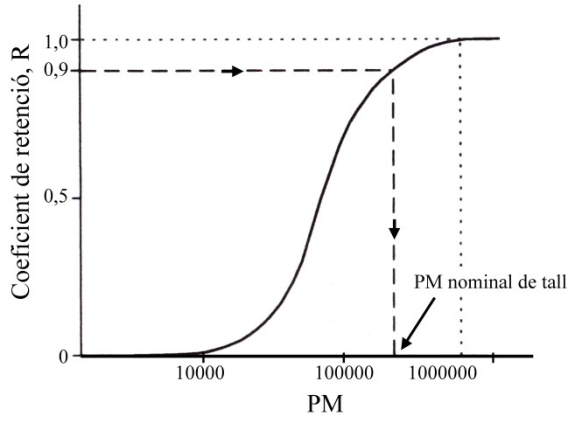


Fig. 10.5. Distribució de PM d'una membrana real. Idealment, el PM de tall seria un esglaó situat en un PM únic. A la pràctica, la membrana té una distribució estadística de porus. El coeficient de retenció R_{90} caracteritza el PM nominal de les membranes comercials

A la pràctica, els fabricants de membranes prenen unes macromolècules tipus (dextran, citocrom c, polivinilpirrolidona, etc.) i defineixen les membranes amb els valors de PM de tall. En anglès, aquest PM s'anomena NMWL (*nominal molecular weight limit*), que nosaltres traduïm per *valor PM nominal de tall* o, simplement, PM de tall. Si una membrana té un valor PM de tall de 30.000, això vol dir que reté *almenys* el 90 % de les molècules de pes molecular 30.000, a causa de la seva distribució estadística d'orificis.

Taula 10.3
PM i rebuig típic d'algunes macromolècules (%)
PM_{90} Biomax® PB (PES)

Solut	PM	5.000	10.000	30.000	50.000	100.000	300.000	500.000
Citocrom 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
Blau dextran	2.000.000	-	-	-	-	98	98	90

*Biomax® PB de Millipore a 3,9 bar (fins a PM < 50.000) i a 0,7 bar (PM 50.000 - 500.000)

Selecció de la membrana. A la taula 10.3, es donen els valors nominals o de tall d'un fabricant (Millipore, 1999). No farem una exposició exhaustiva de les membranes Millipore. Solament indicarem que hi ha membranes de dos tipus:

– d'acetat de cel·lulosa (o cel·lulosa modificada), o d'una alta recuperació, i

– de polièter sulfona (PES), o d'un flux elevat.

Tant si és per a UF com per a DF, cal saber triar la membrana. Millipore fa servir la classificació respecte al 90 %. Una membrana amb un PM_{90} donat retindrà, com a mínim, el 90 % d'un solut globular d'aquest PM. Observeu que aquesta eficàcia del 90 % implica que hi haurà un 10 % de pèrdua de solut a través de la membrana, que cal tenir en compte. Si aquesta pèrdua no és acceptable, s'haurà de triar una membrana que tingui un valor de PM_{90} més petit. Però, com més petit és el valor nominal de PM d'una membrana, més petit és el valor de flux que produeix. Per tant, cal examinar els fluxos, a mesura que el PM de tall va baixant. Millipore (1999) dóna una regla pràctica que resulta adequada, almenys inicialment. El millor és seleccionar una membrana de valor PM de tall "no més gran (però no molt més petit) que la meitat del PM" de la proteïna que es vol concentrar. És a dir:

$$PM\ de\ tall < \frac{PM\ proteïna}{2} \qquad (10.13)$$

Aquesta regla representa un compromís pràctic per la recuperació de la proteïna amb el temps mínim per filtrar. Vegem-ne un exemple. Suposem que volem aïllar una proteïna del tipus BSA (PM = 67.000). Triaríem una membrana de PM de tall de 30.000 (en comptes de 50.000, per exemple) com a membrana més eficient per concentrar i recuperar la proteïna de BSA.

A la taula 10.3, es dóna valors útils per fer aquesta tria (que s'ha de fer en determinades condicions de pressió, etc.). Com que les taules donen valors corrents amb certes polímers i proteïnes, poden ser diferents en el cas del nostre problema. Altres factors que influeixen en el funcionament de la membrana són la força iònica, la temperatura, el pH, la concentració de treball, les conformacions especials de la macromolècula (glòbuls, fibres, varetes), etc. La decisió final, però, dependrà de l'experimentació.

Taula 10.4
Filtració tangencial, model de resistències en sèrie: valors de R, bar/(m/h)

Molècula/solut	Membrana	R_M	R_C	R_{gel}
BSA, sang	PVA	0,6	1,6	0,15
Albúmina	PES	5,1	92	9,1
Fruit de la passió	PES	2,7	19	14,0
PVP 360 M (2 %)	PES	1,4	79	67
Midó	PES	6,8	27	49

Font: Adaptat de Cheryan (1998), PES = polietersulfona, PVA = alcohol polivinílic, PVP = polivinilpirrolidona, R_M = membrana, R_C = tortó, R_{kg} = gel

10.2.4 Disseny del procés d'UF

Així doncs, encara que sigui de manera orientativa, podrem triar la membrana. Ara interessa calcular el flux que en podrem obtenir. Aquest representa el cabal horari de filtrat per m^2 de membrana, que normalment s'expressa en m^3/m^2 h (= m/h), o bé en les unitats habituals (L/m^2h o mL/cm^2h) –en unitats del sistema internacional, m/s. Els fluxos habituals que podem tenir són de 5 a 150 L/m^2h (v. taula 10.2). Aquests fluxos són per a pressions del costat de la membrana de 2 a 10 bar. Si disposem de totes aquestes dades, podem dissenyar la unitat sense gaires problemes. Però, al final, sempre hem de provar el procés a escala semiindustrial i fer-ne un disseny sobre la base del canvi d'escala.

Els factors que determinen el flux són, específicament, la turbulència, la pressió, el cabal i la viscositat, i, per tant, la temperatura, com ja veurem.

Dues teories permeten calcular el flux de difusió a través de la membrana: la de les resistències, basada en la teoria de la filtració frontal, i la de la transferència de massa amb circulació tangencial o de polarització. Les veiem a continuació.

10.3 Models de transport de solut a través de la membrana

El flux a la membrana es pot calcular mitjançant el model de resistències en sèrie i el model de difusió, que té en compte la transferència de massa al costat d'alta pressió de la membrana.

10.3.1 Model de resistències en sèrie: càlcul del flux

La teoria de la filtració convencional diu que la velocitat de permeació depèn directament de la caiguda de pressió, Δp, i inversament de la resistència del llit filtrant compost (tortó+ membrana). Ho escrivim de la forma següent:

$$J = \frac{\Delta p}{R_T} \tag{10.14}$$

on R_T és la resistència total. En la teoria general de la filtració frontal, R_T és igual a la suma de les resistències individuals, és a dir, la membrana mateix i el material dipositat sobre la tela o tortó. Per a nosaltres, una de les resistències equival a la de la capa de polarització. Així:

$$J = \frac{\Delta p}{R_M + R_c} \tag{10.15}$$

que té el seu equivalent físic en la llei de Darcy, de la qual tractarem més endavant, quan vulguem descompondre l'equació anterior. A l'equació 10.15, R_M és la resistència de la membrana i R_C és la resistència deguda a la polarització del solut, i s'han determinat experimentalment. R_M es determina per aigua pura, és a dir:

$$R_M = \frac{\Delta p}{J_{H_2O}} \tag{10.16}$$

En canvi, R_C depèn de les partícules que estem filtrant i és proporcional a la Δp, cosa que cal esperar de la teoria de la filtració. Incorporant els dos efectes a l'equació anterior, tenim:

$$J = \frac{\Delta p}{R_M + R_C \Delta p} \tag{10.17}$$

A baixes caigudes de pressió, el terme de R_C és molt més petit que R_M. Això correspondria al flux proporcional a Δp. En canvi, a altes pressions, aquest terme és molt gran i explicaria que el flux es faci insensible a la caiguda de pressió per a valors de Δp grans, com s'observa en la realitat.

Com veurem més endavant, la teoria de la transferència de massa a la membrana explica, primer, la dependència de Δp i, després, la dependència de la velocitat del fluid a Δp gran.

Valors de la permeabilitat. Ladisch (2001) considera que el valor de permeabilitat està relacionat amb les resistències, cosa ben lògica. La permeabilitat de membrana es defineix com un coeficient de transmissió, L_m, que incorpora la resistència de la capa de gelificació (v. model de gelificació):

$$J = L_m \Delta p \tag{10.18}$$

$$L_m = \frac{1}{R_M + R_C + R_{gel}} \tag{10.19}$$

Cheryan (1998) dóna un conjunt de valors de les resistències que contribueixen a L_m, tal com s'indica a la taula 10.4 per a membranes, i macromolècules. A partir d'aquests valors, se'n poden calcular les permeabilitats corresponents, fent servir l'equació 10.18 anterior i el flux.

La teoria de la permeabilitat basada en les resistències en sèrie explica una part del flux: la part proporcional a Δp i també la part constant. Però no explica com és que el flux augmenta amb la velocitat en la part constant. Per a això, necessitem la teoria de la transferència de massa.

10.3.2 Model de transferència de massa: càlcul del flux

Una membrana d'ultrafiltració es caracteritza no sols pel PM nominal sinó també seu flux, el percentatge de retenció i la concentració del filtrat d'un component de referència. Les hipòtesis que fem per desenvolupar la teoria de la polarització són:

- No hi ha dipòsits (membrana neta).
- No hi ha polarització.
- És aplicable a aigua pura.
- El flux és laminar en els porus.
- R = 1 pel component d'interès.

L'equació que dóna el fluxos deriva de l'equació de Hagen-Poiseuille per a flux laminar, que és:

$$J = \frac{(\Delta p - \Delta\Pi) d^2 \varepsilon}{32 L \tau \mu} \tag{10.20}$$

En el sistema internacional, els símbols són: J és el flux i s'expressa en m^3/m^2s o m/s; d és la grandària dels porus, en m; τ és el factor de tortuositat dels porus; L és la longitud del porus, en m; μ és la viscositat, en Pa·s, i ε és la fracció buida de la membrana, i es pot escriure com:

$$J = L_m (\Delta p - \Delta\Pi) \frac{\mu_{H_2O}}{\mu} \tag{10.21}$$

on L_m és la permeabilitat de la membrana, en m/s/bar; μ_{H2O} és la viscositat de l'aigua, i μ, la viscositat del fluid actual. A l'apartat 10.3.1, hem avaluat L_m en funció de les resistències, amb un model de resistències en sèrie i, per tant, podem fer servir L_m amb confiança. Vegem com intervé ara en la polarització.

10.3.3 Polarització i concentració de gelificació

Considerem una membrana de superfície la unitat A = 1 m^2 (v. figura 10.6). Suposem el flux J a l'estat estacionari de solvent cap a la dreta, en sentit de x > 0. En estat estacionari, el flux del solvent J és igual al que permea pel costat dret de la membrana. Però les concentracions de solut estan afectades per la polarització de la membrana. El transport

de solut per a x = abans d'entrar a la capa límit val JC. Tanmateix, a prop de la membrana, entre x = 0 i x = δ, hi ha un corrent de solut en sentit negatiu (x < 0), degut al corrent de difusió causada per la polarització, de manera que, passada la membrana, el transport de solut valdrà JC_p, essent $C_p < C$. Volem ara calcular el perfil de concentració de solut a la capa límit a prop de la membrana. Per a això, fem balanç de solut, en estat estacionari. Serà:

- transport convectiu de solut, JC
- transport difusional de solut en sentit contrari, -D dC/dx
- transport convectiu de solut a la dreta de la membrana, JC_p

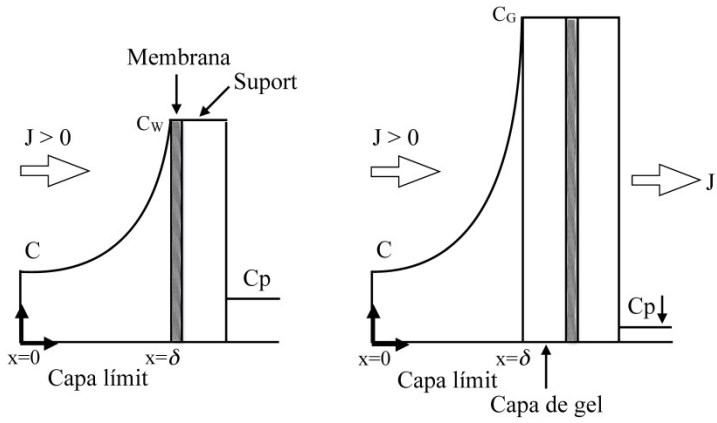


Fig. 10.6. Polarització de la membrana. *a*) membrana neta, *b*) membrana amb una capa de gel. Les corbes són els perfils de C(x) a la capa límit. C(0) és la concentració a la solució; C_w és la concentració a prop de la membrana, i C_G és la concentració de gelificació. J representa el flux de solvent a través de la membrana. El flux tendeix a zero a C quan C →C_G, i és màxim quan C →0

En règim estacionari, els fluxos nets de solut cap a la membrana, i el que surt d'ella, han de ser iguals, és a dir:

$$JC - D\frac{dC}{dx} = JC_p \qquad (10.22)$$

o bé:

$$D\frac{dC}{dx} + J(C_p - C) = 0 \qquad (10.23)$$

que es pot integrar per separació de variables a la capa límit (0 < x < δ). Les condicions als extrems de la capa límit són:

$$C(x=0) = C \qquad C(x=\delta) = C_w \qquad (10.24)$$

El perfil de C a la capa límit serà:

$$\ln\frac{C_w - C_p}{C - C_p} = \frac{J\delta}{D} = \frac{J}{k_c} \qquad (10.25)$$

on k_c= D/δ és el coeficient de transferència de massa. Per al cas d'un solut que sigui retingut totalment, R = 1 i C_p = 0 i, per tant, la solució anterior es redueix a:

$$J = k_c \ln \frac{C_w}{C} \tag{10.26}$$

que dóna el flux local en funció de la concentració C del costat d'alta pressió. És a dir, el flux és proporcional a un coeficient de TM i el logaritme d'una relació de concentracions. Segons aquest model, el flux és més gran quan la concentració del solut C és més petita. El valor C_w és un paràmetre del model que representa la polarització en estat estacionari i defineix el quocient:

$$\beta = \frac{C_w}{C} = \frac{Conc\ membrana}{Conc\ liquid} \tag{10.27}$$

que s'anomena *relació de polarització* (quocient màxim de concentracions a una banda de la membrana).

Com que R = 1, hi ha un transport convectiu del solut cap a la membrana, però aquesta actua de barrera i, per tant, la concentració del solut a prop de la capa límit al costat de la membrana produeix una concentració de solut augmentada, en què $C > C_w$. Aquest fenomen s'anomena *polarització*. Així doncs, a l'esquerra de la membrana hi ha un transport per convecció cap a la membrana i un transport de difusió en sentit contrari, que frena la convecció del solut.

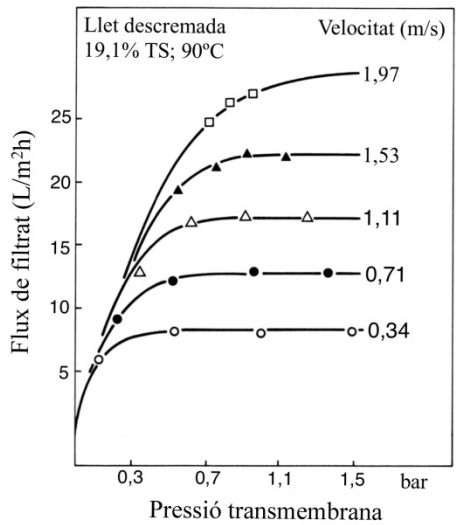


Fig. 10.7
Ultrafiltració de llet descremada (19,1 % sòlids, 90ºC). El flux a cada velocitat primer depèn linealment de Δp, i després s'aplana i es fa independent de la pressió. El flux més gran s'obté a més velocitat del fluid.

Les equacions anteriors donen el flux en funció de Δp (v. equació 10.15) i diuen que, en principi, el flux és directament proporcional a Δp. Per tant, una gràfica de J en funció de Δp ha de donar una recta que passa per l'origen, com s'indica a la figura 10.7. Tanmateix, per a fluids que contenen cèl·lules o proteïnes, el flux de permeació és lineal amb Δp, però de seguida es fa constant independent de la pressió, i no augmenta més. En concentracions de proteïna importants, es deixa de complir l'equació de Hagen-Poiseuille i el flux arriba a una asímptota. Aquest comportament és degut al rebuig de la proteïna i a la polarització de la membrana que impedeix el flux. Aquest efecte és originat per la for-

mació d'una capa de proteïna gelificada que imposa una resistència addicional a la polarització (v. figura 10.6). Si ara augmentem la velocitat del líquid paral·lelament a la membrana i/o n'augmentem la temperatura (que fa baixar la viscositat), podrem recuperar l'augment de flux. A la figura 10.7, es veu la zona en què el flux és lineal amb la pressió i la zona en què el flux és veu limitat per la transferència de massa (zona asimptòtica), que no depèn de Δp.

Aquesta hipòtesi de l'existència de la capa de gel s'ha verificat experimentalment.

Considereu J, en funció de la concentració de solut al costat d'alta pressió de la membrana. L'equació 10.26 suggereix que el flux J en funció de diferents valors de ln C ha de donar una recta de pendent negatiu, $-k_c$, que tendeix a ln C_G en extrapolar la recta a flux zero. Això indica que el valor de C_G és el màxim valor a què pot operar la membrana. Aquesta prova demostra que la teoria de la gelificació és correcta. Els valors de la taula 10.6 s'han obtingut d'aquesta manera per Cheryan (1998). A continuació, donem l'exemple 10.2 per veure com es tracten les dades per fer l'extrapolació de l'equació del model del gelificació (v. equació 10.26). Els valors usuals de C_G estan entre el 20 i el 30 % en pes.

Taula 10.6
Concentració de gelificació de proteïnes determinada per UF

Solut	**Concentració de gel, C_G, % en pes**
Llet	20-25 %
Sèrum àcid	30 %
Sèrum dolç	20-28 %
Gelatina	22-30 %
Clara d'ou	40 %
Extracte soja sense greix	20-25 %
Llet crua (3,5 % greix)	9-11 %

Font: Cheryan (1998)

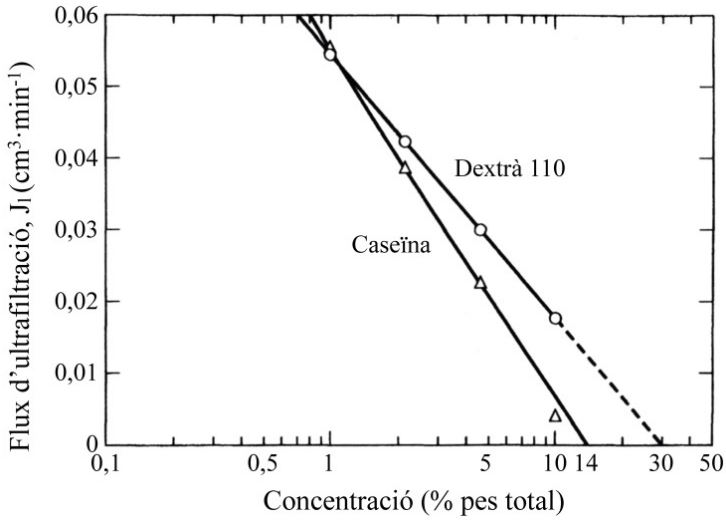


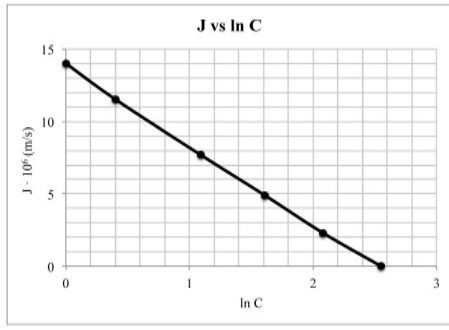
Fig. 10.8
Càlcul de la C_G per extrapolació a J = 0 *vs.* log C, de caseïna i dextrà per UF. Els valors del C_G són entre el 15 i el 30 % del pes per a molts col·loides. Adaptat de Harrison *et al.* (2003)

Exemple 10.2 Flux en funció de la concentració: concentració òptima.

Una dissolució d'un enzim es concentra per ultrafiltració. El flux a través de la membrana en funció de la concentració d'enzim a cada moment és el següent:

C, mol/m^3	1,0	1,5	3,0	5,0	8,0
Flux J × 10^6, m/s	14	11,5	7,7	4,9	2,3

Suposant el model de gelificació, a prop de la membrana:



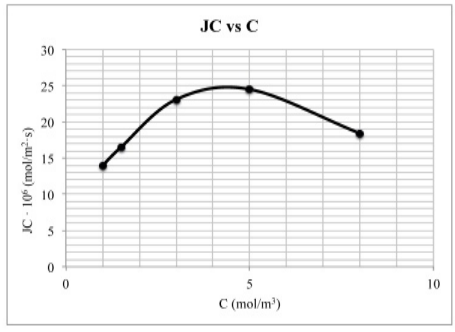


Fig. Exemple 10.2. Gràfics: *a*) *J vs. ln C* i extrapolació de C_W i C_G, *b*) determinació aproximada de l'òptim representant *JC vs. C*. La producció màxima és a C ~ 4,8 kg/m^3

Calculeu:

a) El coeficient de transferència de massa.

b) La concentració C_G d'aquest enzim.

c) Quin és el valor màxim del flux expressat en L/m^{2}h, i observeu si és dins els valors normals.

d) La concentració òptima que fa la producció màxima i compareu-la amb l'òptim donat per Coulson i Richardson (2002).

a) Segons el model de gelificació, el flux ve donat per l'equació 10.26, on C_w i k_c són els paràmetres del model. Si reordenem l'equació 10.26, podem escriure-la com una recta:

$$J = k_c \ln C_w - k_c \ln C$$

que ens indica que, per parelles de punts J *vs*. ln C, s'obté una recta de pendent $-k_c$, i ordenada a l'origen, $J_{màx}$ corresponent a ln C = 0. Calculem les parelles de punts i tindrem els fluxos en funció de ln C:

Flux × 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 es representen a la figura de l'exemple 10.2, que ens permet traçar la recta de regressió de pendent negatiu, $-k_c$, d'on $k_c = 5{,}27 \times 10^{-6}$ m/s. Extrapolant a J = 0 (eix abscisses) tenim, d'una banda, ln C_W = ln C_G = 2,55, és a dir, C_G = 12,8 mol/m^3. Per tant, el flux expressat en unitats del sistema internacional seria:

$$J = 5{,}27 \times 10^{-6} \ln \frac{12{,}8}{C}$$

amb J en m/s i C en mol/m^3.

b) El valor màxim de J és 14×10^{-6} m/s a C = 1mol/m^3, que, expressat en les unitats habituals, és:

$$J = 14 \times 10^{-6}\ m/s = 0{,}05\ m/h = 50{,}4\ L/m^2\ h$$

que és un valor normal per a la UF (v. taula 10.2).

c) El flux màxim correspon a una C mínima. D'altra banda, el flux es fa zero a una C màxima. Per tant, hi ha d'haver un màxim del producte JC a una concentració intermèdia. Aquest representa el valor màxim del flux del component que es transporta. Per veure què representa JC, vegeu la part esquerra de la figura 10.6. Així doncs, representarem JC *vs*. C i hi trobarem l'òptim.

que es representa a la figura de l'exercici 10.2.2. Com s'observa, el màxim correspon a C ~4 - 5 mol/m3, a falta de valors experimentals de C més propers. Segons Coulson i Richardson (2002), el valor òptim és $C_{opt} = C_G/e$ = 4,7 mol/m^3, que és a prop del valor que s'ha trobat gràficament.

C enzim, mol/m^3	1,0	1,5	3,0	5,0	8,0
J × 10^6, m/s	14	11,5	7,7	4,9	2,3
JC × 10^6 mol/m^{2}s	14	16,50	23,1	24,5	18,4

10.3.4 Coeficients de transferència de massa

Per al règim laminar, no tenim cap altra referència que el problema de Graetz-Nusselt, de règim laminar per a conductes circulars amb dissolució de la paret, que evidentment no és el cas de la UF, però és similar. Els treballs clàssics estableixen que

$$Sh = 1,62\left(\mathrm{Re}\,Sc\frac{d_h}{L}\right)^{1/3} \tag{10.28}$$

on Sh, Re i Sc són els nombres de Sherwood, Reynolds i Schmidt, respectivament, definits com:

$$Sh = \frac{k_c d_h}{D_{12}} \qquad \mathrm{Re} = \frac{v d_h \rho}{\mu} \qquad Sc = \frac{\mu}{\rho D_{12}} \tag{10.29}$$

on d_h és el diàmetre hidràulic i v és la velocitat del fluid per dins del tub. Així, tenim, per a *règim laminar*, Re < 2.000-4.000:

$$k_C = 1,62\left(\frac{vD_{12}^2}{d_h L}\right) \tag{10.30}$$

Per a règim laminar, autors més moderns (Van den Berg *et al*., 1989) han estudiat el transport de massa en conductes d'ultrafiltració específicament i corregeixen els coeficients d'osmosi inversa. Per a règim laminar, avui dia s'accepten les correlacions de Graetz-Lévêque, similars a les equacions 10.22 pels exponents, amb un coeficient lleugerament diferent:

$$Sh = 1,86\,\mathrm{Re}^{0,33}\,Sc^{0,33}\left(d_h/L\right)^{0,33} \tag{10.31}$$

Per a règim turbulent, Re > 2.000-4.000, amb Sh donat per la correlació de Dittus-Boelter (McCabe *et al*., 1993) o altres, $Sh=0,023\mathrm{Re}^{0,8}Sc^{0,33}$, de la qual s'obté, per a sistemes tubulars circulars:

$$k_c = 0,023\frac{v^{0,8}D_{12}^{0,67}}{d_h^{0,2}}\left(\frac{\rho}{\mu}\right)^{0,47} \tag{10.32}$$

i, per a tubs de secció quadrada, b = costat del tub substitueix el diàmetre hidràulic a l'equació anterior. L'exemple 10.3 il·lustra com s'hi apliquen les correlacions. Per a proteïnes, els nombres de Sc són molt superiors als d'osmosi inversa i , llavors, hi ha dues opcions: 1 < Sc < 1.000 (Deissler) i Sc > 1.000 (Harriott-Hamilton), essent les correlacions, respectivament:

$$Sh = 0,023\,\mathrm{Re}^{0,875}\,Sc^{0,33} \qquad Sh = 0,0096\,\mathrm{Re}^{0,91}\,Sc^{0,35} \tag{10.33}$$

Exemple 10.3 Coeficients de transport de massa a través de correlacions.

La concentració del líquid és d'1,2 % de sòlids i la de gelificació del polímer, de 2,5 % en pes. La densitat del líquid és de 1.000 kg/m^3; la viscositat, d'1,5 mPa·s, i la difusivitat del solut és de 5,6 × 10^{-11} m^2/s. Volem estimar el coeficient de transferència de massa per a la instal·lació de membranes tubulars. La velocitat transversal del fluid és de 2,0

m/s. Els mòduls són de feix de tubs de membrana de 2,4 cm de diàmetre interior i 2 m de longitud. *a*) Calculeu el coeficient k_c que podem tenir per a correlacions de Sc > 1.000 i el flux de solvent que tindrem. *b*) Compareu el valor obtingut amb correlacions específiques per a tubs circulars. *c*) Compareu-ne els resultats amb la regla empírica d'Ottens *et al*. (2011), que dóna $k_c/v = 10^{-5}$.

Les dades del problema són $C_G = 25$ kg/m^3, $\rho = 10^3$ kg/m^3, $\mu = 1{,}5$ mPa·s, $C = 12$ kg/m^3, $D_{12} = 5{,}6 \times 10^{-11}$. Vegem, primer, si el règim és turbulent:

$$\mathrm{Re} = \frac{v d_h \rho}{\mu} = \frac{2\left(2{,}4\times10^{-2}\right)10^3}{1{,}5\times10^{-3}} = 32.000 \textit{turbulent}$$

Per saber quina correlació aplicar, calculem Sc:

$$Sc = \frac{\mu}{\rho D} = \frac{1{,}5\times10^3}{10^3 5{,}6\times10^{-11}} = 26.780 > 1.000$$

Per a Sc molt gran, apliquem la correlació de Harriott-Hamilton:

$$Sh = \frac{k_c d_h}{D_{12}} = 0{,}0096\,\mathrm{Re}^{0{,}91}\,Sc^{0{,}35}$$

d'on Sh val:

$$Sh = \frac{k_c d_n}{D_{12}} = 0{,}0096\times\left(32\times10^3\right)^{0{,}91}\left(26.780\right)^{0{,}35} = 4.282$$

Així doncs, aclarint $k_c = 9{,}99 \times 10^{-6}$ m/s ~10^{-5} m/s.

b) Vegem quant val k_c/v:

$$\frac{k_c}{v} = \frac{10^{-5}}{2} = 0{,}5\times10^{-5}$$

que s'aproxima al valor recomanat per aquests autors (1×10^{-5}, Ottens *et al*., 2011).

c) El valor de J, amb el valor calculat de k_c, serà:

$$J = 10^{-5}\ln\frac{25}{12} = 0{,}73\times10^{-5}\ m/s = 26{,}2\ L/m^2\ h$$

Per als valors de correlacions en tubs (v. equació 10.32), k_c dóna, per a règim turbulent:

$$k_c = 0{,}023\frac{v^{0{,}8}D_{12}^{0{,}67}}{d_h^{0{,}2}}\left(\frac{\rho}{\mu}\right)^{0{,}47}$$

$$k_c = 0{,}023\frac{2^{0{,}8}\left(5{,}6\times10^{-11}\right)^{0{,}67}}{\left(2{,}4\times10^{-2}\right)^{0{,}2}}\left(\frac{10^3}{1{,}5\times10^{-3}}\right)^{0{,}47} = 0{,}66\times10^{-5}\ m/s = 16{,}3\ L/m^2\ h$$

que representa un flux un 40 % més petit que l'anterior. Això demostra que no podem confiar gaire en els valors estimats per correlacions. Per tant, és necessari experimentar-ho a la planta pilot.

Exemple 10.4. Ultrafiltració de sèrum de formatge: predicció del flux *vs.* Δp

Volem predir el flux de la UF per a cada Δp, per a una dissolució de proteïnes que té una certa influència de la pressió osmòtica. Tenim una membrana tubular (diàmetre interior d_h= 2 cm), per a la qual el flux ve donat pel coeficient de permeabilitat de la membrana (*vid. infra* valor de L_m). Les proteïnes del sèrum tenen una difusivitat de 4×10^{-11} m^2/s. La pressió osmòtica ve donada per l'equació 10.9 del text, on C és la concentració sobre la membrana C_w, en kg/m^3. Calculeu la corba de flux *vs.* Δp quan la concentració de proteïna és de 10 kg/m^3. Suposeu una concentració de gelificació del 40 % en pes i que, per a les proteïnes del sèrum, el coeficient de rebuig és del 100 %. Utilitzeu la teoria de polarització de la membrana i l'equació de Hagen-Poiseuille per a una membrana neta, amb L_m = 250 $L/(m^2\ h\ bar)$. Preneu una velocitat de circulació del fluid d'1,5 m/s, i la densitat i la viscositat de l'aigua. En aquestes condicions, Re és turbulent i Sh val 4.000.

Les equacions del flux que necessitem són l'equació 10.9, que dóna la Π (C_W); l'equació 10.21, en termes de Lm, i l'equació 10.26. Per aquesta, necessitem avaluar k_c, que ho farem a partir de la definició del nombre de Sh del qual sabem el valor (Sh = 4.000)

1) Determinem k_c a partir de Sh:

$$k_c = \frac{ShD_{12}}{d_h} = \frac{4.000 \times 4 \times 10^{-11}}{0,02} = 0,8 \times 10^{-5}\ m/s$$

2) Prenem ara un valor de J qualsevol, entre 10-100 L/m^2h, per exemple J = 36 L/m^2h, per al qual volem trobar Δp. Per a aquest valor, el flux valdrà:

$$J = 36 \times 10^{-3} / 3.600 = 10^{-5}\ m/s$$

3) Calculem el paràmetre C_w de l'equació del model de gelificació:

$$k_c \ln \frac{C_w}{C} = 10^{-5} \qquad \ln \frac{C_w}{C} = \frac{10^{-5}}{0,8 \times 10^{-5}} = 1,25$$

d'on, per a C = 10 kg/m^3, C_w valdrà uns ~36 kg/m^3.

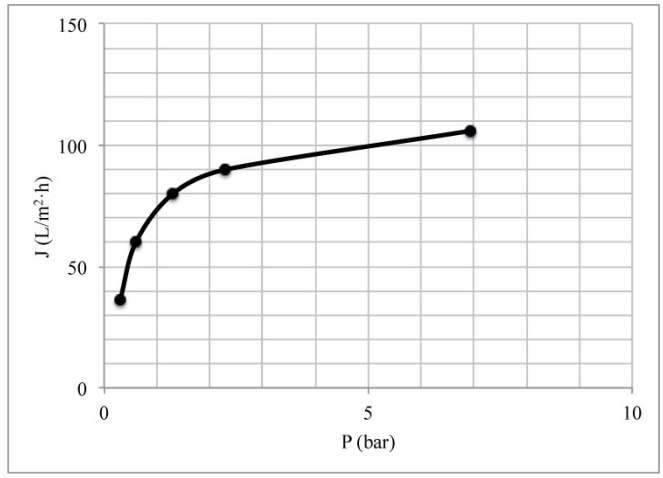


Fig. Exemple 10.4 Ultrafiltració de sèrum de formatge. El flux *vs.* la caiguda de pressió. El model té en compte la permeabilitat, el model de gelificació i la pressió osmòtica. Vegeu al text l'algoritme de càlcul

4) Amb aquest valor de concentració de polarització, podem calcular la pressió osmòtica corresponent a C_w .

$$\Pi = 4,4\times10-3\times36-1,7\times10-6\times36^2+7,9\times10-8\times36^3 = 0,162bar$$

Prenent $\Delta\Pi = \Pi$, tundrem

$$L_m = 250\,L/m^2\,hbar = 6,94\times10^{-5}\,m^3/m^2 sbar$$

que, junt amb l'equació del flux:

$$J = L_m\left(\Delta p - \Pi\right)$$

i la L_m de disseny, permet calcular ara Δp, és a dir:

$$\Delta p - \Pi = \frac{J}{L_m} = \frac{10^{-5}}{6,94\times10^{-5}} = 0,144bar$$
$$\Delta p = 0,144 + 0,162 = 0,306bar$$

Repetint els càlculs per a altres J tindrem els valors de la taula següent, per a C = 10 kg/m^3.

C_w, kg/m^3	J, L/m^{2}h	$\Delta\Pi$, 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

que representen gràficament el flux *vs*. la caiguda de pressió, Δp, a la figura de l'exemple 10.4. La taula anterior indica que hi ha una pressió osmòtica apreciable i que, a partir de Δp superior a 6 o 7 bar, el flux no augmenta molt més. Caldrà, llavors, augmentar k_c disminuint la viscositat del fluid, augmentar la velocitat, augmentant la temperatura, etc., per tal de millorar el coeficient de TM.

10.4 Microfiltració

La microfiltració (MF) és el procés de separació per membrana més antic. Es feia servir dècades abans que l'osmosi inversa. Originàriament però, es feia frontalment. Actualment, és un procés de filtració tangencial. S'aplica a partícules de mida compresa entre 0,02 μm i 10 μm, als sectors següents:

- Alimentació i begudes
- Collita de cèl·lules i residus cel·lulars
- Tractament d'aigua residual (polímers en emulsió i dispersions)

En biotecnologia, s'aplica a la recuperació de cultius cel·lulars concentrant-los fins al 10 % en pes (de vegades, fins al 60-70 %, si les partícules són rígides). La recuperació és pròxima al 100 % i, per tant, a vegades el filtrat és completament transparent. Els processos competitius són la centrifugació i la filtració convencional. Un avantatge és que es pot fer en condicions estèrils.

Els fluxos inicials són molt elevats (de 150 a 600 L/m^{2}h) a una pressió modesta Δp = 0,5 a 1 bar. Un inconvenient és el rebliment, que cal eliminar de tant en tant durant una operació. Per a això, s'empra l'esbandit a contrapressió amb el mateix filtrat. Vegeu l'operació de MF a la figura 10.13.

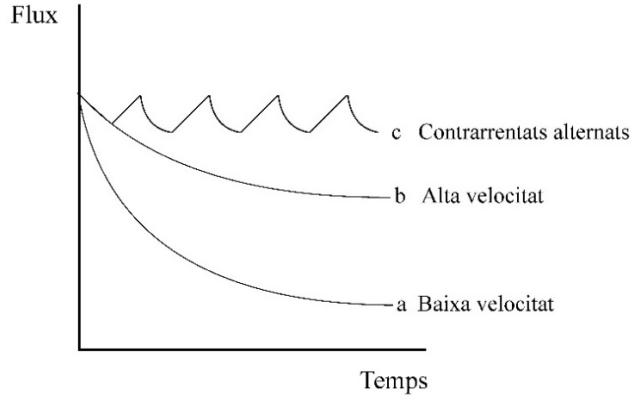


Fig. 10.13
Operació d'una unitat de microfiltració sotmesa a embrutiment de la membrana: *a*) a baixa velocitat tangencial, *b*) a alta velocitat tangencial i *c*) amb contrarentat amb filtrat

10.4.1 Flux de permeació en MF.

El flux de permeació de MF amb la membrana neta es pot analitzar amb la teoria de la filtració, sense tenir en compte la pressió osmòtica, ja que estem filtrant partícules insolubles. El flux es podrà calcular tenint en compte dues resistències. Vegeu l'equació 10.15, on R_m és la resistència de la pròpia membrana, m^{-1}; R_c, la resistència del tortó, m^{-1}; μ, la viscositat del filtrat, i Δp, la caiguda de pressió a través de la membrana.

La R_m es determina filtrant aigua pura a la mateixa caiguda de pressió i determinant-ne el flux. Així, podem obtenir R_m aplicant l'equació 10.10 a aquest cas.

La resistència del tortó la determinem mitjançant dues equacions. La primera és l'equació d'Ergun en règim laminar per a esferes(Kozeny-Carman, v. capítol 8):

$$-\frac{\Delta p}{L} = 150\frac{(1-\varepsilon)^2}{\varepsilon^3}\frac{\mu u}{d_p^2} \tag{10.34a}$$

$$-\Delta p = 150\frac{(1-\varepsilon)}{\varepsilon^3}\frac{\mu J}{d_p^2}\frac{V_p}{A} \tag{10.34b}$$

Observeu que la velocitat superficial és igual, en realitat, al flux de filtració, J, i dp és la mida de la partícula. La segona equació que utilitzem és la del volum de partícules en el tortó, que ens diu que la massa de partícules en aquest equival a la massa de partícules capturades del filtrat de volum V_f, és a dir:

$$m_p = V_f X_\rho = AL(1-\varepsilon)\rho_p \tag{10.35}$$

on X és la fracció de partícules en el brou a filtrar i Vp és el volum del tortó. A l'equació anterior, fem ara la hipòtesi que les densitats del brou i de les partícules són iguals. Substituint L de l'equació 10.35 a l'equació 10.34, amb la hipòtesi de densitats iguals, obtenim l'expressió següent de Δp:

$$-\Delta p = 150\frac{(1-\varepsilon)}{\varepsilon^3}\frac{\mu J}{d_p^2}\frac{V_p}{A} \tag{10.36}$$

d'on podem aclarir J i trobar la resistència del tortó en funció del seu volum. Definim la resistència específica del tortó com:

$$\mathbf{r} = 150\frac{1-\varepsilon}{\varepsilon^3 d_p^2} \tag{10.37}$$

Llavors, el flux J, amb la resistència **r**, valdrà:

$$J = \frac{\Delta p}{\mathbf{r}\mu V_p / A} \tag{10.38}$$

en què la resistència total del tortó la podem escriure com:

$$R_c = \mathbf{r}\frac{V_p}{A} = \mathbf{r}\lambda \tag{10.39}$$

Així doncs, tenim les resistències R_{am} i R_{CP} per poder calcular el flux en funció del gruix del tortó, que serà: $\lambda = v_p/A$.

A continuació, veiem l'exemple de Ghosh (2006), que posa de manifest la importància de cada resistència.

Exemple 10.5 Microfiltració tangencial, estimació de les resistències.

Volem recuperar cèl·lules lliures d'*E. Coli* recombinants, que tenen una mida d'1 μm, fent servir una membrana de 100 cm^2. Durant la filtració tangencial, la capa estacionària sobre la membrana s'estima que té un gruix de 10 μm i una fracció buida de 0,4. Per determinar el flux en operació:

a) Es fa una prova amb aigua pura per calcular la resistència de la membrana, R_m, mesurant J_{H2O} amb una Δp de 0,5 bar, i el flux obtingut és de 10^{-4} m/s.

b) Calculeu la resistència del tortó (que afegiríeu a la de la membrana) i determineu el flux de microfiltració que obtindreu al filtre de 100 cm^2, fent servir la suspensió de cèl·lules.

Nota: Per a aigua pura, la viscositat és de 1,0 mPa·s i la del filtrat, de 2,0 mPa·s. En tots els casos, -Δp = 0,5 bar. La densitat dels microorganismes es pot suposar igual a la de l'aigua.

a) Calculem la R_m a partir de la MF d'aigua pura (equació 10.35):

$$J_{H_2O} = \frac{\Delta p}{R_m \mu} = \frac{50.000}{10^{-3} R_m} = 10^{-4}$$

d'on $R_m = 5 \times 10^{11}$ m^{-1}.

b) Calculem ara la resistència del tortó per a A= 100 cm^2, λ = 10 μm i ε = 0,4, d_p = 1 μm, densitats iguals (v. equació 10.37).

$$\mathbf{r} = \frac{150(1-\varepsilon)}{d_p^2 \varepsilon^3} \frac{\rho}{\rho_p} = \frac{150}{(10^{-6})^2} \frac{1-0,4}{0,4^3} = 1,406 \times 10^{15}\, m^{-2}$$

per a un gruix de tortó de 10 μm, tindrem:

$$R_c = 1,406 \times 10^{15} \times 10 \times 10^{-6} = 1,406 \times 10^{10}\, m^{-1}$$

El flux que tindrem per a 2,0mPa s, serà:

$$J = \frac{50.000}{\left(1,406 \times 10^{10} + 5 \times 10^{11}\right) 2 \times 10^{-3}} = 4,86 \times 10^{-5}\, m/s$$

que en les unitats habituals equival a 175 L/m^2h, bastant superior als fluxos d'ultrafiltració.

10.5 Operacions i processos de filtració tangencial en biotecnologia

Hi ha tres operacions habituals en biotecnologia, que són:

- Concentració del suc que conté la molècula o partícula d'interès. Es fa per càrregues amb recirculació del corrent de rebuig al tanc de mescla. La UF opera en condicions no estacionàries.
- Concentració en operació contínua en etapa única o multietapa. Opera en estat estacionari.
- Diafiltració (DF) en semicontinu. A fi d'eliminar les sals d'un suc o canviar-les per aigua pura, o canviar de tampó. La DF opera en condicions no estacionàries.

Estudiem aquests tres casos.

10.5.1 Procés de concentració: operació per càrregues amb recirculació

Considerarem que el flux de filtració ve donat pel model de gelificació o bé per una equació basada en la pressió osmòtica, si aquesta és molt important.

Per al cas de concentració, ens referim a la figura 10.10 en què hi una recirculació de concentrat al tanc i al flux de solvent a través de la membrana, amb una disminució de volum de la solució i la consegüent concentració del solut. Suposem que la membrana té una àrea A m^2. Considerem les condicions inicials, $V(t = 0) = V_0$ i $C(t = 0) = C_0$. A $t = t$, seran V(t) i C(t) funció de t, i en el al filtrat tindrem una concentració, $C_p = C_0(1\text{-}R)$. Fem les hipòtesis següents: El tanc d''alimentació està ben mesclat i la retenció de líquid a la membrana és negligible.

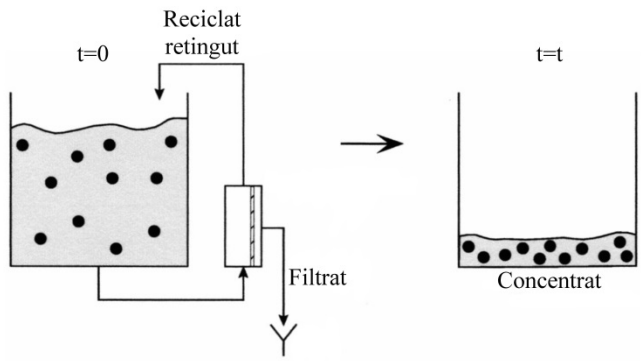


Fig. 10.9 Diafiltració amb reposició de fluid al tanc. S'hi pot addicionar un tampó o aigua. Les macromolècules i/o cèl·lules queden retingudes al tanc

Recordem que els valors de f i de η estan definits com:

$$f = \frac{V_0}{V} \qquad \eta = \frac{CV}{C_0 V_0} \tag{10.40}$$

i, per tant, seran variables amb t durant l'operació. Però, a la pràctica, interessen els valors finals, que determinen les prestacions del procés.

Equació de conservació del líquid total. El líquid total disminueix al tanc com a conseqüència del flux de filtratt a la membrana. Així doncs, l'equació de conservació de solvent és:

$$\frac{dV}{dt} = -AJ \tag{10.41}$$

on el flux ve donat pel model de gelificació com:

$$J = k_c \ln \frac{C_G}{C} \tag{10.42}$$

on C és la concentració d'operació de la membrana = a la concentració de solut del tanc a t = t. Per tant, J és funció de C.

Equació de conservació del solut. Com que, en general, hi ha una concentració de solut al corrent de filtrat, C_p, el balanç de solut serà:

$$\frac{d(VC)}{dt} = -JAC_p \tag{10.43}$$

que reflecteix que la disminució total de solut és deguda a la sortida de filtrat. C_p es por expressar en funció de R com C_p= C (1-R). La derivada de (VC) respecte de t és deguda al canvi de flux del solut i al canvi de volum degut a la sortida de solvent. Per tant, s'haurà de derivar com un producte. Així doncs, quedarà:

$$V\frac{dC}{dt} + C\frac{dV}{dt} = -JAC(1-R) \tag{10.44}$$

La derivada dV/dt val -AJ. Inserint aquest valor al membre de l'esquerra de l'equació 10.44 i aïllant dC/dt, aquesta queda com:

$$\frac{dC}{dt} = \frac{AJCR}{V} \tag{10.45}$$

en què C i V depenen de t, C(t) i V(t), i el flux J també depèn de t, a través de C; per tant, no admet integració analítica. Vegem com implementem una solució numèrica. Hi ha diverses maneres de fer-ho. La més normal és amb l'algoritme de Runge-Kutta. Doran (2012) ha resolt numèricament el sistema de les dues equacions diferencials no lineals de primer ordre (equacions 10.41 i 10.45), junt amb l'equació explícita (equació 10.42), que dóna J(C), avaluada a cada pas d'integració. Les condicions inicials són C = C_0 i V = V_0 per a t = 0. La representació del gràfic de Doran es dóna a figura 10.10. Les variables representades són la funció V/V_0 (= 1/f), com a ordenada, i el temps adimensional, Ak_ct/V_0, com a abscissa, i com a únic paràmetre C_G/C_0 que depèn del valor inicial, per a una proteïna donada. Vegeu el problema següent.

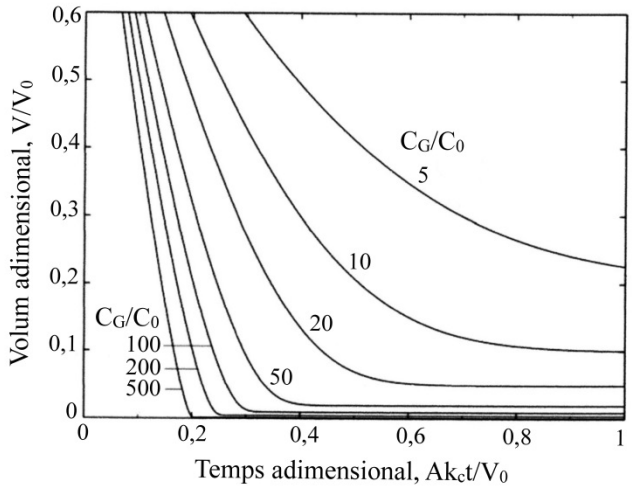


Fig. 10.10 Diagrama per calcular una operació de concentració per càrregues. V_0 i V són els volums inicials i finals al tanc. C_G/C_0 són les concentracions de gelificació de la proteïna i inicial, respectivament. El temps adimensional és Ak_ct/V_0. Adaptat de Doran (2012)

Exemple 10.6 Comparació d'un procés de concentració per càrregues amb un de continu.

Un volum de cervesa de 10 m^3 conté una concentració d'enzim de 0,6 kg/m^3, que volem concentrar per ultrafiltració amb un coeficient f = 5, fins a C = 3,0 kg/m^3. Per a la proteïna d'interès, la concentració de gelificació val 25 kg/m^3. El procés es porta a terme en un mòdul d'UF enrotllat en espiral, per al qual s'estima $k_c = 0,4 \times 10^{-5}$ m/s. La proteïna té un rebuig del 100 %. No hi ha embrutiment.

a) Fent servir una operació en discontinu amb recirculació, calculeu la superfície de membrana necessària, alimentant 10 m^3 en una hora.

b) Si portem el procés en continu en una unitat que treballi en estat estacionari, al mateix cabal (10 m^3/h), quina àrea d'UF necessitaríem?

a) El procés de concentració seria el de la figura 10.9. Els paràmetres de la figura 10.10 són:

$$\frac{C_G}{C_0} = \frac{25}{0,6} = 42 \qquad \frac{V}{V_0} = \frac{0,6}{3,0} = 0,2$$

Les lectures de les abscisses per a $C_G/C_0 = 50$ i 20 donen uns temps adimensionals = 0,25 i 0,37, respectivament. Interpolant entre aquests valors, tindrem que el temps adimensional, per a $C_G/C_0 = 42$, valdrà $\frac{Ak_ct}{V_0} = 0,27$, i l'àrea per a una hora de treball:

$$A = \frac{0,27 \times 10}{0,4 \times 10^{-5} \times 3.600} = 187 m^2$$

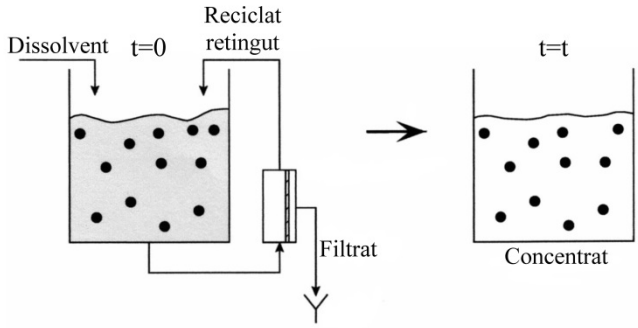


Fig. 10.11
Procés de concentració d'una càrrega de suc que conté macromolècules

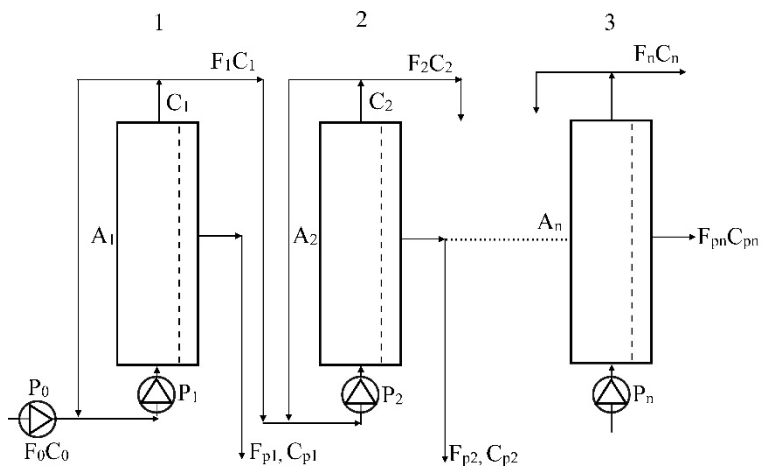
b) Si volem operar en continu, farem servir el diagrama de flux de la figura 10.12. Considerem el primer filtre sol. Les equacions que tindrem seran:

$$C_p = 0 \qquad F_1/F_0 = 0,2$$

$$F_p = F_0 - F_1 = JA$$

$$J = 0,4\times10^{-5} \ln\frac{25}{3,0} = 0,8\times10^{-5}\ m/s$$

i, per tant, l'àrea valdrà A = 280 m^2, bastant més que en discontinu. L'exemple 10.8 que es dóna més endavant demostra que aquesta àrea es pot reduir sensiblement amb dos filtres continus en sèrie.



P_0 bomba alimentació
$P_1, P_2 \ldots P_n$ bombes de recirculació

Fig. 10.12
Filtració en continu en estat estacionari, amb n filtres en sèrie, d'àrees A_1, A_2, ...A_n

10.5.2 Operació de concentració: procés per càrregues (amb recirculació) en cas de polarització = 1

Considerem el cas amb recirculació de la figura 10.11 anterior i que tenim una membrana de superfície A. Suposem ara que la polarització és petita, és a dir, que en qualsevol instant es verifica que Cw ≈ C. Llavors, el model de gelificació no permetrà aplicar l'equació 10.26. Alternativament, podem aplicar l'equació general, en què J ve donada per:

$$J = L_m\left(\Delta p - \Delta\Pi\right) \tag{10.46}$$

El nostre problema és, per a t = 0, V = V_0. Volem calcular el temps d'operació quan la pressió de treball està fixada, Δp = constant, però admetent que la pressió osmòtica varia amb el temps en variar V. Plantegem el balanç de volum total, fent servir el flux anterior i posant la pressió osmòtica (segons Van't Hoff) en funció del volum. Tindrem:

$$\frac{dV}{dt} = -AJ = -AL_m\Delta p\left(1 - \frac{R_g Tn}{V\Delta p}\right) \tag{10.47}$$

on n = CV = constant, massa de solut en el volum V a concentració C. Separant variables, tindrem:

$$\int_{V_0}^{V} \frac{VdV}{V - \dfrac{R_g Tn}{\Delta p}} = -AL_m\Delta p\int_0^t dt \tag{10.48}$$

que admet integració analítica. Així doncs, el temps d'operació serà:

$$t = \frac{1}{AL_m\Delta p}\left(V_0 - V + a\ln\frac{V_0 - a}{V - a}\right) \tag{10.49}$$

on:

$$a = \frac{R_g Tn}{\Delta p} \tag{10.50}$$

10.5.3 Procés de concentració en continu: 1 etapa o multietapes en sèrie

Quan necessitem concentrar grans volums, utilitzem una disposició d'aparells en continu, com es mostra a la figura 10.12. O fem servir una etapa, o n etapes seguides, en ambdós casos, operant en estat estacionari. Considerem l'operació de la primera unitat amb un reciclatge extern (v. figura 10.12). Aquesta operació en anglès s'anomena *feed-and-bleed* ("alimentació i purga"). Aquest reciclatge a través d'una bomba, Pn, provoca una alta velocitat de circulació de fluid tangencialment a la membrana i, per tant, un elevat coeficient k_c. La velocitat tangencial en UF és de l'ordre d'1 a 5 m/s i k_c, de l'ordre de 10^{-5} m/s.

Operem amb la unitat en estat estacionari. I l'operació té interès per recuperar la collita de concentrat. Podem establir les equacions bàsiques per a aquest cas, suposant que hi ha flux mesclat a la membrana.

Suposem que les densitats dels corrents són iguals. Considerem el primer filtre de la figura 10.12 a la dreta. Els símbols tenen subíndex 1. Les equacions de conservació de volum total i de component (solut) son:

$$F_0 = F_1 + F_{p_1}$$
$$F_0 C_0 = F_1 C_1 + F_{p_1} C_{p_1} \qquad (10.51, 10.52)$$

on F_0 i C_0 són el cabal i la concentració de solut del corrent d'alimentació, F_1 és el cabal i C_1 la concentració del concentrat, i F_{p1} i C_{p1}, el cabal i concentració del filtrat. Gràcies al gran corrent de recirculació provocat per la bomba de recirculació, a través del mòdul, les condicions a la membrana són de flux mesclat. Així doncs, preval a tota l'àrea una sola velocitat de filtració. L'equació que ens dóna el flux de filtrat a la membrana és:

$$F_{p_1} = JA_1 \qquad (10.53)$$

on el flux de filtració val:

$$J = k_c \ln \frac{C_G}{C_1} \qquad (10.54)$$

En estat estacionari i flux de mescla ideal, els valors de J i F_p romanen constants.

Com que les condicions d'operació fan que la membrana operi teòricament a la concentració de sortida, C_1, ja es veu que, comparant el sistema continu amb el sistema per càrregues, treballant al mateix valor final C_1, la producció d'un sistema continu amb una unitat amb recirculació serà menys eficient que un de discontinu. Per assolir la producció del discontinu, haurem d'instal·lar diverses unitats en sèrie (v. figura 10.12). Vegeu l'exemple 10.8, on es mostra com es calculen una unitat i diverses unitats en sèrie, i el valor de les àrees de filtració en cada cas.

Exemple 10.7 Ultrafiltració en continu: una unitat o dues unitats en sèrie.

Una planta d'ultrafiltració ha de tractar 50 m^3 cada dia d'una solució de proteïna que opera durant 20 h/dia amb un cabal de 2,5 m^3/h. El residu que s'ha de tractar conté 0,5 kg/m^3 de proteïna, que s'han de concentrar fins a 20 kg/m^3 i permetre reciclar al corrent principal del procés. Estudis preliminars a la planta pilot indiquen que el flux sobre la membrana ve donat (en m/h) pel model de gelificació amb una equació com ara:

$$J = 0,02 \ln \frac{30}{C}$$

en què C (en kg/m^3) és la concentració de treball del mòdul. Per evitar l'embrutiment de la membrana, el flux no pot excedir els 0,04 m/h.

a) Estudieu la possibilitat d'utilitzar una sola unitat d'UF amb alimentació i purga contínues.

b) Estudiar la possibilitat de reduir els requisits d'àrea fent servir dues etapes també amb alimentació i purga (v. figura 10.12).

Notes: Considereu flux ben mesclat en els mòduls. Els mòduls d'UF són tipus espiral i estan disponibles amb una àrea de 30 m^2/mòdul. Considereu la disposició d'unitats com la de la figura 10.12.

a) Considerem la primera etapa de la figura 10.12. Tindrem els valors següents:

$$F_0 = 2,5\, m^3/h \qquad C_0 = 0,5\, kg/m^3 \qquad C_1 = 20\, kg/m^3$$

Com que el flux màxim ha de ser de 0,04 m/h, la concentració mínima d'un filtre ha de ser:

$$0,04 = 0,02 \ln \frac{30}{C_{\min}}$$

d'on C_{min}= 4,06 kg/m^3. Per al primer filtre, no hi ha cap problema, ja que opera a C_1 = 20 kg/m^3. Vegem com treballa el primer filtre:

$$JA = F_p = F_0 - F_1 = 2,50 \times (1 - F_1/F_0) = 2,437\, m^3/h$$

d'on podem ja calcular A com:

$$A = \frac{F_p}{J} = \frac{2,437}{0,02 \ln \frac{30}{20}} \approx 300 m^2$$

Així doncs, farem servir una unitat formada per 10 mòduls espirals de 30 m^2 cadascun, connectats convenientment.

b) Calculem ara les dues unitats en sèrie de la figura 10.12. La segona unitat treballa a C_2 = 20 kg/m^3. Per a la primera unitat, ens queda el dubte de quina concentració C_1 utilitzar. El model de gelificació indica que, com més petita sigui C_1, més gran serà el flux. Però, com hem vist, la C_{min} ha de ser C_{min} = 4 kg/m^3. Agafarem un valor proper que minimitzi l'àrea. Per exemple, a prop del mínim, C_1 = 4,5 kg/m^3.

Equacions que tenim:

1) Conservació de solut:

$$F_0 C_0 = F_1 C_1 = F_2 C_2$$

2) Conservació de cabals:

$$F_0 = F_1 + F_{p_1}$$
$$F_1 = F_2 + F_{p_2}$$

d'on calculem els cabals següents en m^3/h:

$$F_0 = 2,5 \qquad F_2 = 0,062 \qquad F_1 = 1,24/C_1$$

Substituint els fluxos a les equacions anteriors, tindrem el sistema següent d'equacions per als dos filtres:

$$F_0 = 2,5 = \frac{1,24}{C_1} + A_1 \times 0,02 \ln \frac{30}{C_1}$$

$$F_1 = \frac{1,24}{C_1} = 0,062 + A_2 \times 0,02 \ln \frac{30}{20}$$

que és un sistema de dues equacions i tres incògnites, que té solució per A_1 i A_2 per a cada valor de C_1. Per tant, s'hauria d'optimitzar C_1, minimitzant les àrees. Però sabem que l'òptim de A_1+A_2 ha de ser prop de C_1 = 4-5 kg/m^3, concentració a la qual el flux de la primera unitat és màxim. Per tant, prenem com a solució acceptable C_1 = 4,5 kg/m^3. I tenim A_1= 59 m^2 i A_2 = 27 m^2

Per a dues etapes, la solució serà dos mòduls en espiral, de 30 m^2 cadascun, connectats en sèrie, seguits d'una segona etapa d'un sol mòdul, de 30 m^2. En total, 90 m^2, bastant menys que al cas *a*.

10.5.4 Procés de diafiltració: operacions de rentat o canvi de tampó

Aquesta operació és de les més importants en la separació o purificació de macromolècules. En la diafiltració, fem servir la mateixa instal·lació d'UF per substituir el medi solvent de les proteïnes per aigua pura o bé per un tampó convenient per a operacions posteriors. La instal·lació és la de la figura 10.11. Anem extraient el solvent inicial per la membrana, a un cabal de F_p, i alimentem aigua al tanc de mescla a un cabal igual, F_0 = F_p, per mantenir constant el volum del tanc (V = V_0), de manera que la concentració del component anirà disminuint en el tanc. Per a tots el components de baix PM, R = 0; per a components d'alt PM, R = 1; per tant, queden retinguts al tanc.

Volem calcular el perfil C(t) per a un component d'interès, per exemple, $(NH_4)_2SO_4$, o una altra sal o tampó, que volem rentar del tanc, mantenint el volum de líquid en aquest. Durant el procés, F_p serà constant i igual al cabal d'alimentació al tanc. Les condicions inicials són V(t = 0) = V_0 = constant, i C(0) = C_0. Sigui R el rebuig del component, és a dir, C_p = C(1-R). El balanç de sal a t = t serà:

$$V_0 \frac{dC}{dt} = -F_p C_p = -F_p C(1-R) \qquad (10.55)$$

que es pot integrar directament entre 0 i t, i C_0 i C. La concentració de la sal i del tanc a t = t serà:

$$C = C_0 \exp\left[-\frac{F_p t}{V_0}(1-R)\right] \qquad (10.56)$$

on F_pt = V_w és el volum total d'aigua o de tampó alimentat fins a t = t. L'equació 10.56 ens diu que el procés d'eliminació de la sal és exponencial. Si hi ha diversos components en el tanc, cadascun compleix una equació com la 10.56, amb el seu valor de R. Per a les sals, R_{sals} ~ 0,05 i, per a les macromolècules, R_{macro} = 0,95-1,0.

Exemple 10.8 Diafiltració.

Una instal·lació d'ultrafiltració que té una membrana que a la pressió de treball produeix un flux de 36 L/m^{2}h s'ha d'utilitzar per rentar $(NH_4)_2SO_4$, que està a C_0 = 2 kg/m^3. El tanc d'alimentació és de 0,1 m^3 i la superfície de membrana, de A = 1 m^2. Aquest conté proteïna que volem retenir durant el procés. Es renta amb aigua de procés de manera que es mantingui el volum del tanc a nivell constant addicionant aigua, fins que la concentració de sal sigui C = 0,2 kg/m^3.

a) Calculeu el temps necessari per rentar el 90 % de la sal per dia filtració.

b) Calculeu el percentatge de pèrdua de proteïna per ultrafiltració durant aquest temps.

Nota: L'operació es fa amb el *flowsheet* de la figura 10.11. La sal passa lliurement per la membrana, però la proteïna té una retenció del 98 %.

a) Apliquem el balanç de sal de les equacions 10.55 i 10.56 per a la sal, R = 0, $F_0 = F_p = JA = 36$ L/h = 10^{-5} m^3/s:

$$\frac{C}{C_0} = \exp\left(-\frac{F_0 t}{V_0}(1-0)\right) = \exp\left(-\frac{10^{-5} t}{0{,}1}\right) = e^{-10^{-4} t}$$

d'on, amb $C/C_0 = 0{,}2/2 = 0{,}1$, es troba t = 23.000 s = 6,3 h. Amb aquest temps tan llarg, podem perdre molta proteïna.

b) Per la proteïna, R_p = 0,98. L'equació 10.56 per a la proteïna serà:

$$\frac{C_p}{C_{p_0}} = \exp\left[-10^{-4} t(1-R_{p)}\right] = \exp\left[-10^{-4} \times 23.000 \times (1-0{,}98)\right] = 0{,}955$$

és a dir, es perdrà un 4,5 %.

10.6. Mòduls comercials premuntats per a filtració tangencial

Per a les operacions d'OI, UF i MF, les membranes es comercialitzen instal·lades en paquets o mòduls aptes per al funcionament. Les membranes es disposen en paral·lel i/o en sèrie formant un conjunt premuntat. La superfície és de 0,1 a 3 m^2, per a aplicacions de planta pilot o laboratori, i d'1 a 30 m^2, per a aplicacions industrials. Hi ha quatre tipus bàsics de mòduls:

1. Tubulars
2. Membranes planes
3. Enrotllades en espiral
4. Fibres buides

Es representen esquemàticament a la figura 10.14. En cada mòdul, interessa encabir l'àrea màxima de superfície de membrana per unitat de volum que ocupa la instal·lació. A la taula 10.7, s'especifiquen les característiques i la composició de les membranes actuals.

Taula 10.7
Membranes comercials: mòduls i característiques

Mòdul*	**Àrea instal·lada, m^2/m^3**	**Cost relatiu**	**Control de la polarització**	**Aplicacions****
Cartutx	800-1.000	baix	dolent	MF
Plat-i-marc	400-800	mitjà	bo	MF, UF, OI, D, ED
Espiral	800-1.200	baix	bo	UF, OI, GS
Tubular	20-100	molt gran	molt bo	MF, UF, OI
Capil·lar	600-1.200	baix	molt bo	UF, MF, D
Fibres buides	2.000-5.000	molt baix	molt dolent	OI, GS

* Vegeu la figura 10.14. ** D = diàlisi, ED = electrodiàlisi, GS = separació de gasos, MF = microfiltració, OI = osmosi inversa, UF = ultrafiltració

Mòduls tubulars. Els tubs són de 10 a 25 mm de diàmetre interior i d'1 a 6 m de llarg. El fluid es bomba a Re >10.000. Es poden netejar fàcilment i es disposa de moltes dades sobre el seu funcionament a la literatura.

Mòduls de membrana plana. S'instal·len amb la idea de filtre-premsa (plat i marc). Actualment, s'apliquen en operacions de petita escala. Van premuntades en cassetes, que es poden apilar i connectar. En cas d'avaria, es poden desconnectar i substituir ràpidament. Es poden reunir en conjunts de fins a 3 m^2.

Mòduls enrotllats en espiral. Són una disposició arreglada en mòduls que tenen una superfície plana enrotllada sobre un tub col·lector que recull el filtrat. El rotlle està separat per làmines de malla que indueixen turbulència. Es fabriquen d'entre 6 i 25 cm de diàmetre, i de fins a 1 m de longitud, i poden contenir uns 5 m^2/mòdul. La neteja mecànica és difícil de fer-se, però aguanten els reactius químics de la neteja. S'utilitzen a gran escala en OI i UF.

Mòduls de fibres buides. Estan formats per feixos de fibres molt fines, de 0,1 a 2 mm, segellades amb adhesiu al tub contenidor, i poden operar fins a 2 bar. Per a aplicacions d'OI i UF, poden contenir fins a 3.000 fibres i tenir 1 m de longitud. Poden treballar amb pressió positiva o negativa.

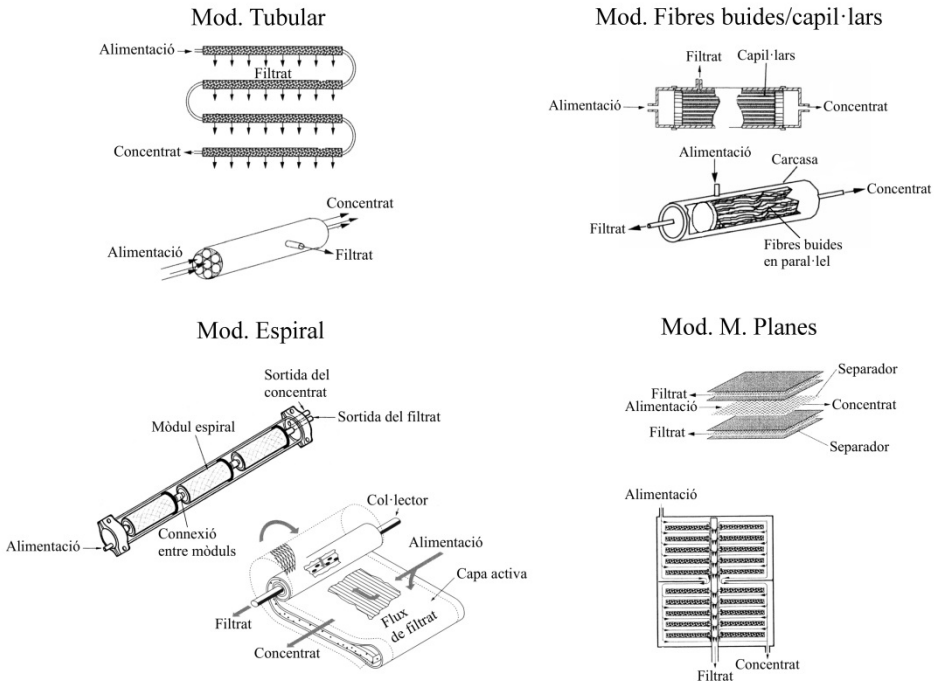


Fig. 10.14
Esquema dels tipus més corrents de membranes muntades en mòduls. Vegeu-ne la descripció al text

10.7. Canvi d'escala de la filtració tangencial

Als exemples 10.3 i 10.4, hem vist com avaluar els coeficients de transport de massa i com determinar el flux en funció de la Δp, combinant el model de resistències amb el model de gelificació. Aquests models permeten calcular, en teoria, el flux per tal de dissenyar l'aparell d'ultrafiltració. Caldrà, però, experimentar per caracteritzar els valors del disseny i veure quins fluxos podem assolir. Després, caldrà fer un càlcul del canvi d'escala.

Un altre aspecte que requereix proves experimentals és l'embrutiment de la membrana, que, a la pràctica, indica quant de temps i a quin ritme decreix el flux. En aquest cas, caldrà tenir molt clars els protocols de neteja abans de posar-la en funcionament i després de l'operació. Per a OI, aquests procediments estan molt experimentats (Fariña, 1999) i, per a UF/DF, estan desenvolupats per filtració tangencial en el cas de les proteïnes (Millipore, 2003).

Per poder fer un canvi d'escala, primer cal disposar d'una unitat pilot de geometria igual a la final. Per al cas dels filtres tubulars o de fibres buides o capil·lars, la regla de canvi d'escala més fiable és augmentar el nombre d'elements en paral·lel o mòduls idèntics en paral·lel, sense modificar el diàmetre dels tubs ni la seva longitud. Simplement, s'han

d'afegir unitats en paral·lel per acomodar-hi el cabal augmentat. Per al cas de les membranes planes, els sistemes de marcs-i-plats permeten afegir cassetes mantenint les velocitats específiques.

Per al cas dels mòduls en espiral, podem fer canvis d'escala mantenint la geometria del sistema, tenint en compte els factors següents. El flux de solvent depèn d'uns quants factors que hem de controlar. Són l'Δp, els valors de Reynolds i de Schmidt del fluid, i els inductors de turbulència del mòdul. Així doncs, caldrà mantenir constants els factors que afecten el transport de massa, que són Sh; la velocitat de circulació del fluid, v; el diàmetre hidràulic, dh, i els valors dels paràmetres moleculars, com C, μ, i ρ, que determinen Sc. Per tant, és fonamental controlar la temperatura. En general, és important mantenir el cabal de treball de dissolució per unitat d'àrea de la membrana com a criteri d'operació.

10.8 Consideracions finals i conclusions

En aquest capítol, s'ha tractat de la ultrafiltració i la microfiltració. S'han considerat dues teories de filtració tangencial, la basada en l'equació de Hagen-Poiseuille (de les resistències) i la basada en la polarització de la membrana i la gelificació. La primera prediu un flux proporcional a la caiguda de pressió. La segona està determinada pels coeficients de transferència de massa. S'han donat diversos exemples de càlcul, que permeten predir aquests fluxos en presència de pressió osmòtica adversa i dels coeficients de transport a partir de correlacions. S'ha tractat també de la diafiltració i dels processos en discontinu i en continu en estat estacionari, tant de concentració com de diafiltració, i se n'han plantejat uns quants problemes numèrics. S'ha tractat també de la microfiltració tangencial, que és útil en biotecnologia per a la filtració de microorganismes i altres dispersions.

Només s'ha parlat de l'embrutiment de la membrana de passada. És un tema de gran utilitat pràctica, però els models existents tenen una capacitat predictiva limitada (v. Cheryan, 1998). Tampoc no s'ha tractat de la diàlisi de laboratori, que té una gran utilitat pràctica per al rentat del sulfat amònic i de tampons en general. Se'n parla als textos d'enginyeria bioquímica (Katoh i Yoshida, 2009) en termes de coeficients de transferència de massa. L'equivalent industrial de la diàlisi és la diafiltració.

10.9 Notació

C	Concentració de solut, en kg/m^3
CG	Concentració de gel, en kg/m^3, o % de peso
C_p	Concentració de solut en el filtrat, en kg/m^3
C_w	Concentració de polarització, en kg/m^3
D	Difusivitat, en m^2/s
d_h	Diàmetre hidràulic, en m
f	Factor de concentració
J	Flux de filtració, en m^3/m^2s o L/m^2h
k_c	Coeficient de transport de massa, en m/s
L_m	Permeabilitat o invers de la resistència, en m/s bar
M_1	Pes molecular del component 1 , en kg/kmol
p	Pressió, en bar
PM_{90}	PM de tall per al qual R > = 0,90
r	Resistència específica del tortó, m^{-2}
R	Factor de retenció
R_c	Resistència del tortó, en m/bar
Re	Nombre de Reynolds, eq. 10.29
R_g	Constant dels gasos, 0,083 bar $m^3/(kmol \cdot K)$
R_T	Resistencia total de la membrana, m
Sc	Nombre de Schmidt, eq. 10.29
Sh	Nombre de Sherwood, eq. 10.29
T	Temperatura, en K
t	Temps, en s
V	Volumen, en m^3
v	Velocitat del fluid, en m/s
V_2	Volum molar parcial del solvent, en $m^3/kmol$
V_p	Volum del tortó, en m^3
x	Coordenada normal a la membrana, m
x_2	Fracció molar de soluto

Lletres gregues

γ	Coeficient d´actividad
ΔΠ	Pressió osmòtica, en bar

Cristal·lització

La cristal·lització s'utilitza com a operació d'acabat o purificació final de molts productes de fermentació, com ara aminoàcids, pèptids, proteïnes, metabòlits, antibiòtics, etc., que es comercialitzen en forma de cristalls. Els cristalls obtinguts es filtren o se centrifuguen, i després s'assequen. L'assecatge s'estudia al capítol següent. Aquestes dues operacions –la cristal·lització i l'assecatge– són també comunes a gran escala en les indústries de procés. Cal distingir entre la cristal·lització des de dissolucions líquides i des de mescles foses, de la cristal·lització des de gasos. En biotecnologia, ens interessa la cristal·lització des de dissolucions líquides com a procés de purificació per evitar contaminants. Cal dir que l'avantatge principal del procés de cristal·lització és que produeix un solut de puresa en principi excepcional. Així doncs, és especialment adequada:

- per la seva puresa, propera al 100 %, una vegada assecats els cristalls;
- perquè facilita l'eliminació d'humitat per filtració o centrifugació i l'assecatge posterior, i
- pel seu aspecte excel·lent per a la comercialització

La cristal·lització es basa en el refredament, l'evaporació del solvent o l'addició d'un agent precipitant o diluent, miscible amb el solvent, que és no solvent del solut. En biotecnologia, ens interessen la primera opció (cristal·lització d'una dissolució saturada, generalment aquosa) i la tercera (cristal·lització per addició de diluent no solvent a una dissolució saturada).

Fases. Unitats. En la cristal·lització industrial a partir d'una dissolució, s'anomena *magma* la suspensió bifàsica d'aigües mares i cristalls de totes les mides, que ocupa el volum del cristal·litzador i que es retira com a producte.

Les unitats habituals de la solubilitat són la massa de solut per a una determinada massa o el volum d'*aigua* a una temperatura concreta (v. Fig. 11.1 dreta); per exemple, en el

cas de l'àcid oxàlic, la solubilitat a 80 ºC en aigua val 84,4 g/100 g aigua. A vegades, però, la solubilitat s'expressa en una fracció de la massa del solut en suspensió respecte de la temperatura (v. Fig 11.1 esquerra i Eq. 11.2).

A la taula 11.1, s'anoten algunes diferències entre la cristal·lització i la precipitació. Aquesta darrera operació l'hem tractada en capítols anteriors (capítol 6), en relació amb la precipitació de proteïnes, entre d'altres. La precipitació dóna lloc a un sòlid de morfologia heterogènia; en canvi, la cristal·lització dóna lloc a cristalls d'estructura extremament regular i ordenada, ja que els cristalls són els objectes no vivents més altament ordenats en estructures regulars tridimensionals.

Taula 11.1
Diferències entre la cristal·lització i la precipitació (Harrison *et al.*, 2003)

Concepte	**Cristal·lització**	**Precipitació**
Solubilitat	Mitjana-alta	Alta
Sobresaturació	Petita	Alta
Morfologia del producte	Molt ben definida	Mal definida
Mida de la partícula	Cristall gran	Partícula petita
Velocitat de nucleació	Baixa	Alta
Controlabilitat	Gran	Difícil de controlar

A part de cristal·litzar per a la producció, la cristal·lització també té utilitat per a la cristal·lografia en si mateixa, amb la finalitat de produir estructures i partícules de mides de 0,1 a 0,5 mm, per a ser estudiades per difracció de raigs X en la recerca científica. Tanmateix, aquest capítol s'orienta als processos de cristal·lització que es puguin aplicar a la producció a gran escala. En les operacions de la indústria de procés, les operacions de cristal·lització s'han enfocat sobretot a substàncies inorgàniques, generalment sals. Així, doncs, hi ha una gran quantitat de dades relatives a substàncies inorgàniques, com:

– diagrames de fases
– solubilitat
– diagrames d'entalpia-composició

En canvi, en les operacions amb biomolècules, no es pot disposar de les dades dels diagrames de fase i termofísiques i, per tant, són difícils d'estimar. En la literatura sobre cristal·lització de substàncies inorgàniques, orgàniques i de biotecnologia, han sorgit nombroses dades cinètiques de nucleació i de creixement de cristalls útils per calcular cristal·litzadors de procés, com veurem tot seguit.

En aquest capítol, parlem primer dels fonaments de la cristal·lització, que inclouen els conceptes de velocitat de nucleació i de creixement dels cristalls, i de la sobresaturació com a força impulsora de la deposició de molècules o la transferència de massa del

procés. A continuació, tractem de la distribució estadística de les mides de cristalls (DMC), que depenen de la velocitat de iniciació i del creixement dels cristalls. Parlarem de la predicció de la DMC en els cristal·litzadors continus. I també de la cristal·lització discontínua, que s'utilitza per aïllar antibiòtics i pèptids. Finalment, presentem els aparells industrials de cristal·lització i com s'ha de treballar en el canvi d'escala.

En un annex del capítol, reproduïm la taula dels tamisos normalitzats de Tyler, que s'utilitzen per caracteritzar la granulometria dels sòlids.

11.1 Fonaments de la cristal·lització

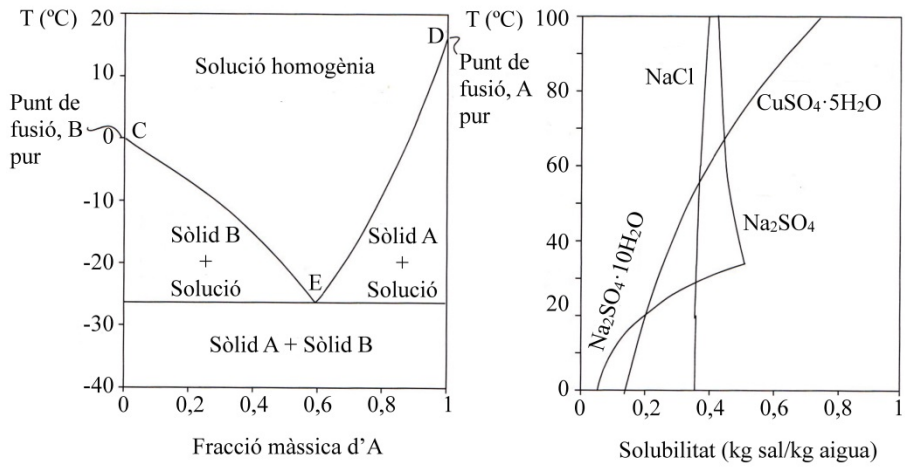


Fig. 11.1 Solubilitat d'equilibri en funció de la temperatura. A l'esquerra: Diagrama de fases de dos soluts, A i B, en aigua, i el punt eutèctic E. A la dreta: Solubilitat de diverses sals en aigua. Font: figura adaptada de R. Smith (2005)

Substància	Temperatura, ºC	Sobresaturació, C/Cs	Velocitat de creixement G, m/s
s-Carboximetil-L-cisteïna	26	2,0	$8{,}3\times10^{-9}$
Àcid cítric · 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, form B	20	1,13	$4{,}2\times10^{-8}$
Lipasa	28	2,0	$5{,}1\times10^{-9}$
Lisozim, 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	$9{,}5\times10^{-8}$

*Probablement, depenent de la mida

Taula 11.2 Velocitats de creixement lineal d'alguns cristalls (Doran, 2012)

A la figura 11.1, es mostren l'equilibri de solubilitat de dos soluts i la solubilitat de diverses sals en aigua. A la figura de la dreta, es veu com algunes sals formen hidrats. En general, s'observa que la solubilitat augmenta amb la temperatura, però a vegades l'augment és petit, com és el cas del NaCl en aigua. A vegades, la tendència és la inversa, com en el cas del Na_2SO_4, però això no és normal. La solubilitat en aigua normalment s'expressa amb l'equació següent, anomenada *equació de la solubilitat ideal* (Prausnitz *et al*., 1998):

$$\ln x_s = \frac{\Delta H_f}{RT}\left(\frac{T}{T_m} - 1\right) \tag{11.1}$$

on ΔH_f és l'entalpia de fusió; T_m és la temperatura de fusió, essent T la temperatura, i x_s és la fracció molar del solut en la solució saturada. És interessant assenyalar que la solubilitat ideal no depèn del solvent; a més, en ser la calor de fusió positiva, l'equació prediu que la dissolució d'un solut augmentarà amb la temperatura. L'expressió empírica per a diversos soluts pren la forma següent:

$$\ln x_s = A + B/T \tag{11.2}$$

Teòricament, x_s també depèn de la pressió, però es pot negligir. Per a una sèrie de molècules orgàniques, es veu que x_s segueix la tendència de l'equació anterior. A la taula 11.2, s'indiquen les característiques d'alguns cristalls d'interès. Als simuladors, la solubilitat s'estima per mitjà dels coeficients d'activitat del mètode UNIFAC o bé de la teoria de les solucions regulars (Prausnitz *et al*., 1998).

11.1.1 Cristalls

Quan es deixen formar lliurement els cristalls, es formen poliedres, és a dir, sòlids regulars formats per cares planes i vèrtexs punteguts. Per bé que les mides de les cares d'una mateixa substància poden diferir considerablement, els angles formats per les cares corresponents no varien, i aquesta és una característica fonamental d'una substància. Així, doncs, les formes cristal·lines es classifiquen segons aquests angles. Això dóna lloc als set sistemes coneguts com a *sistemes cristal·logràfics*, que s'obtenen combinant els angles i les longituds dels eixos (v. Shakelford, 1988).

La mida relativa de les cares d'un cristall en un sistema donat pot variar àmpliament i donar lloc a una gran varietat de formes de cristalls. Aquesta varietat s'anomena *hàbit cristal·lí*. Per exemple, si els cristalls creixen més ràpidament al llarg d'una dimensió, es formen agulles. Aquests hàbits es mostren a la figura 11.2 (dreta) per a cristalls hexagonals. L'hàbit cristal·lí apareix quan es compleixen algunes condicions de cristal·lització, sobretot quan hi ha alguns efectes (impureses, dissolvents, temperatura, pH, etc.) que afecten la velocitat de creixement del cristall. A la figura, es mostren agulles, cossos i pastilles. Se sap, per exemple, que algunes impureses afavoreixen el creixement en determinades direccions, o que alguns condicionaments mecànics aplicats durant la cristal·lització fan desenvolupar el cristall d'un manera determinada. Per al cas dels aminoàcids i els antibiòtics, cal produir cristalls amb un hàbit específic, per raons específiques.

Geometria del creixement. El creixement del cristall es produeix per difusió i deposició, que són dos processos diferents en sèrie. Una vegada transportada una molècula o un ió fins al lloc de deposició, cal que sigui acceptat en un lloc d'adsorció, o etapa interficial del procés. Durant el creixement, es manté la semblança geomètrica. Un cristall que manté aquesta semblança s'anomena *cristall invariant*. A la figura 11.2 (esquerra), es mostra una vista transversal d'un cristall en creixement invariant. Cada polígon de la figura representa temps de cristal·lització progressius. Com que els polígons són semblants, les línies de punts que uneixen els vèrtexs són rectes. El punt central seria l'origen o el nucli inicial. La velocitat de creixement d'una cara es mesura en direcció perpendicular a la cara. Així, doncs, excepte en el cas d'un poliedre regular, les velocitats de creixement de les cares d'un cristall invariant no tenen per què ser iguals. A la resta del capítol, es consideren cristalls invariants. En aquest capítol, emprem també una única dimensió L per designar la mida d'un cristall invariant de qualsevol forma, de manera que, si un cos cristal·lí té una superfície Sp i un volum Vp, la longitud característica L es defineix com:

$$L = \frac{6Vp}{Sp} \tag{11.3}$$

per a cubs i esferes L = d (diàmetre de l'esfera o aresta del cub). Aquesta elecció simplifica l'anàlisi de la cristal·lització i es veurà més endavant.

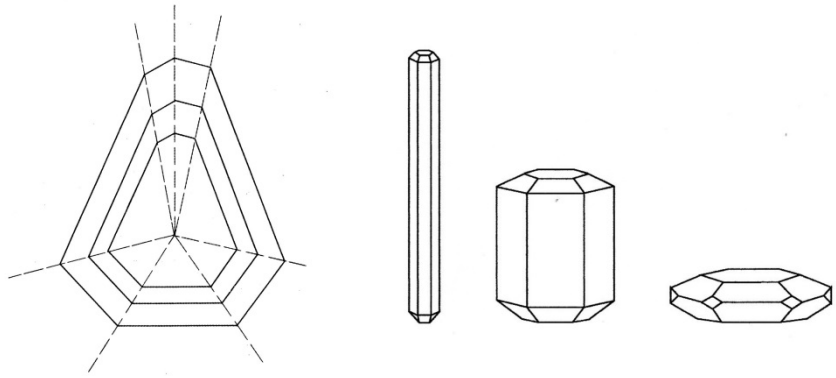


Fig. 11.2
A l'esquerra: Cristall invariant (McCabe-Smith, 1968). A la dreta: Diferents hàbits cristal·lins de cristalls hexagonals: agulles, tacs, pastilles (Doran, 2012)

Aplicació final i propietats del sòlid	**Propietat de processament**
Densitat a l'engròs	Velocitat de filtració
Flux de sòlids	Velocitat de centrifugació
Humitat residual	Arrossegament pel líquid després del filtrat
Tendència a formar terrossos	
Velocitat de dissolució	
Aspecte	
Propietats de fluïdització	
Facilitat de transport pneumàtic	
Facilitat de formar pols	

Taula 11.3
Propietats de bioproductes sòlids que depenen de la mida, la forma i la DMC dels cristalls (Doran, 2012)

La forma i la mida dels cristalls tenen molta importància en relació amb les propietats de processament del conjunt de cristalls. A la taula 11.3, s'especifica la influència de diferents propietats dels cristalls sobre el processament dels sòlids.

11.1.2 Sobresaturació

La figura 11.3 il·lustra la corba de saturació d'una substància cristal·lina dissolta en un solvent (per exemple, aigua) enfront de la temperatura (v. corba AB). Quan se supera la corba de solubilitat, hi ha una zona anomenada *regió metaestable*, que és termodinàmicament inestable (la regió entre la corba CD i la AB), però que pot ser estable si procurem que no hi entrin partícules estranyes que actuïn com a nuclis de cristal·lització, remolins violents, cossos estranys (partícules de metall o de pols, etc.). *Entenem per nucleació primària* quan es produeix la cristal·lització sense nuclis o llavors de cristal·lització. Si se sobrepassa la zona de sobresaturació es passa a la *zona làbil*, s'inicia la nucleació i el creixement consegüent dels cristalls. La corba CD de la figura s'anomena *zona de supersolubilitat*.

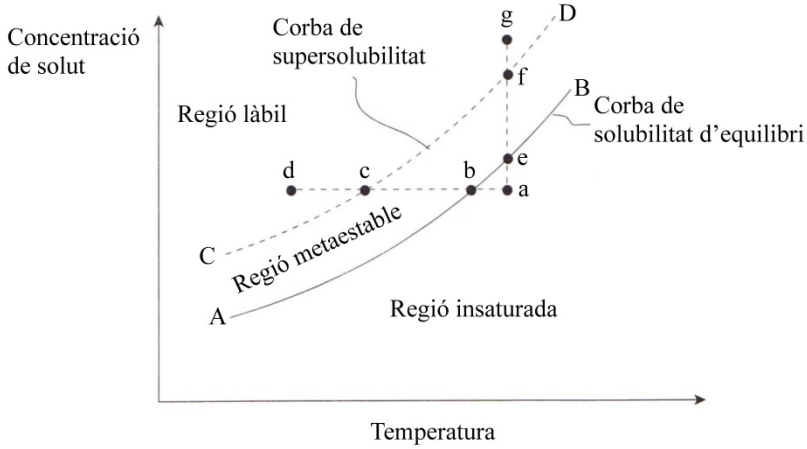


Fig. 11.3
Corba de solubilitat d'equilibri d'una substància pura enfront de la temperatura (corba AB). S'indica la regió de sobresaturació (metaestable, regió compresa entre CD i AB). A sota, hi ha les regions de solucions no saturades. I, a sobre, la corba de supersolubilitat, la regió làbil

Suposem que som al punt *a* i que refredem la dissolució fins al punt *b*. En aquest punt, la solució està saturada. Fins que no arribem al punt *c* (sobre la corba de supersolubilitat, corba CD), la cristal·lització no comença. Així, doncs hi ha una zona CD que voreja la corba de solubilitat, que és força sensible. A part del que acabem de descriure, que és un fenomen natural, si es dipositen petites impureses de pols, cristallets afegits a propòsit, etc. es provoca l'inici de la nucleació i la cristal·lització subsegüent. En la literatura tècnica, aquest fenomen es descriu com realitzar les mesures experimentals de nucleació a la zona metaestable (Coulson i Richardson, 2003).

A la figura 11.4, s'indica l´evolució C-T dins de la zona metaestable per a un procés per refredament per càrregues. És convenient no sortir de la zona metaestable, evitant la zona làbil a fi de no provocar una nucleació incontrolada.

Una altra manera diferent de crear la supersaturació des del punt *a* és iniciar, a T constant, l'evaporació de solvent desplaçant el sistema verticalment cap al punt *f* i després

cap al punt *g*, aquest ja clarament en la zona làbil. Això s'aconsegueix evaporant solvent i sobresaturant la dissolució, fins a deixar-la a punt per cristal·litzar.

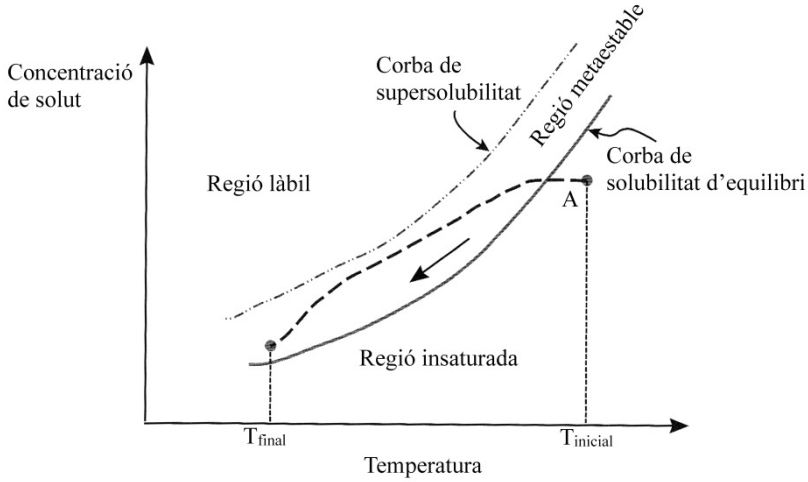


Fig. 11.4
Evolució d'una operació de cristal·lització per la zona metaestable

Processos de cristal·lització. Tornem a la figura 11.1. En vista de la corba de solubilitat (v. Fig. 11.1 dreta), volem saber quin procés triarem per obtenir els cristalls del solut:

- Cristal·lització per refredament
- Cristal·lització per evaporació
- Cristal·lització per dilució amb un no-solvent

Per triar entre els dos primers processos, cal examinar la corba de solubilitat respecte de T. A la figura 11.1, s'observa que NaCl té una solubilitat en aigua pràcticament constant i independent de T. En canvi, en el cas de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, la solubilitat augmenta sensiblement amb T. Cal esperar, doncs, que la quantitat de cristalls obtinguts per refredament de solucions saturades de $CuSO_4$ en aigua serà més gran que per a NaCl. Aquesta sal caldrà cristal·litzar-la per evaporació si es volen obtenir quantitats apreciables de cristalls.

Definim el rendiment dels cristalls en una cristal·lització per refredament com el canvi de concentració del solut, $\Delta C/C_0 = (C_0\text{-}C_{final})/C_0$, expressat en percentatge, on C_0 és la concentració inicial de saturació a $T = T_0$ i C_{final} és la concentració de solut dissolt a la temperatura final, *refredant des de T_0 fins a T_{final} a volum constant* (v. exemple 11.4). Sovint aquest és el tipus de cristal·lització de les biomolècules.

En biotecnologia, s'empra un tercer procés de cristal·lització, que és una combinació dels altres per reduir la solubilitat. Aquest mètode és la cristal·lització per dilució amb un solvent miscible amb l'aigua que és no solvent de la biomolècula. Per exemple, per cristal·litzar una solució que conté L-serina en aigua provoquem la cristal·lització amb una dilució amb metanol, miscible en aigua, però no solvent de la L-serina. Vegeu els exemples 11.7, 11.8 i 11.9 per veure l´efecte del diluent en la cristal·lització.

Mesura de la sobresaturació. Es defineix de forma senzilla amb concentracions com:

$$\Delta C = C - Cs \tag{11.4}$$

on C és la concentració actual a T = T, Cs és la concentració de saturació a T, Cs(T). A més, es defineixen altres mesures de la sobresaturació, com ara:

$$S = \frac{C}{Cs} \tag{11.5}$$

o bé:

$$\sigma = \frac{C - Cs}{Cs} = S - 1 \tag{11.6}$$

És molt important remarcar que la força impulsora que causa la difusió de molècules de la dissolució cap al cristall és la sobresaturació ΔC. A la taula 11.2, es donen els valors típics d'unes quantes cristal·litzacions; en general, el valor de S no s'aparta gaire de 1,01 a 1,05, i, en casos extrems, arriba a 1,10.

Més endavant, veurem la cristal·lització per addició d'un no solvent o diluent, D. Alguns autors fan servir el fet que l'efecte del diluent és la modificació del valor de S. Com veiem ara, el valor de S es pot escriure, a manca de solvent, com:

$$\ln \frac{C}{Cs} = a \tag{11.7}$$

que amb els valors de S (= 1,01-1,05) habituals donaria un valor de a = 0,045-0,095. L'efecte del diluent és passar de ln C/Cs = a, a un valor més petit, que disminueix el valor de la sobresaturació, és a dir:

$$\left(\ln \frac{C}{Cs} \right)_D = a - bD \tag{11.8}$$

on D és la concentració del diluent no solvent, i b és un valor experimental. L'efecte de D és disminuir la sobresaturació, a. L'equació anterior és anàloga a l'equació de Cohn (capítol 6) per la precipitació de proteïnes. Més endavant, veurem com s'aplica.

11.1.3 Puresa

El primer concepte bàsic que hem vist és la solubilitat. El segon més important és la puresa. Els altres conceptes bàsics són:

- la velocitat de nucleació de cristalls
- la velocitat de creixement d'un cristall
- la llei de delta L de McCabe

Vegem què entenem per puresa. La puresa es refereix a un repartiment favorable del producte volgut a la fase cristal·litzada respecte d'altres components no volguts o im-

pureses. Per definir la puresa, fem servir un concepte empíric semblant al que fem servir per definir l'extracció amb solvent: el concepte de repartiment. Per a la separació de dos components A i B, per cada component es defineix el coeficient de repartiment E, als cristalls i a les aigües mares, de la forma següent:

$$E_A = \frac{\text{Pes solut A en el tortó de cristalls}}{\text{Pes de solut A en el filtrat}}$$

I, per a la impuresa B, fem també:

$$E_B = \frac{\text{Pes solut B en els cristalls}}{\text{Pes de solut B en el filtrat}}$$

El factor de separació β, després d'un contacte ideal, valdrà (King, 1981):

$$\beta = \frac{E_A}{E_B}$$

Si β és gran, l'enriquiment després d'una etapa de cristal·lització serà gran. Vegem-ne un exemple.

Exemple 11.1 Separació d'esterols de la soja. Increment de la puresa durant la cristal·lització.

Una mescla de 2.040 kg d'estigmasterol (A) i sitosterol (B) se separa per cristal·lització en fraccions. Els cristalls (o fracció 1, que pesa 1.137 kg) contenen un 96,6 % del pes d'estigmaesterol (A). Les aigües mares de la cristal·lització (o fracció 2), una vegada evaporades a sequedat, contenen un 74,6 % d'estigmaesterol (B). Calculeu la puresa en A de la fracció 1 o fracció de cristalls (en estigmasterol) i E_B, i també el factor de separació β de l'estigmasterol respecte del sitosterol (B).

Repartiment de les fraccions:

Fracció cristal·litzada = 1.137 kg.

Aigües mares = 2.040 - 1.137 = 903 kg

$$= 1.137 \times 0,966 = 1,098 kg A$$
$$= Aigues\ mares = 2.040 - 1.137 = 903 kg$$
$$Per\ \tan t\ stigmasterol(A) = 903 \times 0,746 = 673 kg A$$

D'on

$$E_A = \frac{1.137 \times 0,966}{(2.040 - 1.137) \times 0,746} = 1,63 \qquad E_B = \frac{1.137 \times (1 - 0,966)}{(2.040 - 1.137)(1 - 0,746)} = 0,17$$

D'on

$$\beta = \frac{1,63}{0,17} = 9,6$$

Exemple 11.2. Balanç de massa en la cristal·lització d'àcid adípic (AA).

Es dispersen 10 kg d'AA en 13,1 kg d'aigua i s'escalfen a 90ºC per tal de solubilitzar l'àcid. Per eliminar impureses, es filtra i, durant la filtració i l'escalfament, s'evapora un 10 % de l'aigua. La dissolució clarificada es refreda a 35ºC i es filtra. La solubilitat a 35ºC és de 0,05 kg AA/kg d'aigua.

Calculeu el pes dels cristalls recuperats en aquesta operació. No hi ha aigua de cristal·lització.

Vegem primer el balanç d'aigua en kg:

Aigua inicial = aigua en aigües mares + aigua evaporada

$$13{,}1kg = A\,en\ Aigues\ Mares + 0{,}1 \times 13{,}1$$

$$A\,en\ Aigues\ Mares = 11{,}79kg$$

Balanç d'àcid adípic:

Cristalls inicials = cristalls finals+ AA en aigües mares

$$10kg = Pes\ cristalls + 0{,}05 \times 11{,}79$$

Pes dels cristalls =9,41 kg

Si els cristalls tinguessin aigua de cristal·lització, aquesta s'hauria d'incloure en els balanços.

Exemple 11.3. Cristal·lització per refredament

En un procés, s'ha de cristal·litzar àcid oxàlic (àcid dietanoic, PM 90 g/mol) d'una dissolució aquosa saturada a 80 ºC.

1. Calculeu la temperatura a què s'ha de refredar la dissolució per recuperar el 95 % de l'àcid per cristal·lització. Quan cristal·litza, es formen cristalls de dihidrat Ox·2H_2O.

2. Calculeu el rendiment dels cristalls.

Es coneix la corba de solubilitat de l'àcid oxàlic en aigua, C_S en g/100 g aigua, en funció de T:

T, ºC	0	10	20	40	60	80
Cs, g/100 g	3,5	6,0	9,5	21,5	44,3	84,4

El percentatge d'aigua a l'Ox hidratat valdrà = 2 × 18/90 = 0,4 (40 %)

1. Considerem el refredament de 100 kg de solució saturada a 80ºC. Els kg d'Ox que s'han obtenir són 84,4 × 0,95 = 80,18 kg, és a dir, haurem de retirar 84,4 - 80,18 = 4,2 kg d'Ox anhidre, que contindran 80,18 × 0,4 = 32,1 kg d'aigua d'hidratació.

El líquid restant serà 100 - 32,1 = 67,9 kg; per tant, la solubilitat a la temperatura final del procés de refredament, T, valdrà:

$$Cs\ (T) = (4{,}2\ kg/67{,}9\ kg) \times 100 = 6{,}19\ kg/100\ kg\ d'aigua$$

Calculem ara la temperatura a la qual la solubilitat pren aquest valor (6,19 g/100 g). Interpolant les solubilitats de la taula anterior entre 10 i 20ºC, es té:

$$\Delta T = (6{,}19\text{-}6)\ /(9{,}5\text{-}6)/10 = 0{,}54ºC$$

d'on:

$$T = 10 + 0{,}54 = 10{,}54\ ºC$$

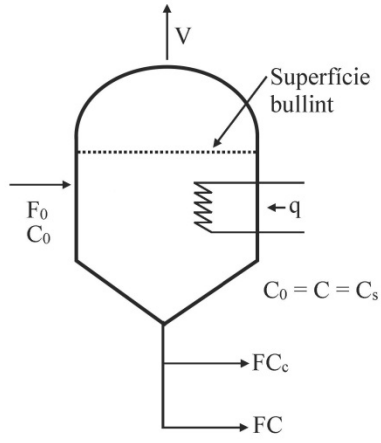
2. El rendiment dels cristalls refredant des de 80 ºC fins a T = 10,54 ºC val:

$$\text{Rendiment dels cristalls} = (84{,}4\text{-}6{,}19)/84{,}4 = 0{,}92\ (92\ \%)$$

Exemple 11.4. Cristal·lització per evaporació

En una planta de fermentació, es vol recuperar sucre cristal·litzant en continu una dissolució de sacarosa (S) saturada a 60 ºC, que té una concentració C_s = 2,867 kg de S/kg d'aigua. Per a un cristal·litzador d'evaporació, es vol calcular el rendiment teòric dels cristalls que se n'obtindran i el requisit d'energia en funció del rendiment.

Nota: Per simplificació, suposem que la concentració de solut del corrent de sortida de l'evaporador és igual a la concentració de saturació d'equilibri a 60 ºC.



1. Calculeu el rendiment dels cristalls en funció de la producció de vapor, per a una evaporació del 20 % de l'aigua de l'alimentació.

2. Calculeu l'energia que s'ha d'aportar per kg d'alimentació.

1. El sistema de l'evaporador és el de la figura, on F_0 és el cabal d'alimentació d'aigua; F és el cabal de sortida d'aigua, ambdós en kg d'aigua líquida/h, i V és el cabal d'aigua retirada per evaporació, en kg de vapor/h. Plantegem dos balanços, un del solvent (aigua) i l'altre del solut (sacarosa).

El balanç de massa *d'aigua* serà:

$$V = F_0 - F$$

El balanç de massa *de solut* (sacarosa) ens diu que el solut que hi entra en surt dissolt i en forma de cristalls sòlids:

$$F_0 C_0 = F C + F C_c$$

on C_0 és la concentració de sacarosa al corrent d'entrada, en kg S/kg d'aigua; C és la concentració de sacarosa al corrent de sortida, en kg S/ kg d'aigua, i C_c és la massa de cristalls sòlids al corrent de sortida F, en kg de cristalls/kg d'aigua. El rendiment dels cristalls el definim com:

$$\text{Rendiment dels cristalls} = F C_c / F_0 C_0$$

Fent servir les equacions de balanç, A i B, el rendiment el podem expressar com:

$$\text{Rendiment} = (F_0 C_0 - F C)/F_0 C_0 = 1 - (C/C_0)(1 + V/F_0)$$

Introduint ara la simplificació, $C = C_0 = C_s$, s'obté:

$$\text{Rendiment dels cristalls} = V/F_0$$

Aquest resultat ens diu que el rendiment dels cristalls és igual a la fracció de l'alimentació evaporada. Així, si evaporem un 20 % de F_0, obtenim un rendiment dels cristalls del 20 %; si n'evaporem un 30 %, el rendiment valdrà el 30 %, etc.

El requisit d'energia es calcula suposant que la calor latent de vaporització de l'aigua a 60 ºC és la que s'ha d'aportar per vaporitzar V kg/h en les condicions de l'evaporador. Si la calor latent de vaporització es pren com a $\lambda = 2.359$ kJ/kg, l'energia que s'ha d'aportar valdrà, per a una evaporació del 20 % de F_0:

$$\text{Energia a aportar} = 2.359 \times V/F_0 = 2.359 \times 0{,}2 = 472 \text{ kJ/kg d'alimentació}$$

on V/F_0 són els kg d'aigua a evaporar/kg d'alimentació.

11.1.4 Velocitat de nucleació

La velocitat de nucleació depèn del seu mecanisme. En podem distingir els tipus següents:

Nucleació homogènia. És la deguda únicament a sobresaturació.

Nucleació heterogènia. És la deguda a una partícula estranya o una llavor.

Nucleació secundària. Pot ser homogènia o heterogènia, i es produeix per contacte amb diferents cristalls.

Atrició. És la generació de partícules per fricció entre els cristalls, que llavors es converteixen en petits nuclis de cristal·lització.

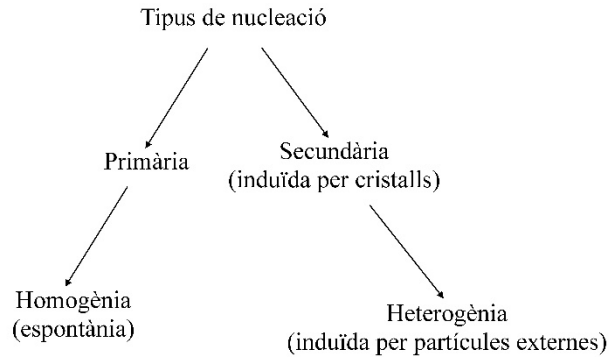


Fig. 11.5
Tipus de nucleació

Doran (2012) representa esquemàticament els processos de nucleació tal com s'indica a la figura 11.5. Com es veu, hi ha diversos mecanismes de nucleació, però no se'n sap la cinètica. Amb equacions, fem servir l'expressió més senzilla, que és la següent:

$$\frac{1}{V}\frac{dN}{dt} = k_N \left(C - Cs\right)^i = B \qquad (11.9)$$

on C és la concentració de solut, kg/m^3; Cs és la concentració de saturació a T = T, i $\Delta C = C - Cs$ és la sobresaturació, i B és la velocitat de nucleació, en nuclis/m^3 s. Les constants k_N i i són constants empíriques que depenen del solut i de l'agitació. N/V és la concentració de nuclis. Quan interessa combinar equacions, fem $i = 1$.

11.1.5 Velocitat de creixement d'un cristall

Un cristall creix a causa de la transferència de massa des de la dissolució fins al sòlid on es diposita. La velocitat de creixement és proporcional a l'àrea A, com a magnitud extensiva (com més àrea, més ràpidament avança el creixement). El creixement unitari de la massa de cristalls serà:

$$\frac{1}{A}\frac{dM}{dt} = k\left(C - Cs\right) \tag{11.10}$$

on A és l'àrea de cristalls; k és un coeficient de transferència de massa, i C-Cs és la força impulsora per a la deposició de molècules. Considerant k_o la constant de velocitat química del procés (depenent de la temperatura) i k la de velocitat de transferència de massa, tindrem la relació següent, que té en compte els dos processos en sèrie (transport de difusió i reacció de deposició).

$$\frac{dM}{dt} = \frac{A}{\left(\frac{1}{k} + \frac{1}{ko}\right)}\left(C - Cs\right) \tag{11.11}$$

on k_o és la velocitat intrínseca i que generalment està relacionada amb l'adsorció sobre el sòlid en un defecte. Vegem ara la relació entre l'àrea de cristalls, el volum i la seva dimensió lineal característica.

Longitud característica d'un cristall. Definim la longitud característica L com el quocient següent:

$$L = \frac{6M}{\rho A} \tag{11.12}$$

on M és la massa del cristall, en kg; A és l'àrea externa, en m^2, i ρ és la seva densitat, en kg/m^3. Així, doncs, per a un cristall cúbic d'aresta s, tindrem:

$$\begin{aligned} M &= \rho s^3 \\ A &= 6s^2 \\ L &= s \end{aligned} \tag{11.13 a, b, c}$$

I, per a una esfera de diàmetre d, tindrem:

$$\begin{aligned} M &= \rho \phi_v L^3 \\ A &= 6\phi_A L^2 \\ d &= L \end{aligned} \tag{11.14 a, b, c}$$

on les ϕ són *factors de forma*, de volum o d'àrea que, per a una esfera, valen:

$$\phi_A = \phi_V = \frac{\pi}{6} \tag{11.15}$$

i, per a un cub:

$$\phi_A = \phi_V = 1 \tag{11.16}$$

Prenent els valors de M i A de les equacions de velocitat anteriors i substituint M i A a l'equació 11.11, es té:

$$\frac{d}{dt}\left(\rho \phi_v L^3\right) = \frac{\left(6\phi_A L^2\right)}{\frac{1}{k} + \frac{1}{k_o}}\left(C - Cs\right) \tag{11.17 a}$$

$$\frac{dL}{dt} = \left(\frac{\frac{2\phi_A}{\phi_v \rho}}{\frac{1}{k} + \frac{1}{k_o}} \right) (C - Cs) = G \qquad (11.17\ b)$$

on definim la velocitat de creixement lineal G d'un cristall com:

$$\frac{dL}{dt} = k_g (C - Cs) = G \quad \text{on} \quad k_g = \frac{\frac{2\phi_A}{\phi_v \rho}}{\frac{1}{k} + \frac{1}{k_o}} \qquad (11.18)$$

amb B que és la velocitat de nucleació (eq. 11.9), ambdues expressades de forma senzilla. Aquestes dues equacions són la base per calcular cristal·litzadors en estat estacionari. La primera ens dóna la velocitat de *formació de nous nuclis*, mentre que l'equació de dL/dt ens dóna la velocitat de *creixement dels nuclis ja formats.* Ambdues equacions depenen de la sobresaturació, però la segona equació ens diu que la velocitat de creixement és independent de la mida dels cristalls ja formats i, per tant, la podem aplicar a qualsevol cristall present. Aquesta observació dóna lloc a la *llei de ΔL o de McCabe* que ens permet tractar tots els cristalls amb el mateix valor de G per tal d'avaluar-ne ΔL. És a dir:

$$\Delta L = G \Delta t \qquad (11.19)$$

on G és la velocitat de creixement lineal (m/s). A la taula 11.2, es donen alguns valors de G per a diferents cristalls d'interès en biotecnologia. Observeu que són d'ordre de magnitud semblant. En endavant, farem servir la llei de ΔL, encara que a vegades no es compleixi.

11.2 Cristal·lització de bioproductes. Operacions per càrregues o contínues

Abans de parlar dels tipus de cristal·litzadors, vegem els bioproductes que es cristal·litzen avui dia en biotecnologia. Generalment, en el cas dels aminoàcids, els pèptids i les proteïnes, es fan servir processos en discontinu. El pH s'ajusta al punt isoelèctric, baixant alhora la temperatura i també afegint-hi sals i/o polímers no iònics o solvents orgànics de forma simultània.

Un exemple d'aquests processos és la producció d'estatines (inhibidors de la síntesi de colesterol en els humans). Les estatines es cristal·litzen refredant l'extracte d'acetat de butil de la fermentació d'*Aspergillus terreus* a menys de 40ºC.

Altres exemples són la fabricació d'alcohol oxidasa, que es cristal·litza després de la diafiltració per eliminar-ne la sal. Un tercer exemple és la cristal·lització d'ovoalbúmina per addició de cristallets d'ovoalbúmina com a llavors de cristal·lització a una dissolució impura.

Alguns detalls més d'aquests processos de cristal·lització es poden consultar a Harrison *et al*. (2003), que proporciona les dades de les referències i la literatura de patents.

La cristal·lització es duu a terme en continu per a processos a més gran escala (àcid cítric, aminoàcids, etc.) o en discontinu, com s'ha explicat per a les estatines, en què els fermentadors no excedeixen gaire dels 200 L. A fi d'aplicar la teoria de la cristal·lització, expliquem primer la cristal·lització en un cristal·litzador continu.

11.3 Estadística de mides de cristalls, nombre de cristalls i densitat de població: DMC

El nostre objectiu és estimar la distribució de mides de cristall, a partir de la cinètica de nucleació i creixement que hem desenvolupat. El model ideal considerat és el d'un cristal·litzador continu de mescla perfecta, que és la que interessa més en la cristal·lització contínua, ja que té una fiabilitat adequada, almenys per a fer determinades prediccions.

11.3.1 Operacions de cristal·lització: procés continu

Considerem l'esquema d'un recipient ben mesclat de la figura 11.6 (esquerra), on té lloc una cristal·lització en règim permanent, a temperatura constant, sobresaturació constant, i en condicions estacionàries en el temps. S'alimenta a un cabal volumètric de Q, m^3/s, de solució homogènia saturada, que no conté cristalls, però sí solut dissolt a concentració C_0.

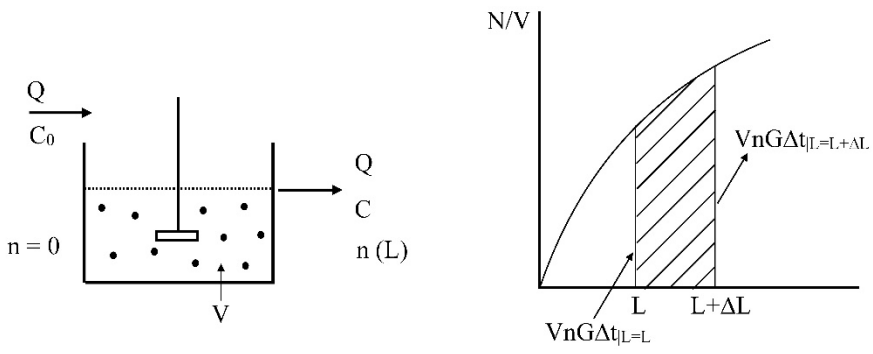


Fig. 11.6
A l'esquerra: Esquema d'un cristal·litzador continu mesclat i notació en estat estacionari. A la dreta: Corba de concentració de cristalls (N/V, nombre/m^3). Zona ratllada = nombre de cristalls de mida compresa entre L i L+ΔL.

En un instant determinat, en l'interval L+ΔL entren un nombre de cristalls que eren més petits, i en surt un nombre de cristalls que sobrepassen aquesta mida. (Vegeu el balanç de població al text.)

Es fan les hipòtesis següents:

1. Règim estacionari

2. En tot moment, el tanc conté una suspensió (anomenada *magma*).

3. En tot moment, tenim un magma que està sobresaturat per mantenir la velocitat de cristal·lització.

4. Es compleix la llei de delta L.

5. No es fa cap extracció de cristalls.

6. En l'alimentació, no hi entren cristalls.

7. El producte o magma de sortida abandona el cristal·litzador en equilibri, de manera que les aigües mares estan saturades.

8. No hi ha atrició de cristalls.

S'extreu un corrent de sortida del mateix cabal que el que entra, Q, i que té la mateixa composició que el fluid del tanc. Aquesta propietat d'igualtat de composició és deguda al fet que a tot el tanc hi ha una mescla perfecta. A la sortida, hi ha una concentració de cristalls que val N (L)/V, essent N/V la concentració en nombre de cristalls de mida L per m^3, igual que la que hi ha al tanc.

Vegem les conseqüències d'aquestes hipòtesis:

1. La velocitat de nucleació, el nombre de nuclis generats per unitat de temps i unitat de volum d'aigües mares o licor són constants en tota la suspensió o magma.

2. La velocitat de creixement de cristalls és constant i independent del temps, la localització i la mida del cristall.

3. Tots els elements d'aigües mares són iguals a tots els punts, gràcies a la bona mescla.

4. La DMC és independent de la seva localització en el tanc i a la sortida.

Aquestes hipòtesis s'apliquen a cristal·litzadors continus, en transitori, en l'extracció d'un corrent de cristalls (de mida petita, ple), i en moltes altres condicions de treball, fent balanços de població generalitzats.

Als apartats següents, tan sols considerem l'operació contínua més senzilla (sense classificació).

11.3.2 Funció de densitat de població

Com en qualsevol estadística d'una variable, es distingeixen dues funcions de probabilitat: 1) la *funció de probabilitat acumulada*, N(L), i 2) la *funció de densitat de probabilitat*, n(L). Aquí la mida estadística és la variable distribuïda i és unidimensional, i L és la mida lineal del cristall. Hi ha una distribució estadística pel fet que els cristalls no es formen tots en el mateix instant, sinó en diferents instants de temps i, per tant, creixen a velocitat constant partint de mides diferents, que corresponen al temps en què foren nucleats.

N(L) ens dóna el nombre de cristalls per unitat de volum que tenen una mida compresa entre 0 i L. Per tant, N/V és la concentració d'aquests cristalls en el magma (v. fig.

11.6, dreta), i N(L) representa la suma de tots aquests cristalls, fins a L. Les unitats de N/V seran nombre de cristalls/m^3.

La densitat de probabilitat, n(L), es defineix com la derivada de la funció N a L = L (v. fig. 11.7, esquerra), és a dir:

$$n(L) = \frac{d(N/V)}{dL} = \frac{1}{V}\frac{dN}{dL} \tag{11.20}$$

i, inversament, la funció de densitat acumulada serà, doncs:

$$N(L) = V\int_0^L n(L)dL \tag{11.21}$$

i la relació entre elles:

$$dN = n(L)VdL \tag{11.22}$$

Les relacions entre N i n s'il·lustren a la figura 11.7. Observeu a la definició que les unitats de N/V són cristalls/m^3. I les unitats de n (L) són cristalls/m^4. Amb aquestes relacions, si tenim la funció N(L), obtenim per diferenciació n(L) i, inversament, per integració de n(L) obtenim N, com resulta evident de les relacions anteriors.

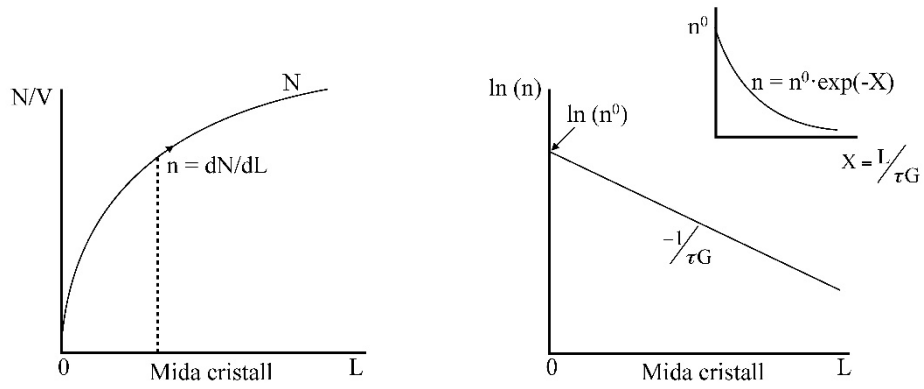


Fig. 11.7
A l'esquerra: Relació entre la densitat de probabilitat, n, i el nombre de cristalls, N. A la dreta: En un CSTC, el log (n/n^0) *vs.* L és una recta en un gràfic semi-log. Insert: La distribució de mides de cristalls és la llei exponencial $n = n^0 \exp(-X)$

Vegem ara la relació entre n(L) i el temps de retenció en un cristal·litzador continu de mescla perfecta. Aquestes funcions de distribució les calcularem a partir de les velocitats de cristal·lització en el tanc. Considereu la figura 11.6 (dreta) i observeu la zona ratllada d'ample ΔL. En un tanc en estat estacionari, es produeix una generació contínua de partícules que tenen una mida de *menys de L = L*. Aquest grup de partícules creix segons la fletxa de l'esquerra de la figura 11.6 i passa a engrandir la població de mida L = L + ΔL. D'altra banda, observeu la fletxa de la dreta del grup de partícules de L = L+ ΔL. Aquestes partícules creixeran i es faran *més grans* que L +ΔL, amb la qual cosa empobriran la població. En estat estacionari, el grup de partícules ratllades ha de ser constant. La diferència de la població de partícules compreses entre L = L i L + ΔL ha de ser constant; per tant, al corrent de sortida hi ha d'haver el grup de partícules en excés. Això es representa a la figura 11.6. Fem aquest balanç amb fórmules.

Cristalls per unitat de temps que assoleixen una mida L = L

$$\left.\frac{dN}{dt}\right|_L = n(L)V\frac{dL}{dt} = (VGn)\Big|_L \tag{11.23}$$

Cristalls que desapareixen per creixement fora de 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 estat estacionari, s'ha d'igualar al cabal de sortida de partícules de mida L, és a dir:

$$(VGn)\Big|_L - (n+dn)VG\Big|_{L+dL} = QndL \tag{11.25}$$

essent Q el cabal volumètric de sortida. Reordenant aquesta equació, tindrem:

$$-\frac{d(nG)}{dL} = \frac{n}{\tau} \tag{11.26}$$

on $\tau = V/Q$ = temps mitjà de residència. Com que G la prenem independent de L, dividint l'equació per G quedarà:

$$\frac{dn}{dL} + \frac{n}{G\tau} = 0 \tag{11.27}$$

que és el balanç en estat estacionari d'un cristal·litzador continu de mescla perfecta, que podem resoldre facilment. Primer fem el canvi de variables de L a X, en què X és la nova variable que globalitza la mida L, el temps d'estada en el CSTC i la velocitat de creixement dels cristalls, G. Es a dir:

$$X = \frac{LQ}{GV} = \frac{t}{\tau} \tag{11.28}$$

L'equació de balanç amb la variable X esdevé, separant variables:

$$\frac{dn}{n} = -\frac{dL}{G\tau} \tag{11.29}$$

que, integrada entre els límits següents:

$$\begin{aligned} L &= 0 \qquad n = n^0 \\ L &= L \qquad n = n \end{aligned} \tag{11.30 a, b}$$

dóna:

$$n = n^0 \exp(-X) \tag{11.31}$$

o, el que és el mateix:

$$\ln\frac{n}{n^0} = -X = \frac{-L}{G\tau} \tag{11.32}$$

on n^0 representa els nuclis de cristal·lització/m^3 presents inicialment. L'eq. 11.32 és la funció de densitat de probabilitat o el nombre de cristalls de cada mida, L.

Aquesta equació, n(X), és el punt de partida per calcular les corbes de distribució de la població de cristalls, les mides del cristalls, l'àrea i el volum o la massa de cristalls. Cal notar que, amb aquest model, la distribució obtinguda dóna una funció tal que el log (n/n^0) respecte de X o de L és una recta de pendent: -1 /Gτ ,cosa que demostra experimentalment la validesa del model teòric.

11.3.3 Moments

Per calcular la concentració de cristalls per unitat de volum d'aigües mares, caldrà fer només la integral següent:

$$N/V = \int_0^L ndL \tag{11.33}$$

i el nombre total de cristalls per unitat de volum a les aigües mares serà:

$$N/V = \int_0^\infty ndL \tag{11.34}$$

Llavors, la fracció de cristalls *de mida L o inferior* del total de cristalls serà:

$$\mu_0 = \frac{\int_0^L ndL}{\int_0^\infty ndL} = 1 - \exp(-X) \tag{11.35}$$

i la seva derivada valdrà:

$$\frac{d\mu_0}{dX} = \exp(-X) \tag{11.36}$$

en què l'expressió 1-exp(-X) s'obté d'inserir $n = n^0 \exp(-X)$ a les integrals i integrar.

L'expressió de μ de la figura 11.8 *a* (superior) és la distribució acumulada de la població de cristalls. De l'equació anterior, en podem obtenir fàcilment la derivada. A la figura 11.8 *a* i *b*, es donen les corbes de distribució acumulada i diferencial, respectivament, corresponents als moments de la distribució donats per l'expressió general següent. Per al moment d'ordre k de la variable X:

$$\mu_k = \frac{\int_0^L nX^k dL}{\int_0^\infty nX^k dL} \tag{11.37}$$

on k és l'ordre del moment. Per a k = 0, s'obté l'equació el moment d'ordre zero que val 1-exp(-X). Els valors dels moments del 0 fins al 3 s'indiquen a la taula 11.4 i a la figura 11.8. Per a k = 1, el moment correspon a la mida mitjana de la distribució, L mitjana, i, per a k = 3, correspon al volum o massa de la distribució. Els valors fraccionaris dels moments acumulats es corresponen a la retenció sobre els tamisos normalitzats corresponents a la X calculada a partir de les obertures dels tamisos.

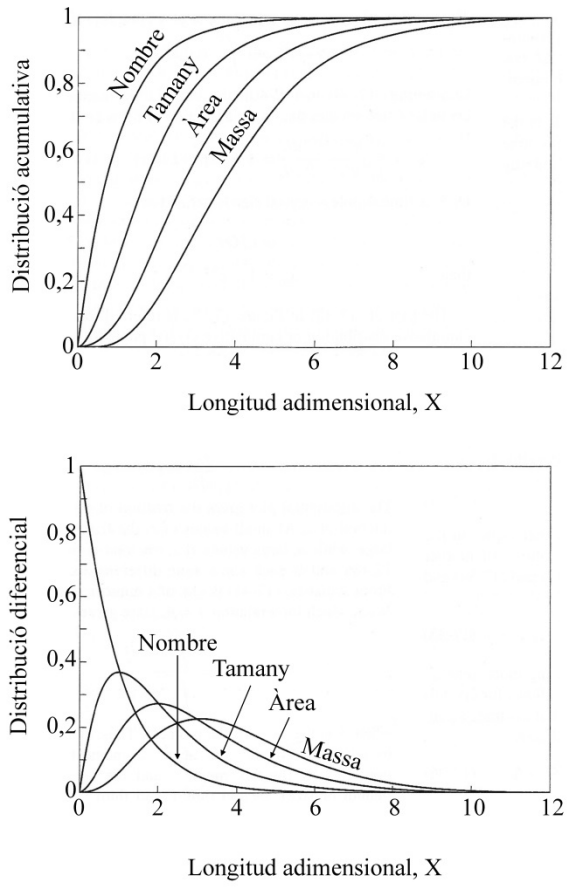


Fig. 11.8
A dalt: Distribució acumulada del nombre, la mida, l'àrea i la massa de cristalls en un CSTC. A baix: Distribució diferencial

Ordre del moment, k	**Variable**	**Distribució acumulada**	**Dist. diferencial**
Zero	Nombre, n	$\mu_0 = 1 - e^{-X}$	$d\mu_0/dX = e^{-X}$
Primer	Tamany, L	$\mu_1 = 1 - (1-X)\, e^{-X}$	$d\mu_1/dX = Xe^{-X}$
Segon	Area, a	$\mu_2 = 1 - (1+X+X^2/2)\, e^{-X}$	$d\mu_2/dX = X^2e^{-X}/2$
Tercer	Massa, m	$\mu_3 = 1 - (1+X+X^2/2+X^3/6)e^{-X}$	$d\mu_3/dX = X^3e^{-X}/6$

Taula 11.4. Expressions dels moments de la DMC en un cristal·litzador ben mesclat ideal, X = L/G τ

Segons l'equació de definició de X, les quatre funcions lineals i derivades que ens donen les ϕ i les seves derivades es representen a escala a la figura 11.9 de McCabe-Smith (1968). Per facilitar-ne la comparació amb les dades dels tamisos normalitzats, vegeu l'exemple 11.3.

Les corbes dels moments i les derivades de la figura 11.9 tenen caràcter universal, ja que corresponen a un cristal·litzador continu de mescla perfecta (Mullin, 2007). Els subíndexs m i n designen la massa i el nombre, respectivament.

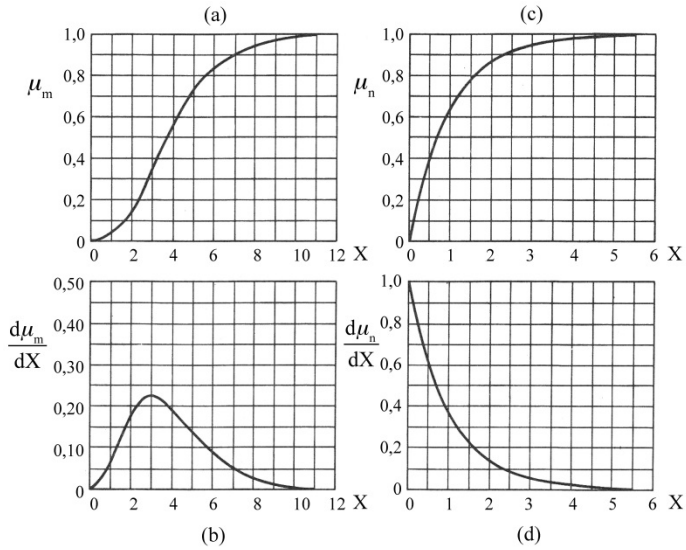


Fig. 11.9
Els moments i les seves derivades: *a*) i *b*) distribucions en massa; *c*) i *d*) distribucions en nombre; *a*) i *c*) distribucions acumulades, i *b*) i *d*) distribucions diferencials de població. Aquestes corbes són universals per al flux ben mesclat en un cristal·litzador continu. Font: figura adaptada de McCabe-Smith (1968)

11.3.4 Mida de cristall predominant o més freqüent

A la figura anterior, es veu que la distribució diferencial dóna un valor màxim entorn de X = 3, que correspon a un màxim de $d\mu_m/dX$ (fig. 11.9b). El valor que això produeix és el que dóna la màxima probabilitat. La mida d'aquest cristall s'anomena *mida predominant* i estadísticament és la de màxima freqüència, que val:

$$L_p = 3G\tau \tag{11.38}$$

Aquest valor és el que s'especifica quan es vol dissenyar el cristal·litzador en termes d'una mida de cristall. En podem dir *mida nominal* o *de disseny*.

11.3.5 Coeficients cinètics

Per utilitzar la n de distribució de població, $n = n^0 \exp(-X)$, el valor de τ el fixa el dissenyador, però els valors de G i n^0 depenen de la cinètica de cristal·lització. Les relacions que s'han d'utilitzar són: B^0 i n^0, que calculem a continuació. En general, podem escriure:

$$\lim_{L\to 0}\frac{dN}{dt} = \lim_{L\to 0}\frac{dL}{dt}\frac{dN}{dL} \tag{11.39}$$

d'on la relació útil serà la relació entre les tres derivades quan L =0, que es pot escriure com:

$$B^0 = Gn^0 \tag{11.40}$$

que ens dóna la velocitat de nucleació inicial en funció del valor inicial de n.

11.3.6 Nombre de cristalls per kg de producte

Sigui V el volum de magma. El nombre total de cristalls per unitat de volum valdrà:

$$\frac{n_c}{V} = \int_0^\infty ndL = \int_0^\infty n^0 e^{-x} \tau G dX = n^0 \tau G \tag{11.41}$$

i, llavors, la massa total de cristalls per unitat de volum de líquid serà:

$$\frac{m_c}{V} = \int_0^\infty mndL \tag{11.42}$$

amb les relacions següents per a esferes (v. eq.11.14):

$$\begin{aligned} V_p &= \phi_v L^3 \\ m &= 6\phi_v \rho L^3 \\ L^3 &= X^3 \left(\tau G\right)^3 \end{aligned} \tag{11.43 a, b, c}$$

I es tindrà que la integral anterior val:

$$\frac{m_c}{V} = 6\phi_v \rho n^0 \left(G\tau\right)^3 \int_0^\infty X^3 e^{-x} dX = 6\phi_v \rho n^0 \left(G\tau\right)^4 \tag{11.44}$$

que representa la massa de cristalls per unitat de volum. Si fem servir la mida L_p (mida predominant) com a mida de disseny, podem escriure la relació següent:

$$\frac{n_c}{m_c} = \frac{9}{2\phi_v \rho L_p^3} \tag{11.45}$$

11.3.7 Relació velocitat de nucleació *vs*. velocitat de producció

La velocitat de nucleació ha de ser suficient per generar almenys un nucli per cristall. Si anomenem C la producció de cristalls, en kg /h, el requisit de nucleació per hora ha de ser el següent:

$$B^0 = \frac{C' n_c}{m_c V} \tag{11.46}$$

on n_c/m_c ve donat per l'equació 11.45. Per tant, la nucleació en funció de la mida predominant valdrà:

$$B^0 = \frac{9C'}{2\phi_v \rho V L_p^3} \tag{11.47}$$

Exemple 11.5. Cristal·lització continua de $MgSO_4$: granulometria esperada.

Volem dimensionar un cristal·litzador continu de tipus CSTC, que opera amb una dissolució saturada a 30ºC, i en què es vol obtenir un producte de 20 malles Tyler (obertura: 0,833 mm). La producció serà de 4.500 kg/h. El cabal volumètric de suspensió previst serà de 14,58 m^3/h. Calculeu el volum del cristal·litzador i la velocitat de nucleació B^o necessària, i estimeu l'anàlisi granulomètrica prevista, suposant que el cristal·litzador opera en una mescla perfecta. La taula 11.2 ens indica que G a 30 ºC val $5,5 \times 10^{-4}$ m/h, independentment de la mida de partícula.

Prenem la mesura de les 20 malles Tyler com la mida predominant. D'aquí, $L_p = 0,833$ mm, amb un factor $\phi_v = 1$. El cabal volumètric serà Q = 14,58 m^3/h, i $G = 5,5 \times 10^{-4}$ m/h, de manera que el temps mitjà de residència en el cristal·litzador serà:

$$\tau = \frac{L_p}{3G} = \frac{0,833 \times 10^{-3}}{3 \times 5,5 \times 10^{-4}} = 0,505h$$

I el volum del cristal·litzador per aquest temps de residència de 0,505 h serà:

$$V = Q\tau = 14,58 \times 0,505 = 7,36m^3$$

La velocitat de nucleació necessària serà:

$$B^0 = \frac{9C'}{2\phi_v \rho V L^3} = \frac{9 \times 4.500}{2 \times 1 \times 1.750 \times 7,36 \times \left(0,833 \times 10^{-3}\right)^3} = 2,72 \times 10^9 \ \ nuclis/m^3 h$$

El càlcul dels cristalls serà $n = n^0 \exp(-X)$, amb X donat per l'equació 11.32, i $B^0 = G\, n^0$:

$$\ln \frac{n}{n^0} = -X = -\frac{L}{G\tau}$$

Calculem n^0:

$$n^0 = B^0/G = 2,72 \times 10^9 / 5,5 \times 10^{-4} = 4,945 \times 10^{12} \ \ nuc/m^4$$

d'on la DMC serà l'exponencial següent:

$$\ln n = \ln\left(4,945 \times 10^{12}\right) - \frac{L}{0,505 \times 5,5 \times 10^{-4}} = 29,23 - 3.600L$$

amb L expressat en m. L'equació exponencial ens diu que ln n és una recta de pendent $-1/G\tau = -3.600$, tal com suggereix la teoria. A partir d'aquesta equació, podem calcular la distribució granulomètrica dels cristalls, expressant la fracció retinguda als tamisos normalitzats en funció de X, tal com s'expressa a la taula següent de l'exemple 11.3.

Malles Tyler	Obertura del tamís L (mm)	X	Acumulat* (fracció)	Diferencial (fracció)
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

Taula de l'exemple 11.5 Granulometria dels cristalls calculada
*μ_3 de la taula 11.5

11.4. Cristal·lització discontínua

En biotecnologia, té interès la cristal·lització contínua tal com hem vist, perquè dóna una base racional per entendre què passa en un cristal·litzador en què hi ha nucleació i creixement. Tanmateix, la cristal·lització d'alguns bioproductes importants es fa per càrregues. Dues operacions són especialment importants:

– Cristal·lització en discontinu, amb una progressió de temperatura decreixent a fi de mantenir constant la sobresaturació.

– Cristal·lització en discontinu addicionant un no solvent (per exemple, etanol) que provoqui la cristal·lització per disminució de la sobresaturació (v. *supra* 11.1.2).

Les dues modalitats es fan servir en la cristal·lització d'antibiòtics.

Per què es fan aquestes operacions? A la figura 11.10, es mostren tres opcions de disminució de la temperatura durant la cristal·lització, que es realitzen a la pràctica. En el cas primer (fig. 11.10, a), és semblant al que fem al laboratori. Es deixa que hi hagi un refredament natural del tanc, que es tradueix en una caiguda exponencial de la temperatura amb el temps. Aquest refredament és incontrolat i condueix a una morfologia irregular i de qualitat una mica deficient. En el segon cas, es fa un refredament lineal *(b)*, basat en el control de la temperatura manipulant el cabal de refrigerant. Això constitueix una lleugera millora respecte a la qualitat dels cristalls. La tercera opció consisteix a imposar un perfil controlat de T *vs*. t. Primer el refredament es petit i, al final, més gran.

Aquest tipus d'operació es practica, per exemple, en la cristal·lització de tetraciclines, i en antibiòtics similars. La variable optimitzada és la temperatura d'operació durant el procés i la variable manipulada és el cabal de refrigerant, d'acord amb un programa establert. Vegem a continuació un tractament senzill del disseny de l'operació quan hi imposem la condició de sobresaturació constant.

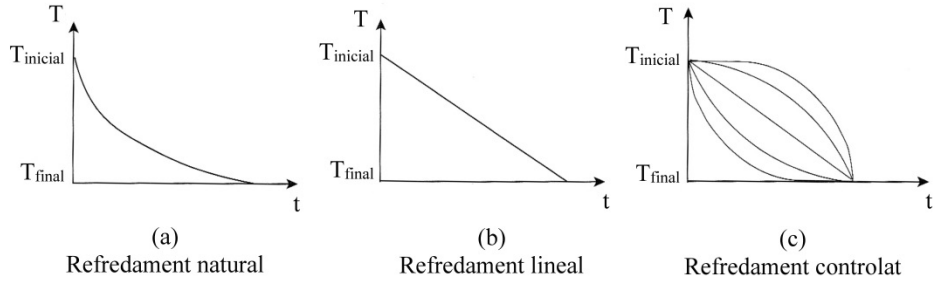


Fig. 11.10
Diferents perfils de temperatura-temps possibles en un cristal·litzador per càrregues: *a*) refredament natural; *b*) lineal variant el cabal de refrigerant, i *d*) perfils imposats variant el cabal de refrigerant

11.4.1 Refredament temperatura-temps a sobresaturació constant

Al començament del procés en discontinu, amb altes velocitats de refredament, es produeix una nucleació elevada, que dóna lloc a cristalls petits, no uniformes, que embruten les superfícies de transmissió de calor. Una estratègia adequada és mantenir constant la sobresaturació durant el refredament.

Com que hem estudiat el balanç de població dels cristalls amb les funcions n (L) i N (L), continuarem utilitzant aquesta aproximació d'una manera senzilla.

Durant el procés, mantindrem la derivada dT/dt o la corba de refredament, de manera que el canvi de T *vs*. t sigui proporcional a la velocitat de cristal·lització, és a dir:

$$\frac{dT}{dt} = -\frac{1}{k_T}\frac{dC}{dt} \tag{11.48}$$

essent C la concentració de solut dissolt que cristal·litza i k_T una constant empírica fàcilment calculable a la pràctica. L'equació de balanç en operació discontinua, basada en l'equació de continuïtat, tindrà *en discontinu* la forma següent:

$$\frac{dn}{dt} + \frac{d\left(nG\right)}{dL} = 0 \tag{11.49}$$

Aquesta equació és ara zero perquè, en discontinu, els cabals d'entrada i sortida són zero (solament deixem cristal·litzar, sense addicionar-hi ni treure'n res. L'equació de continuïtat ens indica que la variació de n(L) amb el temps és igual a l'augment de cristalls (per al cas en què els volums de líquid i de cristalls siguin iguals). L'equació 11.49 anterior té solució analítica emprant la transformada de Laplace i ha estat publicada per diversos autors (Belter *et al*., 1988).

A t = 0, són possibles dues condicions inicials: 1) que hi hagi cristalls de sembra posats expressament i 2) que hi hagi nucleació homogènia en curs. Això determina el valor inicial de n.

Per al cas de l'addició de llavors de sembra, la solució de n (t) és (Garcia *et al*., 2003):

$$n\left(t\right) = n^0 \delta\left(t - L/G\right) \tag{11.50}$$

on δ és la funció impuls, centrada a t = L/G.

Per a nucleació normal, sense sembra de cristalls, es té:

$$n(t) = n^0 G u(t - L/G) \tag{11.51}$$

on *u* és l'esglaó unitari a t = L/G. En ambdós casos, la n(t) que en resulta és senzilla.

D'altra banda, la massa de cristalls es pot calcular en funció de L, amb la integral següent:

$$M = \rho \phi_v \int_0^L n L^3 dL \qquad L \to \infty \tag{11.52}$$

posant n(t) sota la integral, fent el canvi, dL = G dt, i integrant respecte al temps t, s'obté:

$$M = \frac{\phi_v \rho}{4} B^0 G^3 t^4 \quad o\ bé \quad \frac{dM}{dt} = \phi_v \rho B^0 G^3 t^3 \tag{11.53}$$

Sobresaturació constant. Per calcular el perfil T *vs*. t, fem servir ara l'última derivada, l'equació de dT/dt anterior i un balanç global. L'equació que relaciona el balanç global amb la massa de cristalls presents a la fase de cristalls és:

$$\frac{dM}{dt} = -\frac{dC}{dt} \tag{11.54}$$

d'on, fent servir la dM/dt trobada, la variació de T amb t serà:

$$\frac{dT}{dt} = -\phi_v \rho B^0 G^3 t^3 \tag{11.55}$$

que es pot integrar entre els límits següents: per a t = 0, T = T_0, i per a t = t_f, T = T_f, essent T_f la temperatura final i t_f, el temps final. A la pràctica, aquests valors estaran especificats. La integral T-t, l'obtenim operant amb la darrera equació, és a dir:

$$\int_{T0}^{T} dT = -\frac{\phi_v \rho B^0 G^3}{k_T} \int_0^t t^3 dt \tag{11.56}$$

que, integrant, dóna l'expressió següent de T (t):

$$T = T_0 - \frac{\phi_v \rho B^0 G^3}{4 k_T} t^4 \tag{11.57}$$

que és *el perfil de refredament* T-t durant l'operació de cristal·lització, per càrregues, a sobresaturació constant. En aquesta equació, T_0 és la temperatura inicial en què es comença a refredar i T, la temperatura de consigna del cristal·litzador a t = t, que ens permet manipular el cabal de refrigerant. La seva integració ens dóna el perfil T-t.

Molt sovint, no disposem dels valors numèrics precisos de tots els paràmetres que apareixen a l'equació 11.56. Només sabem que són constants durant el refredament. Tanmateix, en podem calcular el perfil fent els canvis següents, amb el raonament que s'exposa a continuació. Siguin T_0 la temperatura inicial a t = 0 i T_f la temperatura final corresponent al temps final t_f. T_0-T serà la baixada de temperatura durant la qual volem fer la cristal·lització. Manipulant l'equació anterior, podem escriure la relació següent, que es complirà durant el refredament:

$$\frac{T_0 - T}{T_0 - T_f} = \left(\frac{t}{t_f}\right)^4 = \theta^4 \qquad (11.58)$$

on θ és la relació t/t_f, que és la fracció del temps d'operació respecte el temps final. És a dir, és la fracció del temps de l'operació fins al final. A la pràctica, t_f és de l'ordre d'unes poques hores. L'expressió anterior ens dóna la corba de refredament. A l'exemple 11.4, s'explica com calcular-la en la cristal·lització de la tetraciclina.

Exemple 11.6. Cristal·lització de tetraciclina per càrregues: corba de refredament.

Diversos autors (Belter *et al*., 1988) han publicat els paràmetres cinètics d'aquesta cristal·lització. La tetraciclina se sap que cristal·litza en el sistema cúbic, i la densitat dels cristalls és de 1,06 g/cm^3. El procés s'inicia a 20 ºC i la temperatura es disminueix fins a 0 ºC, mantenint constant la sobresaturació, que s'estima que val 0,01 g/cm^3. Es coneixen les dades següents: velocitat de nucleació = 0,1 nuclis/cm^3/s i coeficient de transferència de massa al cristall = 6,5 × 10^{-5} cm/s.

La constant de proporcionalitat k_T és desconeguda, però se sap que, per a un volum de dissolució de V = 1 L i una concentració inicial de C_0 = 100 g/l de tetraciclina i C final, el temps de cristal·lització és de unes 2 hores, baixant la T a una velocitat de 10ºC/h. La C final la suposarem zero.

Fent la hipòtesi de sobresaturació constant i nucleació pròpia:

a) Estimeu k_T.

b) Calculeu la corba de refredament T-t.

a) Recordem que l'expressió del temps de refredament és:

$$t_f = \left(\frac{4k_T\left(T_0 - T_f\right)}{\phi_v \rho n^0 G^3}\right)^{1/4}$$

que ens dóna el temps necessari per refredar de T_0 a T_f a sobresaturació constant.

Tenim tots els paràmetres excepte k_T. Si, d'un volum V = 1 L, cristal·litzen 100 g de tetraciclina fins a pràcticament 0 a les aigües mares en unes 1-3 hores (~2 hores), tindrem que la constant k_T ha de valer, aproximadament:

$$\frac{\Delta C}{\Delta t} = \frac{100}{2} = 50\, g/L = k_T \times 10\, C/h \quad d'on \quad k_T \approx 5\times 10^{-3}\, g/cm^3\, °C$$

Llavors, el valor de t_f serà:

$$t_f = \left(\frac{4k_T \left(T_0 - T_f\right)}{\phi_v \rho n^0 G^3} \right)^{1/4} = \left(\frac{4\times 5\times 10^{-3} \times 20}{1,06 \times \left(\frac{0,100}{1,2\times 10^{-6}} \right) \left(1,2\times 10^{-6}\right)^3} \right)^{1/4} = 7.140 s = 1,98 h$$

És a dir, imposarem unes 2 hores per baixar de 20 a 0 ºC mantenint la sobresaturació constant. Amb aquest valor, podrem calcular la corba de refredament següent, T *vs*. t:

$$\frac{T_0 - T}{T_0 - T_f} = \left(t/t_f\right)^4$$

$$\frac{20 - T}{20} = \left(t/1,98\right)^4$$

amb T_f= 0 ºC i t_f= 1,98 h. La corba T *vs*. t, del cristal·litzador serà a partir de l'equació anterior:

t/t_f	$(t/t_f)^4$	T,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 es representa a la figura de l'exemple 11.4.

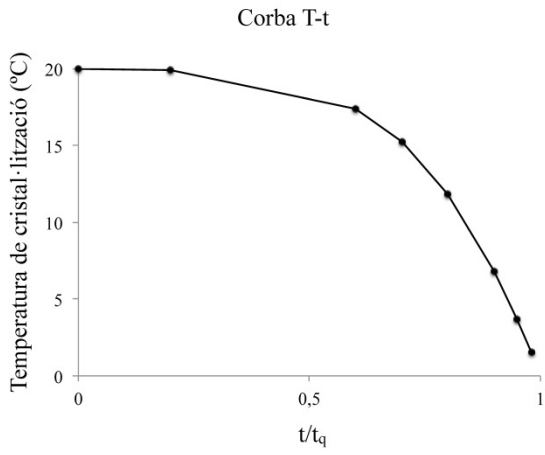


Fig. 11.11. Cristal·lització de tetraciclina per càrregues. Cabal T-t calculat

11.4.2 Cristal·lització discontínua amb dilució

De la mateixa manera que la sobresaturació és fàcilment assolible amb refredament, la solubilitat d'una molècula biorgànica es pot disminuir amb l'addició d'un diluent no solvent miscible amb aigua, per exemple etanol. Quan hem quantificat la sobresaturació, hem vist que l'efecte d'un no solvent D sobre la sobresaturació es pot escriure com:

$$\ln \frac{C}{Cs} = a - bD \tag{11.59}$$

on C/Cs = S és la sobresaturació expressada com a quocient, i les constants *a* i *b* són valors experimentals que correlacionen el canvi de sobresaturació amb la concentració del diluent D. L'equació anterior, la podem escriure com:

$$C = Cs \exp(a - bD) \tag{11.60}$$

I la seva derivada respecte de t valdrà:

$$\frac{dC}{dt} = Cse^{a-bD}(-b)\frac{dD}{dt} \tag{11.61}$$

on Cs és la concentració de saturació i dD/dt és el canvi que hem d'assolir durant el procés d'addició de no solvent. Operem de la mateixa forma com hem fet l'operació de canvi de temperatura. Imposem que la velocitat d'addició de D sigui proporcional al canvi del grau de sobresaturació. Com abans, tenim:

$$\frac{dC}{dt} = \phi_v \rho B^0 G^3 t^3 \tag{11.62}$$

Llavors, fem:

$$\frac{dC}{dt} = \frac{dC}{dD} \times \frac{dD}{dt} \tag{11.63}$$

i, substituint les derivades, tindrem:

$$-Csb\exp(a-bD)\frac{dD}{dt}=-\phi_v\rho B^0G^3t^3 \tag{11.64}$$

Separant variables, podem integrar l'expressió resultant, que és:

$$\exp(a-bD)dD=\frac{\phi_v\rho B^0G^3t^3dt}{Csb} \tag{11.65}$$

d'on s'obté el valor de D (t), de forma explícita:

$$D(t)=-\frac{1}{b}\ln\left(1-\frac{\phi_v\rho B^0G^3}{4Cs}t^4e^{-a}\right) \tag{11.66}$$

on D (t) serà l'evolució necessària de la concentració de solvent a cada temps, a Cs = constant.

Per veure les magnituds que intervenen en un sistema amb dilució, vegeu l'exemple següent.

Exemple 11.7. Cristal·lització amb no solvent.

Calculeu quanta proteïna precipitarà quan 2 L de solució aquosa que conté 50g/L de proteïna s'afegeixen a 5 L d'etanol pur, i això dóna una concentració de 0,5 g/L relatius al solvent final d'etanol+aigua.

Proteïna inicial als 2L:

$$2\times 50=100g$$

$$100-0,5\times(5+2)=100-3,5=96,5g$$

La proteïna precipitada serà 96,5 g i quedaran en solució 3,5 g.

11.4.3 Model del procés de cristal·lització amb dilució

Al paràgraf 11.4.2, s'han donat les expressions de la cristal·lització en *semibatch*, en funció de paràmetres cinètics. Així, les equacions 11.62 a 11.66 són exactes i es poden aplicar si es coneixen els paràmetres cinètics, però en general això no és així. A l'exemple 11.7, s'observa que els paràmetres de l'expressió de l'equació 11.59 es poden obtenir amb un mínim de dades experimentals. Així doncs, als exemples 11.8 i 11.9 s'estudia la solubilitat relativa (respecte d'aigua pura a igual T) de la L-serina en solucions de MeO+H_2O, a una temperatura determinada. S'obté una expressió del tipus de l'equació 11.59 per regressió.

A continuació, fem un model quantitatiu de la cristal·lització amb dilució en semicontinu. Ens referim al procés de la figura 11.12, en què es mostra l'addició del diluent.

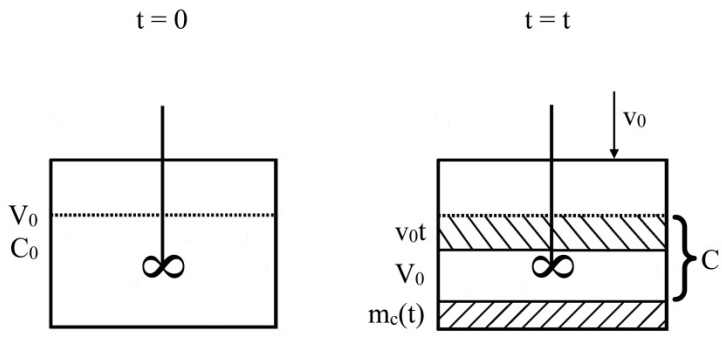


Fig. 11.12 Cristal.lització per càrregues per al cas d´addició de no-solvent. v_0 = el cabal d´alimentació de diluent, V_0 = volum de solució inicial; i $m_c(t)$= massa de cristalls produits al temps t=t; C_0= Conc. inicial de solut dissolt.

A t = 0, tenim un volum V_0 de solució aquosa saturada a la temperatura T = T i, per tant, la concentració C_0 és igual a la concentració de saturació a T = T, és a dir, $C_0 = C_s$ (T). A t = 0, el cabal d'addició de MeOH és zero, $v_0 = 0$. Hi ha una determinada agitació constant que assegura la bona mescla del MeOH afegit al tanc de cristal·lització. Comencem l'addició de MeOH; el volum total de líquid a t > 0 complirà:

$$\frac{dV(t)}{dt} = v_0 \quad \text{o bé:} \quad V(t)=V_0 + v_0 \cdot t \tag{11.67}$$

Amb l'addició de MeOH, a t > 0 es comencen a formar cristalls, que precipiten com a fase sòlida. El valor de D definit a 11.4.2, expressat en % en volum de no solvent, valdrà a t = t:

$$D(t) = \frac{100 v_0 t}{V_0 + v_0 t} = \frac{100}{\frac{V_0}{v_0 t} + 1} \tag{11.68}$$

i la massa de cristalls formats a t = t valdrà:

$$m_c(t) = V_0 C_0 - V(t) C \tag{11.69}$$

on V(t) ve donat per l'equació 11.67 *b*. Fent servir l'equació 11.59 per expressar la concentració de solut quan D = D(t), la massa de cristalls formats a t = t serà:

$$m_c(t) = V_0 C_0 - (V_0 + v_0 t) C_s \exp[a - bD(t)] \tag{11.70}$$

on D(t) ve donat per l'equació (11.68). Per veure com s'aplica el càlcul, vegeu els exemples 11.8 i 11.9.

A la figura 11.13, es representa la solubilitat relativa de la L-serina en dissolucions aquoses de MeOH, respecte d'aigua, a 10 i a 30 ºC, en funció del % vol de MeOH. La informació de la figura 11.13 és fonamental per calcular la cristal·lització per dilució per càrregues (v. exemples 11.8 i 11.9).

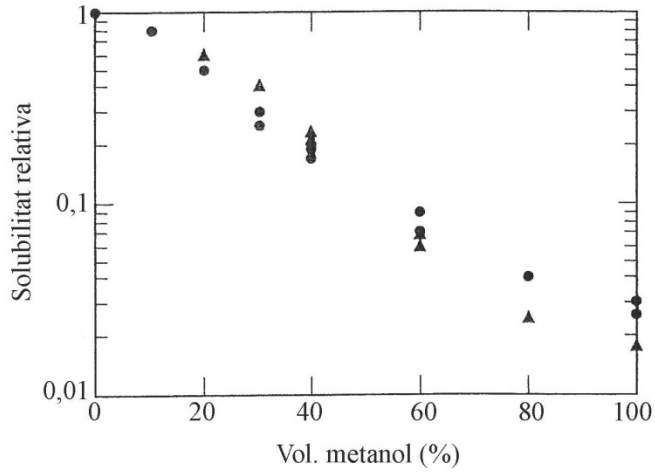


Fig. 11.13
Solubilitat de L-serina en mescles aigua-metanol/ solubilitat de L-serina en aigua, a la mateixa temperatura (sulubiltat relativa), en funció del % vol de metanol en el medi. El triangles son a 30ºC, circles a 10ºC. Vegeu exemples 11.8 i 11.9

Exemple 11.8. Cristal·lització per addició de diluent

La solubilitat relativa (respecte d'aigua pura a igual T) de la L-serina en mescles aquoses de metanol més aigua fou estudiada per Charmoleu i Rousseau. En aigua pura a una temperatura T (ºC), la solubilitat es pot expressar com:

$$Cs\ (g/1.000\ mL\ d'aigua) = 146{,}13 + 8{,}0834\ T\ (per\ a\ T = 3{,}5\ ºC\ a\ 50\ ºC)$$

Les solubilitats en solucions aquoses de metanol valen en funció de D = % vol de MeOH els valors de la taula següent (columnes 1ª i 2ª) i representen les solubilitats relatives, en aquest cas a 10ºC:

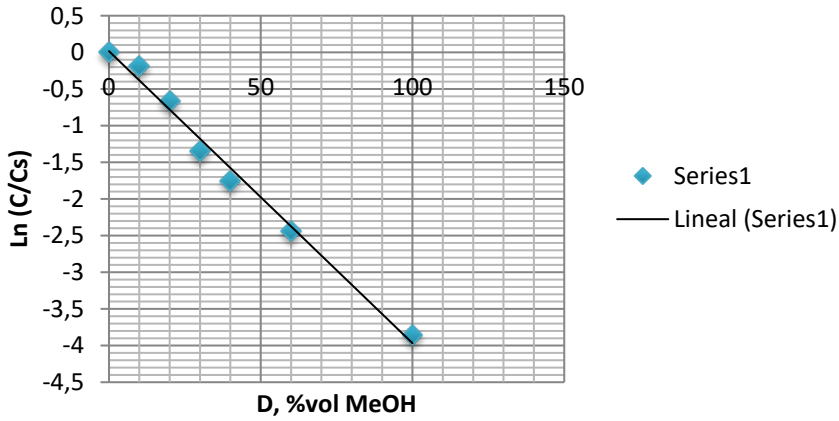
D % vol	C (g/ 100 mL)	Sol. relativa $(C/Cs)_D$	ln $(C/Cs)_D$
0 (en aigua pura)	22,69	1	0
10	19,	0,83	-0,186
20	11,576	0,51	-0,67
30	5,951	0,26	-1,35
40	3,957	0,171	-1,75
60	1,97	0,087	-2,44
80	0,037	0,037	-3,29
100	0,592	0,026	-3,85

Valors de C *vs*. D a T = 10ºC (v. *AIChE J*, 1991**, 37,** 1121)

A les columnes 3ª i 4ª es produeix la disminució calculada de la solubilitat de la L-serina a concentracions creixents de % D, d'acord amb les equacions 11.8 i 11.59 respecte de la solubilitat en aigua pura a la mateixa temperatura. Els valors de C i D són experimentals.

1. Calculeu els coeficients *a* i *b* de l'equació 11.59, ln (C/Cs) = a - b D, on D és el % vol de MeOH.

1. Per calcular l'expressió teòrica de l'equació 59, fem la regressió de ln C/Cs *vs.* D de dades de la columna 4ª respecte de la 1ª columna, *sense obligar* que la recta de regressió passi per l'origen.



L'expressió que s'obté és la següent:

$\ln (C/Cs)_D = a - bD$, amb a = 0,016 i b = 0,0398, i amb D expressat en % vol de MeOH (R^2 = 0,988), amb un valor a l'origen proper a zero, que és significatiu i que reflecteix el valor de la sobresaturació.

Aquesta expressió és útil per calcular el procés de cristal·lització de la L-serina per dilució, com es mostra a l'exemple 11.9.

Exemple 11.9. Cristal·lització de la L-serina per addició de no-solvent: càlcul del procés a la pràctica

Es vol purificar L-serina obtinguda com a metabòlit en un procés de fermentació. Se'n dissolen 22,5 kg en 50 L d'aigua destil·lada a 50 ºC, a fi d'assegurar-ne la dissolució completa, en un tanc de cristal·lització amb bona agitació. Llavors, es refreda a 10 ºC per tal de saturar la solució a aquesta temperatura. Tot seguit, es comença a afegir MeOH a un cabal de 6 L/min, durant un temps total d'addició de 12,5 min. Prèviament, al laboratori s'ha demostrat que aquest cabal d'addició dóna una puresa correcta del solut.

1. Calculeu la concentració de L-serina al principi del procés a T = 10 ºC i la sobresaturació que es tindrà a t = 0.

2. Calculeu el % vol de MeOH en la solució aquosa, *a la meitat del període d'addició*; la concentració de solut en el líquid del tanc, i la massa de cristalls precipitats en aquest moment.

3. Calculeu la massa de cristalls formats durant tota la dosificació.

Nota: Feu servir l'expressió numèrica de ln C/Cs = a - bD de l'exemple anterior per calcular C a cada temps t, amb a = 0,016.

1) Per a D = 0, tenim V_0 = 50 L, C_0 = 22,5/50 = 0,45 kg/L = 45 kg/100 kg H_2O, d'on V_0C_0 = 22,5 kg de serina. Podem suposar que la sobresaturació inicial, C/C_s, val: $(C/Cs)_{D=0}$ = exp(a)= exp (0,016) = 1,016 (en aigua pura), que és un valor habitual a prop de la solubilitat d'equilibri.

2) A la meitat del període d'addició, per a t = 6 min, aplicant l'equació 11.68, per a un cabal de v_0 = 6 L/min:

$$\%D = \frac{100 \times 6t}{50 + 6t} = \frac{100 \times 6 \times 6}{50 + 6 \times 6} = 42\%$$

Aplicant ara l'equació 11.69, la massa de cristalls formats a t = 6 min valdrà:

$$V_0C_0 - (50 + 6 \times 6) \times 0,45 \times \exp(0,016 - 0,0398 \times 42) = 15 \text{ kg}$$

d'on m_c (t = 6) = 15 kg de cristalls.

3. La resolució de l'equació 11.69 a diversos temps dóna la massa de cristalls al llarg del procés de cristal·lització. Així doncs:

Temps, t min	**V_0+v_0t, L**	**D(t),% vol**	**C kg/L**	**Cristalls, $m_c(t)$, 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

Els resultats de l'exemple 11.9 seran correctes si el cabal d'addició, v_0 = 6 L/min, és *suficientment lent* per assegurar que només cristal·litzi la L-serina. Si és massa ràpid, la puresa se'n veurà afectada. Charmoleu i Rousseau assenyalen la influència de diverses variables que afecten la puresa de la L-serina obtinguda.

Les variables d'operació que hi influeixen més són la intensitat d'agitació i la velocitat de refredament, que en aquest exemple no s'han considerat. L'optimització de les tres variables (velocitat d'addició, velocitat de refredament i agitació) s'ha de fer a la planta pilot.

11.5 Cristal·litzadors industrials

Hem insistit que els dos mètodes de produir la sobresaturació de la dissolució inicial són el refredament i l'evaporació. Hi ha quatre tipus de cristal·litzadors, que resumim a continuació i que es relacionen a la taula 11.5, junt amb camps d'utilitat. A la taula 11.6, es donen les diferències entre els cristal·litzadors per càrregues i unitats contínues.

En primer lloc, cal saber si l'operació es farà per càrregues o en continu. El cas per càrregues és generalment casolà, però requereix controlar més variables. Per contra, el disseny continu genera gran producció i, per tant, pot no ser adequat en biotecnologia, en què es tenen produccions petites. En continu, són usuals més d'una tona de cristalls per hora i cabals de 20 m^3 per hora.

Taula 11.5
Tipus i selecció de cristal.litzadors

Tipus de cristal.litzador	Aplicacions	Exemples per producte
Tanc	Per càrregues, escala petita	Acids grassos, olis vegetals, sucres, prod. farmacèutics
Superfície rascada	Embrutiment important, viscositat alta. Per càrregues	Cloro- benzens, acids orgànics, ceres,urea, naftalens, prod farmacèutics
Magma circulant	Cristalls grans, gran capacitat	Sals inorgàniques, KCl, etc
Licor circulant	Cristalls uniformes, gran capacitat,	Sal inorgàniques, NO3K i Na i Ag, etc.

Taula 11.6
Comparació entre un cristal·litzador per càrregues i un aparell continu

Per càrregues	Aparell continu
Flexible	No és flexible
Inversió petita	Elevat cost d´inversió
Poc treball desenvolupament	Elevat treball de desenvolupament
Mala reproduïbilitat	Bona reproduïbilitat

Podem parlar dels aparells següents:

Cristal·litzadors de tanc. És el tipus més simple i és el que fem servir a petita escala. Refredem les aigües mares *a* en un tanc equipat amb agitador i un serpentí o camisa de doble fons, per on s'alimenta vapor o aigua freda o aigua glicolada. Treballen per càrregues i al tanc fem totes les operacions una darrera l'altra.

Cristal·litzadors de superfície rascada. Són similars al de tanc però les superfícies de transmissió de calor estan rascades per promoure la transmissió de calor. La cristal·lització en si es produeix fora del tanc, en una canal agitada, com en els tipus Swenson-Walker o Wulff-Bock, que estan proveïts d'un canal o d'un bressol oscil·lant, respectivament. Es reciclen les aigües mares al tanc. Produeixen cristalls petits.

Cristal·litzador de magma circulant. Es pot veure a la figura 11.14. Es tracta d'una parell de gran capacitat en què hi ha una mescla perfecta gràcies a la recirculació a

través del bescanviador de calor i reciclat a l'evaporador que treballa al buit. Hi ha diversos dissenys en els quals la supersaturació es porta a terme per evaporació al buit, o per circulació a través d'un refredador per baixar la temperatura i així aconseguir la supersaturació (v. fig. 11.14 dreta).

Cristal·litzadors de licor circulant. Se'n dóna una idea a la figura 11.14. En aquest tipus (tipus Oslo), solament circulen les aigües mares a través de la zona d'escalfament o refredament. Els cristalls es mantenen en suspensió i es retenen a la zona de cristal·lització. Aquest tipus de cristal·litzadors donen cristalls més uniformes.

Cal remarcar que, en biotecnologia o a escala reduïda, podem fer servir cristal·litzadors discontinus de tanc o continus mesclats amb agitació. No creiem que fem servir els tipus més grans per l'escala d'operació reduïda pròpia de biotecnologia.

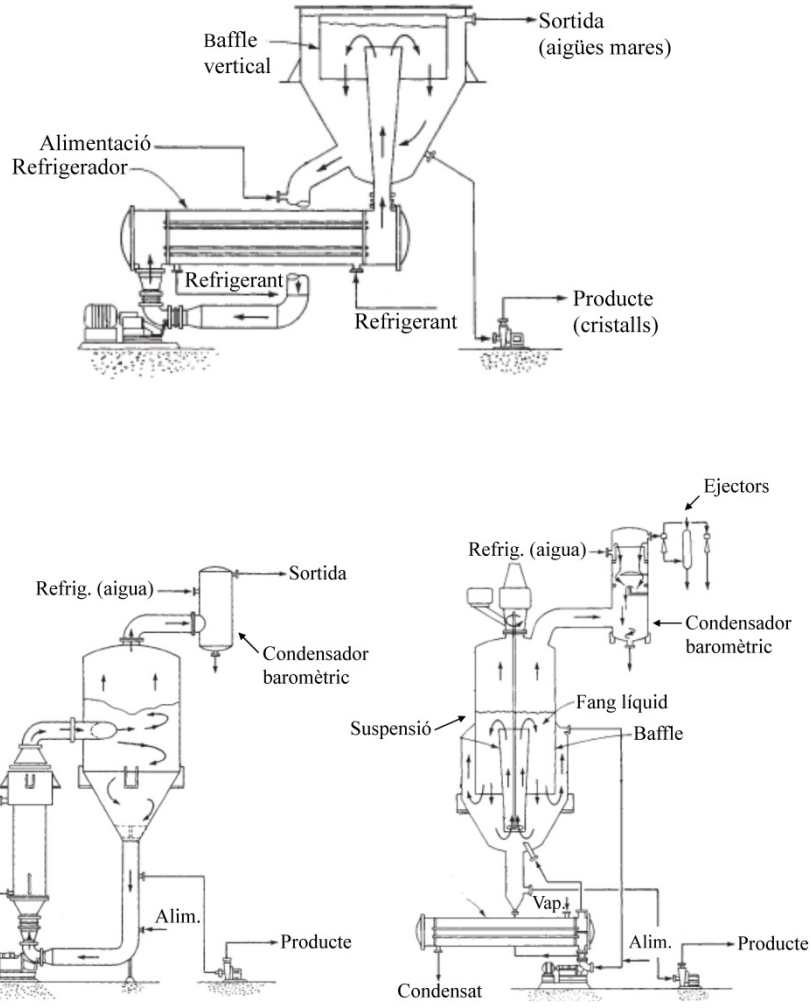


Fig. 11.14
Cristal·litzador per refredament. El tanc superior fa de separador de cristalls (Perry-Green, 1997). A la dreta: Cristal·litzador de recirculació d'aigües mares, tipus Oslo. El dipòsit inferior decanta cristalls.

11.6 Canvi d'escala dels cristal·litzadors

Si el nostre departament de recerca s'encarrega de fer les proves pilot d'un cristal·litzador agitat, cal fixar les mides del pilot per tenir-ne dades significatives. D'altra banda, cal tenir present quin és el problema de l'aparell.

Per exemple, si aspirem a modelar un cristal·litzador agitat continu gran (de 10 m^3 o més), caldrà fer proves amb un model que almenys tingui uns 20-30 L de volum, amb una suspensió real de cristalls, és a dir, amb unes partícules de 30 a 500 micres, i observar la influència de la velocitat de l'agitador en el nivell de la suspensió de les partícules més grans. El problema serà, doncs, reproduir la qualitat de la suspensió líquid-sòlid. Al capítol 6 (precipitació de sòlids), hem estudiat amb detall l'extrapolació d'agitadors. Es recomana al lector consultar l'apartat 6.5 i els problemes 6.5.1 i 6.5.2, per veure com es fan els càlculs, que són semblants per a la cristal·lització.

Harrison (2003) recomana estudiar models petits (1-2 L), però els recipients de cristal·lització poden ser força més grans. Cal tenir en compte que la densitat dels cristalls pot ser tan gran com 1.500 kg/m^3. El cristal·litzador serà crític pel que fa a l'agitació i la suspensió de cristalls densos. Per a la suspensió de grans dimensions, Dikey (Chopey, 1994) recomana un factor d'escala lineal de 10, és a dir, amb recipients pilot de 0,5 a 0,8 m d'altura o profunditat, i amb semblança geomètrica.

Segons alguns autors, tres coses són importants: el flux turbulent, el criteri de potència per unitat de volum constant ($n = 2/3$) i vigilar la velocitat mínima de suspensió dels *cristalls més grans*. Però Dikey recomana, per a la suspensió de partícules, més aviat un criteri d'extrapolació basat en un exponent de $n = ¾$, en comptes de 2/3, per a aparells grans (de més de 10 m^3). Vegeu el capítol 6 per als càlculs d'extrapolació i els treballs clàssics d'agitació (Gates *et al*., 1976).

11.7 Notació

A	Àrea, en m^2
Bº	Velocitat inicial de nucleació, en nuclis/m^3.s
C/Cs	Sobresaturació, ec 11.5
C_0	Concentració inicial, en kg/kg agua
Cs	Concentració de saturació, en kg/kg agua
C´	Producció cristalls, kg/s
D	Concentraciò diluient, en % vol., ec. 11.68
d	Diàmetro de la partícula, en m
ΔC	Sobresaturació, kg/kg aigua
ΔH_f	Calor latent de fusió, en J/kg
ΔL	Aument de longitut en un Δt, ec. 11.19
E	Coeficient de repartiment
F	Cabal, en m^3/s
G	Velocitat de creixement del cristall, en m/s
k_g	Coeficient de transferència de masa, en m/s
k_T	Constant empírica, eq 11.48
L	Variable mida de cristall, en m, eq. 11.13
L_p	Mida de cristall predominant, en m
M	Massa de cristalls de mides de 0 a L, en kg
N (L)	Nombre de cristalls de mides de 0 a L
n (L)	Densitat de probabilitat, cristalls/m^4
nº	Nuclis inicials, nuclis/m^4
n_c	Nombre total de cristalls
m_c	Massa total de cristalls, en kg
Q	Cabal, en m^3/s
R_g	Cte. gas ideal = 0,083 bar·m^3/kmol·K
Sp	Superfície partícula, en m^2
S	Sobresaturació, ec. (11.5)
t	Temps, en s
T	Temperatura inicial, T_0, y final, T_f
T_m	Temperatura de fusió, en K
u(t)	Esglaó unitari en t=0
V	Volum de magma, en m^3
v_0	Cabal, en m^3/s
Vp	Volumen de una partícula, en m^3
X	Mida adimensional, X= LQ/GV
x_s	Solubilitat ideal, en fracció molar
β	Factor de separació, de dos soluts, A i B
δ (t)	Impulso de Dirac en t = 0

σ	S^{-1}
μ_k	Moment d´ordre k, ec. 11.37
τ	Temps mitjà de residència, V/Q, en s
ϕ	Factors de forma, ec. 11.15 y 11.16
θ	T/T_f
ρ	Densitat dels cristalls,en kg/m^3

Assecatge

La cristal·lització i l'assecatge de sòlids són operacions addicionals d'acabat del bioproducte que formen part dels processos normals de la planta de producció i no són específiques de la biotecnologia –l'assecatge, per exemple, és molt comú en la indústria de procés, de polímers i d'aliments. Tanmateix, les condicions de suavitat del bioproducte en què s'ha de portar a terme l'assecatge i les tendències modernes (pel que fa als tipus d'assecadors més freqüents en biotecnologia) fan que l'estudiem aquí amb una certa amplitud. En la indústria de procés gran (p. ex., de producció de polímers), es procura eliminar la humitat lliure mecànicament abans d'emprar l'assecatge, que requereix calor. La centrifugació o la filtració convencional de partícules permeten reduir el percentatge d'humitat del sòlid més econòmicament que amb assecatge. En biotecnologia, però, els costos diferencials d'un procés i l'altre no són tan decisius com en altres indústries. I factors com l'estabilitat del producte en l'assecatge són molt importants.

En aquest capítol, primer es presenten les generalitats dels assecadors, els tipus d'aparells i el tipus de contacte gas-sòlid, i també criteris de selecció dels assecadors. A continuació, s'estudien els fonaments de l'assecatge de sòlids i es defineix el concepte d'humitat dels sòlids. Després, s'estudien els assecadors de contacte directe i els règims de cinètica d'assecatge. Es descriuen els assecadors industrials, els assecadors discontinus de contacte indirecte (de safates i liofilització) i els assecadors adiabàtics continus de llit fluïditzat. El capítol es clou emfasitzant la importància de l'experimentació en la selecció dels assecadors industrials.

Cal recordar que part de la tecnologia d'assecatge està relacionada amb la teoria de l'aire humit. Així doncs, a l'annex del capítol es fa un resum de la psicrometria i es presenten alguns càlculs d'aire humit.

12.1. Els assecadors

Hi ha gran nombre de tipus d'assecadors, segons el principi de funcionament de l'inventor. Més endavant en veurem els tipus més corrents. Des del punt de vista del

contacte aire-sòlid, els patrons de contacte entre les partícules humides i l'aire calent es mostren a la figura 12.1. Els assecadors poden ser:

- Assecadors de contacte directe, entre el fluid tèrmic (aire calent) i el sòlid humit. Són adiabàtics i la transmissió de calor aire-sòlid té lloc per convecció.

- Assecadors de contacte indirecte. La calor transmesa al sòlid humit té lloc través d'una paret metàl·lica per conducció o bé per radiació. Són no adiabàtics.

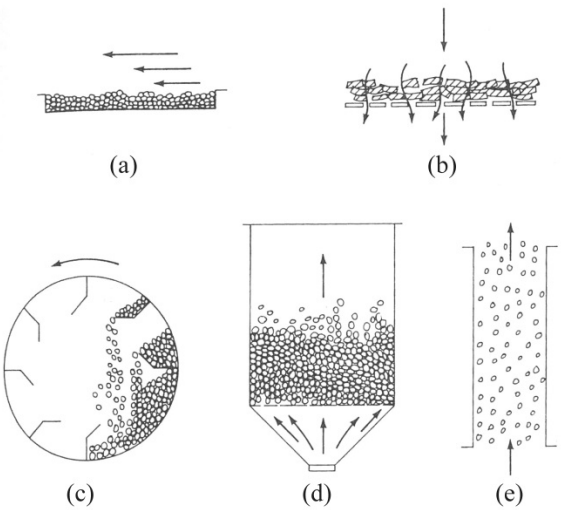


Fig. 12.1 Diferents tipus de contacte entre partícules i aire calent en assecadors: *a*) amb flux encreuat; *b*) a través d'un llit fix; *c*) en un assecador rotatiu; *d*) en un llit fluïditzat; *e*) durant un transport pneumàtic

Una altra classificació és la següent:

1. Per càrregues o continus.

2. Segons l'estat físic de l'alimentació: líquid, dispersió o suspensió, sòlid granulat humit, pasta, pols.

3. Mètode de transport del sòlid a l'assecador: banda transportadora, rotatori, fluïditzat, esprai.

4. Mètode de transmissió de calor: conducció, convecció, radiació.

Consideracions a l'hora d'escollir un assecador

Cal tenir en compte els factors següents:

1. Condició de l'alimentació (sòlid granulat, líquid, pasta, pols)

2. El % inicial d'aigua

3. Especificació del producte (forma física, sequedat, humitat d'equilibri, temperatura màxima admissible, humitat d'equilibri en un determinat ambient)

4. Producció

5. Degradació tèrmica del producte

6. Toxicitat i inflamabilitat dels vapors i de la pols seca

Assecadors utilitzats en biotecnologia

En la fabricació biofarmacèutica, la selecció d'un assecador és una decisió crítica, sobretot a gran escala. A més d'assecar, cal preservar la puresa, l'estabilitat química i l'activitat del producte. Cal evitar la degradació durant el contacte amb l'aire a temperatures elevades, com també les oxidacions indegudes. Això pot obligar a assecar al buit (per reduir la T d'assecatge) o en presència d'un gas inert (N_2), en comptes d'aire, ja que la majoria dels bioproductes són termolàbils i estan subjectes a la destrucció i a la pèrdua de propietats. Un risc afegit és la combustió i l'explosió de la pols.

Això condueix a uns tipus d'assecadors especials, com aquests:

- De llit fluïditzat (per càrregues o continu)

- De polvorització o d'atomització (aire o gas inert)

- De liofilització o assecatge a temperatures i pressions per sota del punt triple de l'aigua (~ 6 mbar (a), 0 ºC, quasi buit absolut)

L'atomització comporta temps de contacte molt petits (de 10 a 40 s de mitjana) i, per tant, l'alteració de les propietats del producte es minimitza. L'ideal de l'atomitzador és poder treballar a alta temperatura de l'aire (> 350 ºC) i en un temps de residència molt petit (de < 50 s). L'aspecte del producte que surt de l'atomitzador és extraordinari, però no sempre es pot treballar amb aire tan calent, i cal determinar experimentalment les condicions de l'aire.

Amb els assecadors de llit fluid també s'obtenen bones propietats del producte gràcies a la uniformitat excel·lent de la temperatura en un llit fluïditzat, per la qual cosa és un procés desitjable en biotecnologia. Més endavant, veurem un exemple de càlcul del balanç de calor i de dimensionament d'un assecador de llit fluid.

A vegades, l'ús de la liofilització és l'única possibilitat, ja que treballa a una temperatura de sublimació per sota de 0 ºC fins a -50 ºC. En aquest procés, es provoca la sublimació del gel a pressions quasi zero (1-2 mbar absoluts). En aquestes condicions, normalment queda garantida l'estabilitat dels enzims i d'altres proteïnes. Els fluxos de vapor de sublimació són de 0,5 a 1 kg/m^{2}h, molt inferiors als valors de vaporització (de fins a 15 kg/m^{2}h, per a partícules suspeses). L'aigua canvia d'estat, de sòlid a vapor, sense passar per l'estat líquid.

A la taula 12.1, s'indiquen els tipus d'assecadors que s'empren avui dia en biotecnologia per a determinats bioproductes. Tot sembla indicar que són els assecadors de llit fluid que es fan servir en la majoria dels casos. Això és gràcies al bon control de la temperatura del sòlid durant la fluïdització, a causa de l'agitació i la mescla perfecta del sòlid. També es fan servir, en bastants casos, els assecadors per atomització. La

liofilització també es fa servir en el 15% dels casos, però està relacionada més aviat amb la tecnologia farmacèutica (injectables).

Taula 12.1
Assecadors per a bioprocessos representatius

Bioproducte	Tipus d'assecador	Observacions
Àcid cítric	LF	Procedent de filtre rotatiu
Àcid pirúvic	LF	Íd.
l-lisina	A	Dissolució d'un evaporador
Riboflavina (vit B2)	A	Dissolució del decantador
α-ciclodextrina	LF	Tortó de filtre
Penicil·lina V	LF	Tortó de centrífuga cistella
SA humana recombinant	Liofilitzador	Filtració estèril
IH recombinant	Liofilitzador	Tortó de cistella centrífuga
Anticòs monoclonal	No es fa servir assecador	Solució salina tamponada (P)
a-1-antitripsina	Íd.	Íd.
Plasmidi d'ADN	Íd.	Íd.

A = assecador d'atomització; LF = assecador de llit fluïditzat

12.1.1 El contacte gas-sòlid

A continuació, fem referència a la figura 12.1, on s'il·lustra el tipus de contacte aire-sòlid en els assecadors adiabàtics. El cas *a* correspon al flux d'aire paral·lel o transversal al llit de partícules, com en els assecadors de safates o plàteres. Normalment, s'asseca des de dalt i s'afegeix calor des de la safata per conducció cap amunt. El cas *b* correspon a l'assecatge en llit fix.

Els casos *c*, *d* i *e* corresponen a l'assecatge de partícules suspeses (en un assecador rotatori, un llit fluïditzat i de transport pneumàtic, respectivament).

12.1.2 Perfils de temperatura a l'assecador

A la figura 12.2, es representen els perfils de temperatura dins d'un assecador discontinu i un assecador adiabàtic continu.

Considerem primer l'assecador per càrregues, amb un corrent d'aire nou constant. La temperatura de l'aire calent és sempre T_g. En un assecador discontinu, la temperatura del sòlid augmenta bastant ràpid de T_g a T_v, i es manté constant en aquest valor durant el període d'assecatge anomenat *de velocitat constant*. Si el corrent d'aire calent es manté a la temperatura T_g, *el sòlid agafa la temperatura T_v, que és igual a la temperatura de saturació adiabàtica* de l'aire a T_w, és a dir, el sòlid es comporta com un *termòmetre humit.* Així doncs, l'assecament del sòlid té lloc per sota de la temperatura de l'aire, ja que $T_v < T_g$. Vegeu el diagrama psicromètric i considereu una línia adiabàtica. El temps en què això es mantingui així dependrà de la cinètica d'assecament. Un cop ha eliminada la humitat lliure que amarava el sòlid, la temperatura d'aquest comença a

pujar i, eventualment, arribaria a Ta si l'assecador no tingués pèrdues de calor. Aquests esdeveniments tenen lloc durant el temps d'assecatge, t.

Considerem ara el cas d´un assecador adiabàtic continu a contracorrent al llarg de la distància z. La història de temperatures de les partícules del sòlid que s'asseca té el mateix perfil que abans. A la figura 12.2, els perfils de T són estacionaris amb la posició. El sòlid entra a z = 0 i es posa a la temperatura Tv, que és igual a la temperatura de saturació adiabàtica de l'aire a cada punt. En entrar l'aire calent a z = 1, els sòlids tendeixen a escalfar-se a $T < T_w$, perquè ja estan protegits per la T_w de l'aire. Per tant, és en aquest punt que cal controlar la temperatura de l'aire d'escalfament, en funció de la temperatura que adquireix el sòlid sec, a fi d'evitar-ne la degradació. L'aire d´entrada entra a baixa humitat (20 % HR) i, a mesura que agafa humitat, es va refredant en cedir calor al sòlid.

Observeu que, en ambdós casos (assecador discontinu o continu), la història humitat-temperatura del sòlid va canviant a mesura que el mecanisme de retenció de la humitat varia.

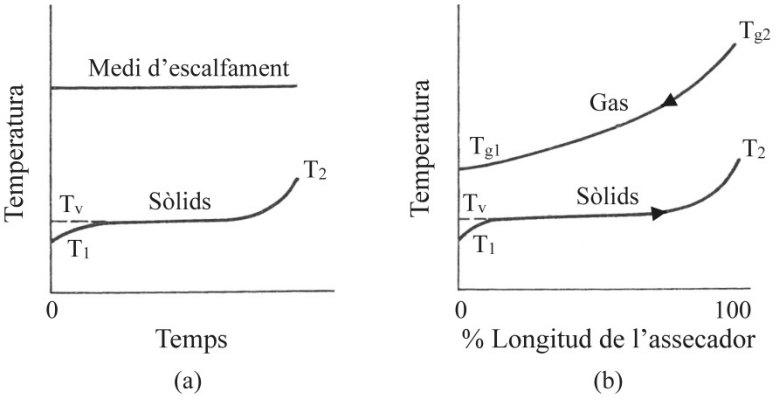


Fig. 12.2
Patrons de temperatura en: *a*) un assecador per càrregues en què el medi d'escalfament entra a T constant; *b*) en un assecador continu a contracorrent, els sòlids experimenten la mateixa història de temperatura que en un assecador per càrregues. La temperatura del sòlid durant molt de temps correspon a la de saturació adiabàtica de l'aire

12.2 Fonaments de l'assecatge de sòlids

Com en moltes operacions de separació (destil·lació, extracció, absorció), designem per X, la composició de la fase que cedeix matèria a la fase lleugera. Així doncs, en l'assecatge adoptem la mateixa terminologia: X representa la humitat del sòlid que estem assecant i Y, la humitat del gas que absorbeix aquesta humitat. Tant el sòlid sec com l'aire sec es mantenen constants en un assecador; solament l'aigua passa d'una fase a l'altra i, per tant, X i Y les referim a aquestes quantitats. Les definicions precises són les que especifica Treybal (1981).

La humitat absoluta de l'aire la designem, doncs, amb la Y i representa els kg d'aigua continguts en un kg d'aire sec (as). Per tant, si la fracció molar de vapor d'aigua a l'aire és y, la fracció molar d'aire a l'aire humit serà 1 - y, i la humitat absoluta de l'aire valdrà:

$$Y = \frac{y}{1-y} \times \frac{18,02}{28,97} = \frac{0,622y}{1-y} kg\ \ aigua/kg\ as \qquad (12.1)$$

Definim la humitat d'un sòlid humit sobre base seca, X, com els kg d'aigua/kg de sòlid sec (ss). També es parla a la indústria del percentatge de sòlids d'un material humit com s %, = (kg de matèria seca/kg sòlid humit) × 100. La relació entre X i s és:

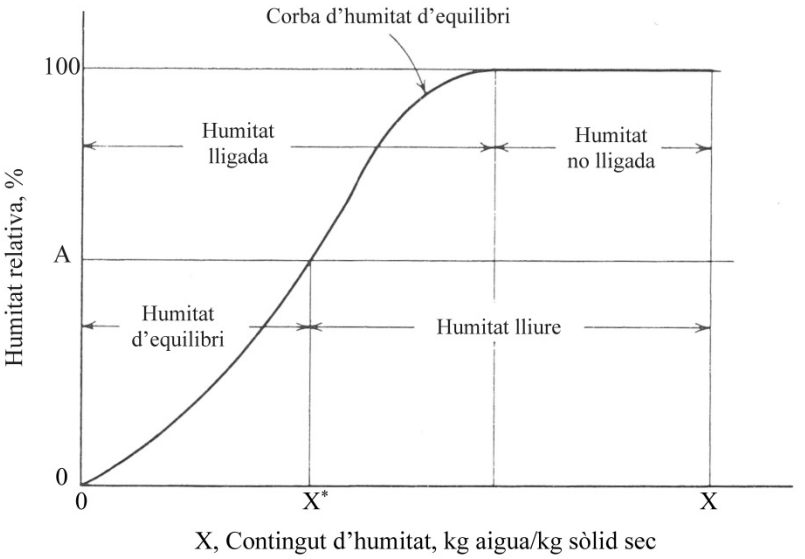
$$X = \frac{100 - s}{s} \qquad (12.2)$$

d'on

$$s = \frac{100}{1 + X} \qquad (12.3)$$

La humitat d'equilibri d'un sòlid respecte de l'ambient es designa com X*, també en kg/kg sòlid sec. Al gràfic de la figura 12.3, es representa la humitat d'un sòlid enfront de la humitat relativa de l'aire. S'hi pot observar la humitat no lligada i lligada. En l'assecatge, és possible treure fins la humitat d'equilibri. En podem treure encara més humitat però, en exposar el sòlid sec a l'ambient, agafarà la humitat d'equilibri. A les figures 12.4, es donen les humitats d'equilibri de sòlids coneguts (llana, paper, seda, fusta, etc.) i de sòlids cristal·lins d'interès en biotecnologia (insulina, penicil·lina, lisozim).

Fig. 12.3
Contingut d'humitat d'un sòlid en funció de la humitat relativa de l'aire



Per recordar els conceptes d'aire humit i psicrometria, remetem el lector a l'annex d'aquest capítol. Proporcionem ara dos exemples per revisar els conceptes d'humitat d'un sòlid.

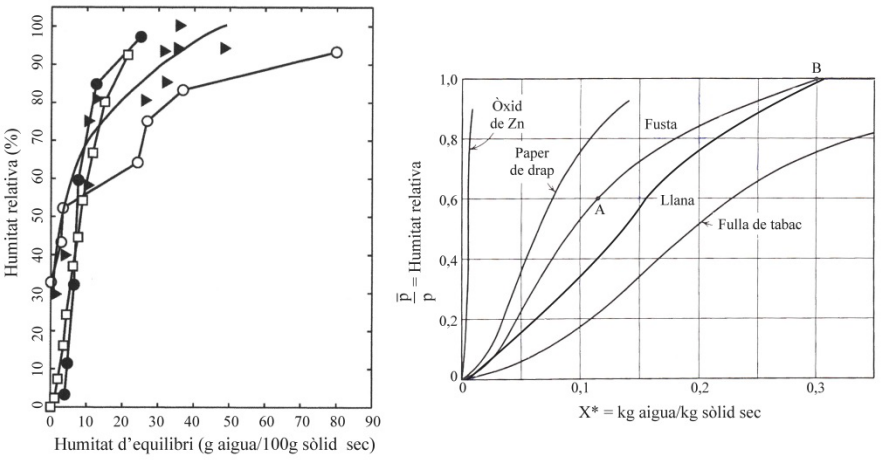


Fig. 12.4
Humitat dels sòlids corrents: *a*) enfront de la humitat relativa de l'aire; *b*) sòlids d'interès en biotecnologia en funció de la humitat relativa. Punts negres ,• , *S. Cerevisiae* durant la humectació a 30 ºC; quadrats oberts, □: insulina cristal·lina a 25 ºC; triangles negres, ⋖: cristalls de lisozim a 22ºC; punts oberts, o, benzil penicil·lina sòdica a 25 ºC (Doran, 2013)

Exemple 12.1 Concepte d'humitat d'un sòlid, X.

Un sòlid humit s'ha d'assecar des del 80 % d'humitat (base humida) fins al 5 % (base humida). Calculeu la massa d'aigua que s'ha d'evaporar per a 1.000 kg de producte final.

Les humitats X inicial i final seran:

$$X_0 = \frac{0,8}{1-0,8} = 4\,kg/kg\,\text{sec} \quad X_f = \frac{0,05}{0,95} = 0,0526\,kg/kg\,\text{sec}$$

El sòlid contingut en 1.000 kg de producte assecat serà:

$$1.000 \times 0,95 = 950 kg\,\text{sec}$$

i, per tant, l'aigua que s'haurà d'evaporar per a 1.000 kg de producte serà:

$$\left(X_0 - X_f\right) \times 950 = 3,947 \times 950 = 3.749 kg$$

Exemple 12.2 Humitat que adsorbeix un sòlid d'un aire saturat.

Es col·loquen 10 kg de llana seca en una habitació que té un volum de 150 m^3, l'aire de la qual està inicialment a 25 ºC, saturat d'humitat i a pressió atmosfèrica. En aquestes condicions, la llana adsorbeix humitat de l'aire. Calculeu la condició final de l'aire (humitat absoluta i relativa, aproximades).

L'absorció d'humitat de la llana d'un aire amb HR = 100 % es suposarà, aproximadament, de 0,26 kg aigua/kg de sòlid sec (valor donat per McCale et. al. 1993). Per tant, la llana absorbirà 10 × 0,26 = 2,6 kg d'aigua, que haurà de treure de l'aire. La tensió de vapor de l'aigua a 25 ºC és de 31,669 mbar (Perry).

A pressió atmosfèrica, si l'aire és saturat, les fraccions molars del vapor d'aigua i de l'aire a l'habitació seran, doncs:

$$y_{H_20} = \frac{p_{H_2O}}{p_{tot}} = \frac{31,67 \times 10^{-3}}{1,013} = 0,0312$$
$$y_{aire} = 1 - 0,0312 = 0,968$$

Les quantitats inicials de vapor d'aigua i aire inicialment a l'habitació seran, doncs:

$$n_{aire} = \frac{p_t y_{aire}}{RT} = \frac{1,013 \times 0,968}{0,083 \times 298} = 5,87 \; kmol \; aire$$
$$n_{H_2O} = 0,191 \; kmol \; aigua$$

Aquesta quantitat d'aigua serà de 0,191 × 18 = 3,438 kg d'aigua. Així, doncs:

3,438 kg d'aigua inicial en forma de vapor - 2,6 kg d'aigua adsorbida per la llana = 0,838 kg d'aigua que quedarà a l'aire

és a dir una humitat absoluta final a 25ºC, de

$$Y = \frac{0,838}{170,2} = 0,0049 \, kg/kg \; aire \; \text{sec}$$

Que, sobre el diagrama psicromètric, dóna, aproximadament, HR = 20-30 %. Interpolant sobre un diagrama psicromètric de baixa temperatura (p.e., Daikin), dóna més exactament un 27 %.

12.2.2 Assecadors discontinus de contacte directe: règim de velocitat d'assecatge constant

És interessant observar que les velocitats d'assecament dels sòlids humits són semblants quan es consideren al mateix règim (v. taula 12.2).

Taula 12.2 Velocitats d'evaporació des de diversos materials (condicions constants)

Materiales	Velocitat d'evaporació, kg/m²h
Aigua	2,7
Pigment inorgànic	2,1
Sorra	2-2,4
Argila	2,3-2,7
Peces de llautó	2,4

*Evaporació des de superficie saturada a un corrent d'aire

Es defineix la velocitat d'assecatge com el flux següent:

$$N = \frac{-1}{A}\frac{d(SX)}{dt} = \frac{-1}{A/S}\frac{dX}{dt} = \frac{-1}{a}\frac{dX}{dt} \qquad (12.4)$$

on S són els kg de sòlid sec; A és l'àrea de transferència de massa en m^2, i N és un flux, en kg aigua/m^2 s. L'àrea específica a = m^2/kg sòlid sec, per a un material, és una constant. De vegades, es dóna simplement la velocitat següent enfront de X o de H, i X.

$$-\frac{dX}{dt} \tag{12.5}$$

en kg aigua evaporats/s/kg sòlid sec.

La forma que té la corba d'assecatge enfront del temps i de la humitat es pot veure a la figura 12.5, que correspon a l'assecatge d'un sòlid amb corrent constant d'aire. Durant el tram A, B, C, s'estableix un període precrític de velocitat constant. El punt crític seria C, en què la velocitat comença a decréixer i s'inicia el període post-crític o de velocitat decreixent.

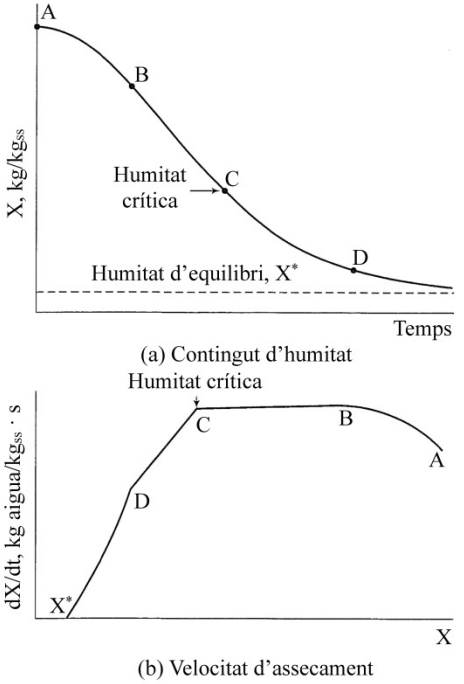


Fig. 12.5
Humitat d'un sòlid durant l'assecatge. *a*) Des de A fins a B, etapa precrítica. A C s'arriba a la humitat crítica, Xc, i després a l'equilibri amb l'ambient, X*, des de D fins al final. *b*) Durant el procés, les velocitats d'assecament van disminuint. Durant el primer període de A fins a C, la velocitat és constant i, durant el període postcrític, la velocitat d'assecatge es fa finalment zero.

Velocitat i temps d'assecatge en el període de velocitat constant

En aquest període, l'eq que defineix N serà N = cons. I, reordenat els termes, tindrem:

$$X_f - X_0 = NAt/S \tag{12.6}$$

$$t_{const} = \frac{S(X_1 - X_2)}{AN} \tag{12.7}$$

Període de velocitat decreixent i temps d'assecatge del període postcrític

Per avaluar el temps, integrarem l'equació següent:

$$dt = \frac{-S}{A}\frac{dX}{N(X)} \tag{12.8}$$

d'on

$$\int_0^{t_{dec}} dt = \frac{-S}{A}\int_{X_1}^{X_2}\frac{dX}{N(X)} \tag{12.9}$$

on X_1 val X_c, i X_2 val X*. De vegades, s'escriu N(X) com una recta del tipus N = mX + b; llavors:

$$t_{dec} = \frac{S}{A}\int_{X_1}^{X_2}\frac{dX}{mX+b} = \frac{S}{mA}\ln\frac{mX_1+b}{mX_2+b} \tag{12.10}$$

o bé amb valors mitjans de N:

$$t_{dec} = \frac{S(X_1 - X_2)}{AN_m} \tag{12.11}$$

en que N_m val:

$$N_m = \frac{\ln(N_1/N_2)}{N_1 - N_2} \tag{12.12}$$

Cas especial. De vegades, es pot interpolar linealment entre Xc i X*. Llavors, l'expressió de N(X) que s'ha d'utilitzar és la següent: N = m (X-X*). En aquest cas, el valor del temps del període decreixent val:

$$t_{dec} = \frac{S\left(X_c - X^*\right)}{N_C A}\ln\frac{X_1 - X^*}{X_2 - X^*} \tag{12.13}$$

on N_{ic} és el valor constant del període antecrític, i X_1 i X_2 són a l'interval X_c - X*

Utilització d'expressions cinètiques empíriques. Alguns autors han utilitzat equacions empíriques per al període de velocitat decreixent per a assecadors per càrregues. Si es pot utilitzar, una equació pràctica és la que acabem de comentar, N = m (X-X*), entre X_c i X*.

Una altra formulació és la que s'utilitza en alguns manuals (Perry):

1) Període de velocitat constant. Per a $X_C < X < X_0$:

$$-\frac{dX}{dt} = m\left(Y_s - Y\right) \tag{12.14}$$

2) Període de velocitat decreixent. Per a $X^* < X < X_C$:

$$-\frac{dX}{dt} = m\frac{\left(Y_s - Y\right)\left(X - X^*\right)}{X_C - X^*} \tag{12.15}$$

que tenen l'avantatge que es poden utilitzar en assecadors en què hi ha perfils de Y (z) i canvi de règim cinètic, tant en equicorrent com a contracorrent.

A l'exemple següent, s'il·lustra com s'utilitzen aquestes equacions en cas de període de velocitat constant i decreixent, per a l'aire en condicions constants.

Exemple 12.3 Temps d'assecatge en els dos règims (velocitat constant i decreixent). Fase de gas constant.

Estem assecant sobre safates 12 kg (secs) d'uns cristalls que exposen a l'aire 0,22 m^2 de superfície d'evaporació. El valor inicial de la humitat és de X_0 = 0,168 kg d'humitat/kg sec, i s'ha d'assecar fins a una humitat final de 0,005 kg/kg sec. La humitat crítica dels cristalls és de X_C = 0,04 kg/kg. La velocitat d'evaporació del primer període és de N = 1,83 kg/m^2 h. Les expressions cinètiques dels règims són:

Per a X > 0,04 kg/kg:

$$-\frac{dX}{dt} = 0,033$$

Per a 0 < X < 0,04:

$$-\frac{dX}{dt} = 0,823X$$

Per al període de velocitat constant, podem aplicar l'equació següent:

$$t_{const} = \frac{S\left(X_1 - X_2\right)}{AN} = \frac{12 \times \left(0,168 - 0,04\right)}{0,22 \times 1,83} = 3,8h$$

Per al període de velocitat decreixent, integrarem l'equació - dX/dt = 0,823 X, entre X_1= 0,04, X_2 = 0,005:

$$t_{dec} = \frac{1}{0,823} \ln \frac{0,04}{0,005} = 2,5h$$

Així doncs, el temps total serà de 3,8 + 2,5 = 6,3 h

De vegades, tot l'assecatge transcorre en el primer període de velocitat constant, com es mostra a l'exemple següent, depenent de la fi del període crític.

Exemple 12.4 Assecador de safates.

Una càrrega de 100 kg (humits) d'un precipitat conté un 30 % d'humitat (base humida) i s'ha d'assecar en un assecador de safates fins a una humitat del 15,5 % (base humida), fent servir aire calent a 77 ºC, que circula paral·lelament a les plàteres. La velocitat de l'aire és d'1,8 m/s. En aquestes condicions, la velocitat d'assecatge constant és 2,5 kg/m^2h, i la humitat crítica del sòlid és de X_c= 0,15 kg/kg ss. Calculeu el temps d'assecatge total.

En els 100 kg de càrrega que s'han d'assecar, hi ha:

$$100 \times 0,3 = 30kg\ aigua$$
$$100 - 30 = 70kg\ ss$$

Per a una humitat final del 15,5%, l'aigua present al material sec, W, serà:

$$\frac{W}{W+70}100 = 15,5$$

$$W = 12,8 kg\ aigua$$

d'on podem fer balanç d'aigua, en termes de X, kg/kg:

$$X_0 = 30/70 = 0,43 \qquad X_{final} = 12,8/70 = 0,183$$

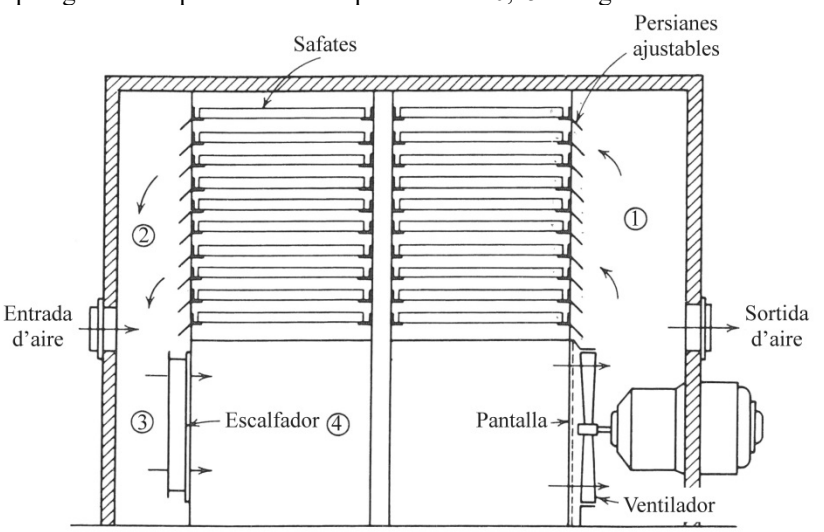
Aigua que s'ha d'evaporar serà 30 - 12,8 kg = 17,2 kg. La superfície disponible per a l'assecatge serà A = 0,03 × 70 = 2,1 m^2; així doncs, la velocitat d'assecatge al primer període valdrà 2,5 × 2,1 = 5,25 kg/h = 0,00146 kg/s. La humitat final calculada és X = 0,183 > Xc = 0,150; per tant, com que $X_f > X_c$, tot l'assecatge transcorre amb la cinètica constant. El temps total serà, doncs:

$$t_c = \frac{17,2}{0,00146} = 11.700 s = 3,25 h$$

12.3 Assecadors industrials

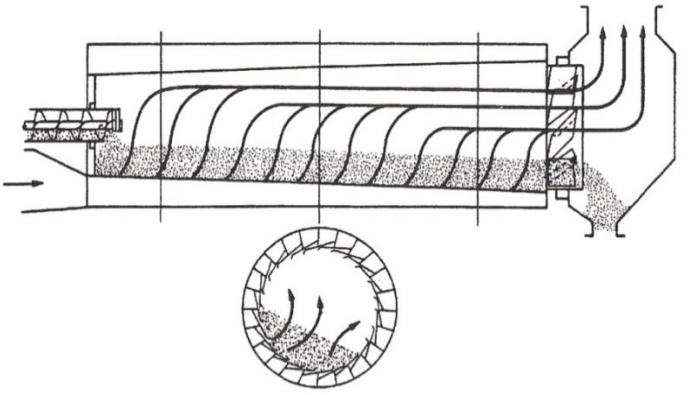
Assecador de safates. A la figura 12.6, es mostra un assecador de safates que s'utilitza per a petites quantitats i que opera per càrregues. S'empra per a tot tipus de materials. El sòlid que s'ha d'assecar en forma de cristalls es col·loca en plàteres o safates i l'aire calent es fa circular paral·lelament als plats. Es fa servir per a productes valuosos i per a una àmplia gamma de productes. La capacitat és de 0,15 a 2 kg/m^2h.

Fig. 12.6
Assecador de safates



Assecador rotatiu. Com es veu a la figura 12.7, els assecadors rotatoris són continus i consisteixen en un tambor llarg que roda a baixa velocitat (1 rpm) i fa avançar el material per dins de l'assecador. Són alternatius als assecadors de polvorització. L'aire

d'escalfament s'alimenta per aspiració des d'un extrem del tambor. El sòlid granulat s'alimenta per vis sens fi en equicorrent o a contracorrent amb l'aire. A la sortida, el sòlid i l'aire es desenganxen en un cicló i filtre de mànigues. Són màquines de gran capacitat, de 100-200 kg d'aigua/m^2h com a màxim.



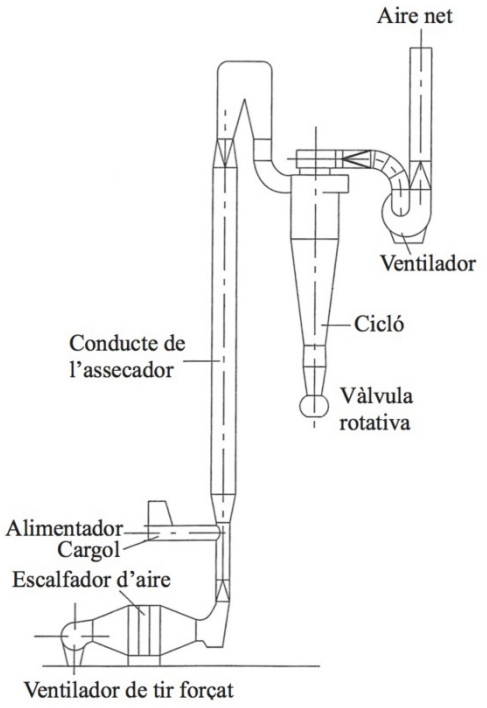


Fig 12.8
Assecador de transport pneumàtic

Assecador de transport pneumàtic. Es dibuixa a la figura 12.8, on es veu que les partícules de sòlid s'alimenten per un vis sens fi i són arrossegades pel conducte del tub de pujada, on s'estan el temps suficient per assecar-se. Finalment, s'alliberen de l'aire en un cicló. La màquina treballa a aspiració per un bufador que aspira des que passa el cicló. Els temps de contacte són molt petits. S'utilitza per a partícules que són

massa petites per ser alimentades en un assecador de llit fluid, que són termolàbils i que s'han d'assecar ràpidament. La capacitat d'assecatge és de l'ordre de 0,5 a 10 kg/m^{2}h. Un problema associat a l'assecador flaix és el tractament de les partícules d'alimentació, que s'han de disgregar prèviament. Això es pot fer amb un molí continu o micronitzador pneumàtic en línia amb l'assecador flaix (Jet O Drier, de Fluid Energy, v. McCabe-Smith, 1963).

Assecador de llit fluïditzat. Es representa a la figura 12.9. Es fa passar l'aire d'assecatge per un distribuïdor d'aire que manté les partícules en suspensió. La unitat pot treballar per càrregues i en continu. En aquest cas, el règim és de bombolleig i el sòlid es comporta com un fluid que s'alimenta amb un cargol, està una estona a la cambra de fluïdització i sobreïx parcialment o totalment eixut per un altre lloc del llit. Els llits fluids són adequats per a materials granulars o cristal·lins, amb mides de partícula de 0,4 a 2 mm. Les velocitats d'assecatge són d'1,5 a 50 kg/m^{2}h. Una característica important és la uniformitat de temperatura dins el llit, que fa que el material no estigui subjecte a grans oxidacions. Com s'estudia en el text, l'estat de mescla del sòlid fluïditzat és de mescla perfecta.

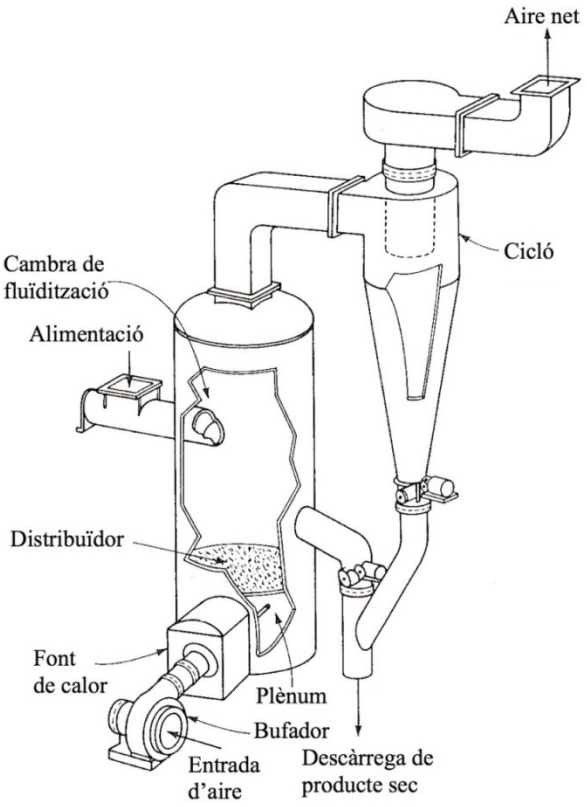


Fig. 12.9
Assecador de llit fluïditzat amb circulació de sòlid, alimentació i sortida en continu, i aire calent

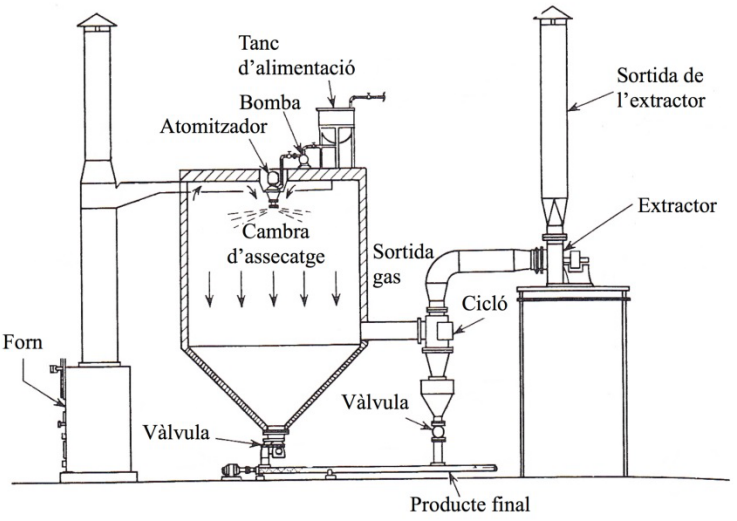


Fig. 12.10 Assecador d'atomització a equicorrent. En aquest cas, s'empra una turbina mecànica (15.000-20.000 rpm) per produir gotetes de líquid. En unitats més grans, es fa servir una tovera amb dos fluids per tal de generar les gotes, i la circulació és a contracorrent.

Assecador d'atomització. A diferència dels assecadors anteriors, que s'alimenten de grans, cristalls o partícules humides, els atomitzadors es poden alimentar amb dissolucions, polímers en emulsió, dispersions o suspensions de sòlids. Això els fa adequats per a determinades operacions, ja que no cal cristal·litzar o coagular o precipitar el sòlid ni filtrar-lo (a costa, naturalment, d'un cost més elevat d'energia). Ja hem comentat que l'aspecte del producte que surt eixut de l'atomitzador és molt bo. A la figura 12.10 s'il·lustra un atomitzador de tipus petit. Els tipus petits operen amb una roda atomitzadora que gira a 15.000-20.000 rpm i que polvoritza a l'alimentació líquida en petites gotes. S'alimenta amb l'aire d'assecatge en equicorrent. Per a les unitats més grans, l'aire calent pot fluir a contracorrent des de baix. L'alimentació es divideix en gotetes de micres de diàmetre i, per tant, el temps d'assecatge és molt petit (de 10 a 30 s). Aquest temps tan curt permet assecar a temperatures molt altes (200-400 ºC), amb recuperació de calor de l'aire de sortida, i controlar la mida del sòlid i la seva densitat. Per a unitats grans, no es fa servir el rodet polvoritzador, sinó l'alimentació per tovera atomitzadora amb dos fluids. El producte sec es recull amb cicló i filtres de mànegues. Molt sovint, el sistema treballa a depressió en el cicló i amb pressió positiva de l'aire d'entrada. Les velocitats d'assecatge són d'1,5 a 50 kg/m^{2}h.

12.4 Assecadors discontinus de contacte indirecte

Aquest tipus d'assecador s'utilitza a les plantes petites o pilot. La calor s'afegeix per dins dels plats en forma de vapor condensant o elèctricament. A més, l'aire d'assecatge es fa circular paral·lelament per sobre de les safates, com es mostra a la figura 12.6.

El temps d'assecatge depèn del flux màxim d'assecatge que podem aportar pels plats. Podem operar de diverses formes:

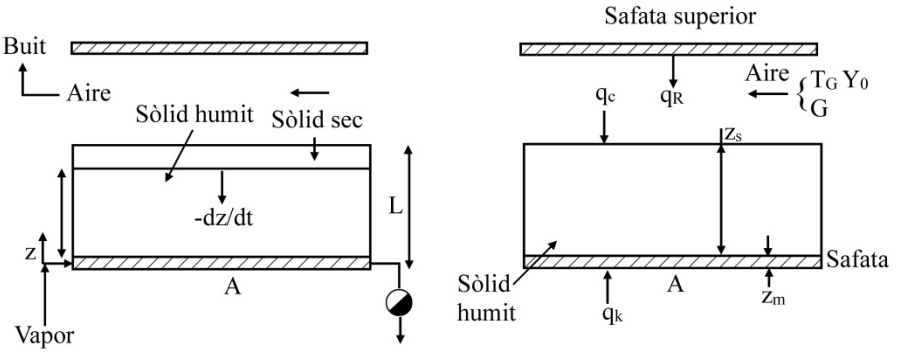
- Assecador de safates amb corrent d'aire calent paral·lel als plats
- Assecador de safates al buit (buit moderat, de 500 mbar)

Liofilitzador a pressió i temperatura per sota del punt triple de l'aigua, amb un buit quasi absolut, de menys de 6 mbar (a), i per a temperatures molt baixes (-30ºC), cosa que provoca la sublimació del gel.

En els darrers casos, és necessari que la cambra que conté els plats estigui reforçada i sigui resistent a la pressió exterior de buit total, per tal d'evitar-ne el col·lapse. En els liofilitzadors, es congela la carrega primer. La calor es pot addicionar des de panells radiants.

12.4.1 El cas més senzill: assecatge per conducció, temps d'assecatge

Considerem primer el cas més simple (v. fig. 12.11). Estem assecant un gruix de partícules humides que estan sobre la superfície plana. Estem escalfant el sòlid per conducció-convecció des del plat. Volem calcular la quantitat d'aigua en el sòlid en funció del temps. Observeu que el que diem es pot aplicar a un assecador al buit i també a la sublimació del gel en un assecador per liofilització. La calor s'afegeix per la base del plat a la part humida del sòlid, per exemple, amb vapor condensant dins del plat.



A: àrea de la safata, m^2

Fig 12.11 Transmissió de calor en un assecador al buit (esquerra), de safates (dreta). Vegeu els tres mecanismes de transmissió de calor (v.text). La liofilització opera com a l´assecador de l´esquerra a buit quasi-total (2 mbar (a) i -40ºC). La calor d´assecatge és aportada per conducció o desde panells radiants.

En una posició z, l'aigua es vaporitza i defineix una zona seca superior i un sòlid humit per sota de z. La interfase z es mou lentament cap avall a mesura que el sòlid s'asseca. La determinació de z en funció del temps equival a determinar la fracció que queda per assecar. Els fluxos de calor són iguals per conducció des del plat i per convecció. I, com que z es mou lentament, els fluxos de calor estan en estat estacionari.

Igualant els fluxos de calor, tindrem:

$$q = h(T_0 - T_z) = \frac{k_e}{z}(T_0 - T_z) \qquad (12.16)$$

on h és el coeficient de convecció des del plat i k_e és la conductivitat tèrmica efectiva del sòlid humit; T_0 i T_z són les temperatures a les posicions z = 0 i z = z. La disminució de z amb t és deguda a la vaporització de l'aigua. Per tant,

$$-\lambda\rho_0 d(zA) = qAdt \qquad \text{amb la condició t=0, z=L} \qquad (12.17)$$

on ρ_0 és la concentració d'aigua en el sòlid humit, en kg/m^3; zA és el volum de sòlid humit que queda, en m^3, ι $\lambda_v\rho_0$ és la calor de vaporització d'aigua per unitat de volum de sòlid humit, en J/m^3. El flux de calor q en la forma més simple ve donat per la conducció de calor des del plat. La integració de l'equació anterior amb les condicions inicials dóna:

$$\frac{L^2 - z^2}{2} = \frac{k_e\left(T_0 - T_z\right)t}{\lambda\rho_0} \tag{12.18}$$

El temps per acabar l'assecatge serà t per a z = 0, és a dir:

$$t_s = \frac{1}{2}\left(\frac{\lambda_v\rho_0 L^2}{k_e\left(T_0 - T_z\right)}\right) \tag{12.19}$$

Cal observar el següent: 1) si carreguem el doble de sòlid a assecar, 2L, el temps necessari es multiplica per 4, i 2) la fracció de sòlid que falta assecar en un instant determinat valdrà:

$$Fracció = \frac{z(t)}{L} = \left[1 - \frac{2k_e\left(T_0 - T_z\right)t}{\lambda_v\rho_0 L^2}\right] \tag{12.20}$$

per tant, el temps d'assecatge no és asimptòtic, sinó que és un temps finit, t_s.

Unes quantes dades de conductivitat tèrmica són: acer al C = 40 W/m K; inoxidable 12 W/mK; aigua = 0,65 W/mK, i catalitzadors porosos k_e = 0,1 - 0,4 W/mK

Aquestes equacions es poden utilitzar per calcular el temps d'un *assecador de safates al buit, o bé d'un liofilitzador a baixa pressió.* En aquest, s'ha de considerar primer el temps de congelació, i aportar la calor de sublimació i fer unes quantes consideracions respecte de l'assecament primari i secundari, força complicades a causa de la formació de les diferents espècies de gel i de l'eutèctic –vegeu Doran (2010) per a una descripció acurada dels fenòmens físics en un liofilitzador.

Per a un estudi de la liofilització d´aliments, vegeu Ibarz i Barbosa-Cánovas (2003) i, per a sistemes de buit industrial, vegeu Telstar, SA (Terrassa).

Exemple 12.5 Liofilització d'una dissolució congelada de l'enzim colesterol oxidasa.

Volem liofilitzar una dissolució congelada de l'enzim en un liofilitzador de plats. El gruix de gel a cada plat es de 1 cm. La calor de sublimació del gel és de 2.950 kJ/kg, i la conductivitat tèrmica efectiva, k_e= 0,16 W/mºC. El salt tèrmic utilitzat és ΔT= 30ºC. La calor es transmet des del plat per conducció. Volem calcular el temps necessari.

Les dades són ρ_0 = 1.000 kg/m^3. Apliquem l'equació per a t_s:

$$t_s = \frac{1}{2}\frac{\lambda_v\rho_0 L^2}{k_e\Delta T} = \frac{2.950\times10^3\times10^3\times(0,01)^2}{2\times0,16\times30} = 31.041s = 8,6h$$

Els liofilitzadors comercials tenen temps d'assecatge de l'ordre de 8 a 10 hores, és a dir, l'estimació que hem fet és acceptable. Per al funcionament d'un liofilitzador real, hauríem d'afegir el temps de congelació, que pot ser aproximadament la meitat del temps de sublimació –a l'exemple anterior, d'unes 4-5 hores. La calor se subministra per radiació i convecció combinades (Doran, 2010).

12.4.2 Assecador industrial de safates. Càlcul precís de la transmissió de calor

En el cas real d'un assecador de safates (v. fig. 12.6), la transmissió de calor és més complexa. A la figura 12.11, s'observa que la cota z separa el sòlid humit a sota i el sòlid sec a sobre, com abans. Considerem la simplificació que les àrees de transmissió valen totes A. L'agent que causa l'assecament convectiu és l'aire d'assecatge, que passa tangencialment a la superfície del sòlid i altres fonts de calor.

Els fluxos de calor són q_k, q_c, i q_R, d'on el flux total de calor serà:

$$q = q_k + q_c + q_R \tag{12.21}$$

La *convecció* des del aire d'assecatge a T_G és q_c.

$$q_c = h_c \left(T_G - T_z\right) \tag{12.22}$$

La *conducció* des del plat, q_k, a través de tres resistències en sèrie (ferro, llit humit i llit fix sec), és:

$$q_k = U_k \left(T_G - T_z\right) \tag{12.23}$$

amb,

$$\frac{1}{U_k} = \frac{1}{h_c}\frac{1}{a} + \frac{z_m}{k_m}\frac{1}{a} + \frac{z}{k_e}\frac{1}{a} \tag{12.24}$$

on U_k és el coeficient global combinat; k_m, la conductivitat tèrmica del metall del plat i z_m el gruix, i k_s, la conductivitat del sòlid humit i z_s el gruix. Coeficient a = àrea externa de convecció/àrea del llit.

Radiació-convecció des del plat superior a T_R:

$$\begin{aligned} q_R &= h_R \left(T_R - T_z\right) \\ h_R &= \frac{\varepsilon_m \times 5,73 \times 10^{-8} \left[\left(T_R + 273\right)^4 - \left(T_z + 273\right)^4\right]}{T_R - T_z} \end{aligned} \tag{12.25}$$

on ε_m és l'emissivitat del plat superior. Se suposa que el plat superior és un cos gris que radia a un ambient considerat negre. Llavors, el flux d'evaporació serveix per vaporitzar aigua al corrent de gas, és a dir:

$$N = \frac{q}{\lambda} = k_Y \left(Y_s - Y \right) \tag{12.26}$$

on q és la suma dels fluxos anteriors. Sobre el diagrama psicromètric, l'equació anterior donarà una recta no adiabàtica. Els coeficients de convecció per a la geometria de plats d'assecador són els següents.

Per a flux d'aire *creuat* o tangencial a la superfície d'un llit fix (en unitats SI):

$$h_c = 14,8 G^{0,8} \tag{12.27}$$

Per a aire *perpendicular o de través* a la superfície del llit (en unitats SI):

$$h_c = 24,2 G^{0,37} \tag{12.28}$$

Les dades usuals de conductivitat tèrmica són: acer al C = 40 W/mK; aigua = 0,65 W/mK, i catalitzadors sòlids porosos k_e= 0,1-0,3 W/mK

L'equació de velocitat d'assecatge serà, per al cas general:

$$N = \frac{q}{\lambda} = \frac{\left(h_c + U_k \right)\left(T_G - T_s \right) + h_R \left(T_R - T_s \right)}{\lambda} = k_y \left(Y_s - Y \right) \tag{12.29}$$

que podem escriure com:

$$\frac{\left(Y_s - Y \right)\lambda}{h_c / k_Y} = \left(1 + \frac{U_k}{h_c} \right)\left(T_G - T_s \right) + \frac{h_R}{h_c}\left(T_G - T_s \right) \tag{12.30}$$

que és una recta del diagrama psicromètric, la qual, per intersecció amb la corba de saturació, ens dóna T_s. El valor de N correcte ens indica la capacitat de l'assecador en el règim de velocitat constant.

Per calcular amb una certa exactitud, primer cal triar una temperatura del sòlid, Ts, i reiterar-la a partir de la solució de la recta sobre el diagrama psicromètric. A l'exemple següent, es mostra com es fan els càlculs.

Exemple 12.6 Assecador de safates: capacitat d'evaporació.

Volem utilitzar un assecador de safates escalfades per assecar uns cristalls granulats que tenen una humitat de 650 kg/m^3, fent servir aire paral·lel als plats a 5.000 kg/m^{2}h. L'aire entra a l'espai entre safates a 85 ºC i amb una humitat de 0,024 kg/kg. El gruix dels cristalls sobre les safates és de L= 3 cm. Les àrees de les safates i del material són iguals (a = 1). Considereu la radiació de la safata superior sobre la inferior. L'emissivitat és de 0,92. La conductivitat efectiva del sòlid és d'1,74 W/mK. Determineu la capacitat d'evaporació d'una safata.

La temperatura humida de l'aire d'entrada és de 38ºC (diagrama psicromètric). Per tant, prenem una $T_s = 45ºC$, de tempteig més gran que la de saturació adiabàtica.

Coeficient de convecció aire-llit. Prenem la correlació següent:

$$h_c = 42 \times \left(\frac{5.000}{3.600}\right)^{0,8} = 19,2\, W/m^2\, K$$

Coeficient de radiació-convecció. Entra l'aire a $T_G = 85$ ºC i la temperatura humida a $T_z = 45$ ºC, amb una emissivitat del 0,92:

$$h_R = \frac{0,92 \times 5,73 \times 10^{-8}\left[(85+273)^4 - (45+273)^4\right]}{85-45} = 8,13\, W/m^2\, K$$

Coeficient global de conducció. Considerem que el metall del plat té 2 mm de gruix i que la seva conductivitat tèrmica és de 40 W/m K; per tant, podrem negligir-ne la resistència tèrmica. Les resistències en sèrie seran només:

$$\frac{1}{U_k} = \frac{1}{19,2} + \frac{3 \times 10^{-2}}{1,75} + \frac{1}{8,13} = 0,192$$

d'on s'obté $U_k = 5,2\ W/m^2K$.

Verifiquem ara la temperatura humida suposada. De l'equació de l'aigua evaporada, tenim:

$$\frac{(Y_s - Y)\lambda}{h_c/k_Y} = \left(1 + \frac{U_k}{h_c}\right)(T_G - T_s) + \frac{h_R}{h_c}(T_R - T_s)$$

en què, per simplicitat, suposarem que el plat superior és a 85ºC, és a dir, $T_R = T_G$. L'equació anterior quedarà:

$$\frac{(Y_s - 0,024) \times 2.400}{1,045} = \left(1 + \frac{14,5}{19,2}\right)(85 - T_s) + \frac{8,13}{19,2}(85 - T_s)$$

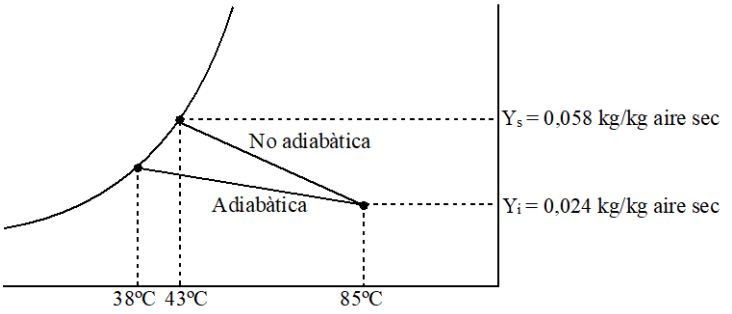
que és una recta de pendent negatiu:

$$Y_s = 0,104 - 9,5 \times 10^{-4} T$$

Que, representada en el diagrama psicromètric, ens dóna una intersecció amb la corba de saturació d'aproximadament $T_s = 43ºC$ i $Y_s = 0,060$ kg/kg, que té més inclinació que les rectes de saturació adiabàtica, ja que s'hi afegeix una quantitat de calor q. Per tant, la suposició inicial de 45ºC és acceptable.

Suposant vàlids els coeficients anteriors, la velocitat d'assecatge per m^2 de plat serà, doncs:

$$N = \frac{(h_c + U_k + h_R)(T_G - T_s)}{\lambda} = \frac{(19,2 + 14,5 + 8,13) \times (85 - 43)}{2.400 \times 10^3} =$$
$$7,3 \times 10^{-4}\ kg/m^2\ s = 2,6\ kg/m^2\ h$$



12.5 Assecadors adiabàtics continus

A la figura 12.12, es representa un esquema d'un assecador continu, amb els símbols que representen les propietats dels corrents. Se suposa que el sistema està en estat estacionari i a contracorrent. Es veu que hi ha unes pèrdues de calor $q_{pèrdues}$ degudes a radiació a l'ambient. Si no hi ha pèrdues, l'assecador és adiabàtic, si no s'han de comptabilitzar en el balanç d'energia de l'assecador com a fuites de calor.

Com que hem de comptabilitzar entalpies de sòlid humit i gas humit, a continuació es fa l'avaluació de les seves entalpies. Com és habitual en l'aire humit (v. taula A12.1, a l'annex del capítol), com a origen d'entalpies es pren: aigua líquida a 0 ºC i aire sec a 0 ºC i pressió atmosfèrica. A l'equació A2, es dóna l'expressió de l'entalpia de l'aire humit en kJ/kg as com:

$$H = (1,005 + 1,884Y)T_g + 2.502Y \qquad (12.31)$$

l'entalpia d'un sòlid humit com:

$$H = C_{solid}T_s + XC_{aigua-l}T_s + \Delta H \qquad (12.32)$$

on ΔH seria la calor de mullat, per exemple (kJ/kg ss, que normalment serà nul).

12.5.1 Balanços de massa i entalpia en assecadors continus

Ens referim a la figura 12.12. El cabal màssic d'aire d'assecatge és m_g kg aire sec/h i el cabal de sòlid que entra a l'assecador és m_s kg sòlid sec/h. Aquests dos valors són constants i, per tant, es conserven a la sortida.

El balanç d´aigua en estat estacionari serà:

$$m_s\left(X_w - X_d\right) = m_g\left(Y_o - Y_i\right) = m_{evap} \tag{12.33}$$

I, per tant, m_{evap} representa la capacitat de l'assecador, en kg vapor/h a especificar en un projecte. De tota manera, m_g/m_s representa una variable de l'assecador, que normalment és pren com l'1,2-1,4 del valor mínim.

Balanç d'entalpia en estat estacionari. Considerem que a la figura 12.12 fem un balanç d'entalpia. La calor que cedeix l'aire calent és igual al canvi d'entalpia del sòlid humit en evaporar l'aigua. Així doncs:

$$m_s\left(H_w - H_d + X_w H_w - X_d H_d\right) = m_g\left(H_i - H_o + Y_i H_i - Y_o H_o\right) \tag{12.34}$$

Escrivim ara les entalpies del sòlid humit i de l'aire humit en funció de T i de les humitats. Tindrem:

$$m_s\left[Cs\left(T_d - T_w\right) + X_d H_{aig-L} - X_w H_{aig-L}\right] = m_g\left[C_{air}\left(T_i - T_o\right) + Y_i H_i - Y_o H_o\right] \tag{12.35}$$

Els canvis d'entalpia del sòlid humit i de l'aire s'escriuen a continuació, suposant que la temperatura de vaporització de l'aigua és Tv (generalment, una temperatura humida). Escrivint totes les entalpies en funció de la temperatura, incloent-hi la temperatura d'evaporació, Tv, tindrem, per al canvi d'entalpia del *sòlid humit*:

$$\begin{aligned} Q/m_s &= Cs\left(T_d - T_w\right) + X_w C_{aig-l}\left(T_v - T_w\right) + X_d C_{aig-l}\left(T_d - T_v\right) + \\ &+ \left(X_w - X_d\right)\left[\lambda_v + C_{aig-g}\left(T_o - T_v\right)\right] \end{aligned} \tag{12.36}$$

i, *per a l'aire humit:*

$$Q/m_g = \left(C_{aire} + Y_i C_{aig-V}\right)\left(T_i - T_o\right) \tag{12.37}$$

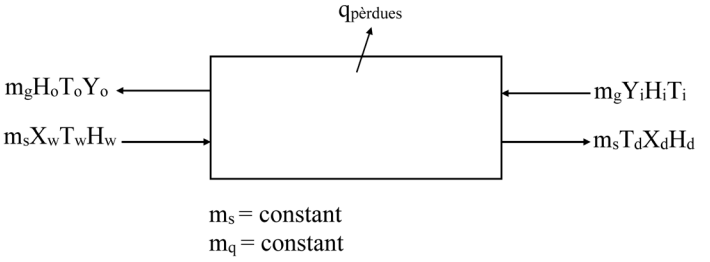


Fig 12.12
Entrades i sortides de corrents en un assecador continu, pràcticament adiabàtic (si qp =0). Les Y son les humitats de l´aire, les H son les entalpies, T son les temperatures ºC, m_s = cabal de sòlid sec, i m_g= cabal d´aire sec, que son constants al llarg del assecador (vegeu text). El canvi d´entalpia de l´aire de escalfament (menys les pèrdues) causa l´evaporació de l´aigua del sòlid.

on Q representa la calor d'assecatge. Si hi hagués pèrdues a l'ambient, s'haurien de deduir d'aquí. Donat un cabal de sòlids per assecar, les equacions anteriors permeten calcular el cabal d'aire d'assecatge mínim (v. exemple 10.7).

Exemple 12.7 Assecador de llit fluid continu: balanços d'entalpia.

S'han d'assecar 4.530 kg/h d'un precipitat humit que entrarà a un assecador a 21 ºC, amb una humitat del 20 % (base seca), els quals s'han d'assecar fins a un 5 % (base

seca). Volem dissenyar un assecador de llit fluid que treballarà a pressió sensiblement atmosfèrica. L'aire d'assecatge entra preescalfat a alta temperatura, a 480 ºC, amb una humitat Y = 0,01 kg/kg, i la seva temperatura humida val 56 ºC. Escriviu el balanç de calor de l'assecador, calculeu els cabals d'aire, les temperatures i la composició de l'aire de sortida cap al cicló, i el PM de l'aire de sortida humit.

Se pressuposa que, malgrat l'alta temperatura de l'aire, la seva temperatura humida és moderada (56ºC) i, per tant, es pot utilitzar sense problemes en l'assecatge.

Els valors de les humitats i de les temperatures de l'assecador seran (v. símbols a la fi):

Aire calent: $T_i = 480$ ºC, $Y_i = 0{,}01$; $T_o = 56$ ºC

Sòlid humit: $X_w = 0{,}2$, $T_w = 21$ ºC; $X_d = 0{,}05$, $T_d = 56$ ºC, $T_v = 56$ ºC

Calors específiques: $C_s = 0{,}2$ kJ/kg ºC, $\lambda_v = 2.502$ kJ/kg

Cabal de sòlid humit = 4.530 kg/h, al 20 % d'humitat. Sòlid sec,

$$m_s = 4.530/(1+0{,}2) = 3.775 \text{ kg /h}$$

Balanç d'entalpia. Apliquem l'equació Q/m_s anterior:

$$Q/m_s = Cs(T_d - T_w) + X_w C_{aig-l}\left(T_v - T_w\right) + X_d C_{aig-L}\left(T_d - T_v\right) +$$
$$+(X_w - X_d)\left[\lambda_v + C_{aig-v}(T_o - T_v)\right]$$

$$Q/m_s = 0,2(56-21) + 0,2\times 4,18\times(56-21) + (0,2-0,05)\left[2.502 + 0,2\times\left(56-56\right)\right]$$

$$Q = 3.775\times\left[\left(7+29,2\right)+375\right] = 1.552.280 kJ/h$$

La variació d'entalpia de l'aire valdrà:

$$Q/m_g = \left(C_{aire} + Y_i C_{aig-V}\right)\left(T_i - T_o\right) = \left(0,2+0,01\times 1,868\right)(480-56) = 424 kJ/kg$$

d'on l'aire sec valdrà:

$$m_g = \frac{1,552\times 10^6}{424} = 3.661 kg/h$$

i la capacitat d'evaporació de l'assecador:

$$m_v = 3.775\times\left(0,2-0,05\right) = 566,2 kg/h$$

Vegem ara els valors dels corrents de l'assecador.

Aire de sortida. Corrent d'aire humit que va cap al cicló:

$$Y_i = 0{,}01; \qquad Y_o = \frac{m_v + Y_i m_g}{m_g} = \frac{566 + 0{,}01 \times 3.668}{3.668} = 0{,}164 kg/kg$$

Cabal total d'aire humit que surt de l'assecador i va al cicló:

$$m_{cicló} = m_g \left(1 + Y_o\right) = 3.668 \times \left(1 + 0{,}164\right) = 4.269 kg/h$$

El pes molecular mitjà d'aquest gas serà:

$$M = \frac{4.269}{\frac{3.669}{29} + \frac{556 + 36{,}8}{18}} = 26{,}8 kg/kmol$$

El cabal d'entrada de sòlid humit és de 3.775 kg/h.

12.5.2 Fluïdització i assecadors de llit fluïditzat: model semiempíric

Primer descriurem el fenomen de la fluïdització d'un llit de partícules sòlides amb aire. Després veurem la dispersió de temps de residència d'un corrent de sòlids en moviment a través d'un assecador, i com això determina la mitjana d'humitat a la sortida. A la figura 12.13, es representa un llit fix de partícules travessat per un corrent d'aire que entra pel fons. Les partícules estan suportades per una placa perforada o distribuïdor d'aire. En incrementar el cabal de l'aire, la resistència a la fricció de les partícules va augmentant i la caiguda de pressió de l'aire també . Quan la fricció de l'aire sobre les partícules iguala el pes d'aquestes, les partícules comencen a separar-se unes de les altres i a quedar suspeses en l'aire. La velocitat de l'aire a la qual això té lloc s'anomena *velocitat mínima de fluïdització*, u_{mf}, i el llit passa de fix a fluïditzat. És a dir, quan $u_0 > u_{mf}$, la fluïdització és incipient i comença el règim de fluïdització. La u_{mf} és una característica fonamental d'un llit fluïditzat, i a prop d'aquest punt la fracció buida del llit és, aproximadament, la del llit fix, és a dir, $\varepsilon_{mf} \sim 0{,}4$ (per a esferes iguals).

En augmentar més el cabal d'aire, la caiguda de pressió no augmenta més, i l'excés d'aire sobre el de mínima fluïdització tendeix a passar en forma de bombolles d'aire o glops que poden ocupar tota la secció de pas. El règim de llit fluid es manté entre les velocitats de u_{mf} i u_t. A u_t, la velocitat de l'aire és tal que s'endú les partícules del llit. Aquest és el règim de transport pneumàtic, i ε tendeix a la unitat (v. fig. 12.13).

Si utilitzem l'equació d'Ergun (v. cap. 8) per calcular la pèrdua de pressió de l'aire en un llit fix, tindrem:

$$-\frac{\Delta p}{L} = 150\frac{\left(1-\varepsilon\right)^2}{\varepsilon^3}\frac{\mu u}{\left(\phi d_p\right)^2} + 1{,}75\frac{\left(1-\varepsilon\right)}{\varepsilon^3}\frac{\rho u^2}{\phi d_p} \qquad (12.38)$$

on ϕ és el coeficient d'esfericitat de la partícula. D'altra banda, el pes efectiu de llit que gravita sobre el distribuïdor serà:

$$\frac{\Delta p}{L} = (1-\varepsilon)(\rho_s - \rho)g \qquad (12.39)$$

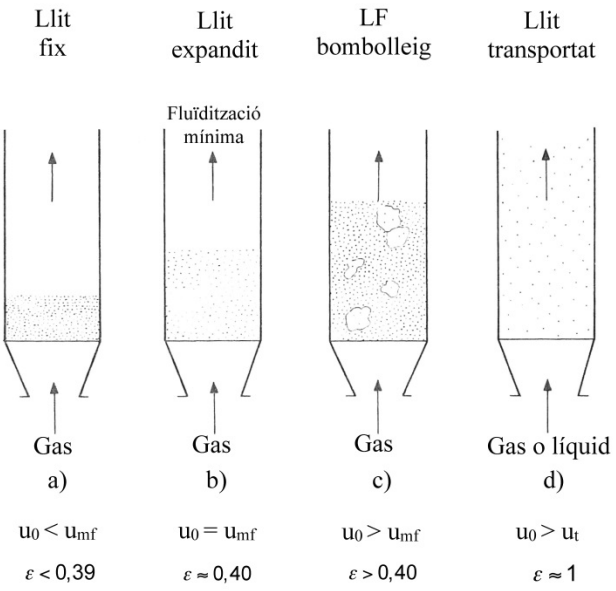


Fig 12.13
Fonaments de la fluidització de partícules sòlides, u_0 és la velocitat d´aire, u_{mf} és la velocitat a la que s´inicia la fluidització; u_t és la velocitat terminal de caiguda lliure de les partícules. Quan és supera u_t, les partícules comencen a ser transportat fora del llit. Els aparells de fluidització operen a $2u_{mf}$-$10u_{mf}$ o més. Vegeu , ε aproximat, a cada règim.

En el moment de la fluïdització incipient, s'iguala ΔP d'Ergun al pás del llit. A la velocitat mínima de fluïdització, u_{mf}, ambdues forces s'igualen i la u_{mf} s'obté de l'equació que en resulta.

Per a partícules petites, $Re_p < 20$, la contribució turbulenta de l'equació d'Ergun és negligible, i solament compta el primer terme de la dreta. En aquestes condicions, l'expressió de la u_{mf} que se n'obté és:

$$u_{mf} = \frac{d_p^2(\rho_s - \rho)g}{150\mu}\left(\frac{\phi^2\varepsilon_{mf}^3}{1-\varepsilon_{mf}}\right), \quad \mathrm{Re}_p = \frac{d_p\rho u_{mf}}{\mu} < 20 \qquad (12.40)$$

on el paràmetre entre parèntesis es pot prendre segons Wen-Yu (Coulson i Richardson, 2003):

$$\frac{1-\varepsilon_{mf}}{\phi^2 e_{mf}^3} \approx 11 \qquad (12.41)$$

Temps de residència d'un sòlid movent-se en un assecador de LF. És interessant notar que els sòlids del llit fluid es comporten com un fluid i, per tant, es poden fer circular des del punt d'alimentació fins al punt de sortida de l'assecador. S'aprofita, doncs, aquesta capacitat per fer fluir partícules humides per dins de l'assecador, donant-los temps suficient per assecar-se. Es diu, així, que les partícules constitueixen un *macrofluid*, els elements del qual estan completament segregats. Dins de l'assecador, el macrofluid flueix generalment en *mescla perfecta*, com demostren diversos estudis; per

tant, podem descriure de manera senzilla la seva distribució de temps de residència. Per al *flux ben mesclat*, la funció de distribució de temps de residència és la següent (Levenspiel, 1973):

$$E(t) = \frac{\exp\left(-t/\bar{t}\right)}{\bar{t}}, \quad \text{on } \bar{t} = \frac{W}{F_0} \tag{12.42}$$

on $t_{mitjà}$ és el temps mitjà de residència del sòlid en un llit fluid amb W kg de sòlid sec retingut en el llit en operació contínua i F_0 el cabal de sòlid sec, en m_s. Recordem que E(t) té la propietat següent. El producte E(t) dt és igual a la fracció de sòlid que surt de l'aparell que ha residit un temps comprès entre t i t+dt. Es compleix:

$$\int_0^a E dt < 1 \tag{12.43}$$

i la integral representa la fracció de corrent de sortida que ha residit un temps α o menys. L'equació anterior representa la funció de distribució acumulada, F ($t = \alpha$) < 1.

Si el temps necessari per a l'assecatge complet d'una partícula és conegut i val τ, podem aplicar la teoria del nucli minvant a l'assecatge de partícules de mida total constant. El model gas-sòlid més adequat per a l'evaporació d'aigua de partícules és quan controla la transferència externa de massa. Per tant, podem modelar l'assecatge d'una partícula com una entitat segregada que circula durant un temps t, en el règim de velocitat constant. Escrivint que l'evolució humitat-temps de la partícula serà (Levenspiel, 1973):

$$\frac{t}{\tau} = Fracció\ d'humitat\ lliure\ evaporada = \frac{X_0 - X(t)}{X_0} \tag{12.44}$$

d'on X(t):

$$\frac{X(t)}{X_0} = 1 - \frac{t}{\tau}, \quad \text{per a } t \le \tau \tag{12.45}$$

$$\text{Per a } t > \tau \quad X = 0 \tag{12.46}$$

Així doncs, la humitat d'una partícula és lineal amb el temps durant l'assecatge quan circula segregada, i quan el coeficient de transport de massa extern controla l'assecatge. Per tant, la humitat mitjana d'una població de partícules que flueix amb una certa E(t) arbitrària es pot calcular, mitjançant el model de flux segregat, com:

$$\overline{X}_d = \int_0^\infty X(t)E(t)dt \tag{12.47}$$

Tenint en compte les expressions de X(t) i E(t), i substituint-les a la integral, tindrem:

$$\overline{X}_d = \int^{\tau} X_0\left(1 - t/\tau\right)\frac{\exp\left(-t/\bar{t}\right)}{\bar{t}}dt \tag{12.48}$$

Integrant per parts, s'obté:

$$\overline{X}_d = X_0 \left[1 - \frac{1 - \exp\left(-\tau/\bar{t}\right)}{\tau/\bar{t}} \right] \tag{12.49}$$

Si les partícules són poroses i el règim d'assecatge és el de velocitat decreixent, es postula que hi ha una evolució exponencial de la humitat, del tipus:

$$X_d = \exp\left(-Bt\right) \tag{12.50}$$

Substituint aquesta expressió a l'equació del model de flux segregat, s'obté, per integració analítica:

$$\overline{X}_d = \frac{1}{1 + B\bar{t}} \tag{12.51}$$

Obtenció dels paràmetres del model. Els qui treballen en desenvolupament de processos saben que especialment els assecadors es trien a partir de proves a escala reduïda. Això es fa generalment al taller del constructor. Per a un llit fluid de laboratori, utilitzarem una unitat que operi per càrregues a les mateixes temperatura, velocitat de fluïdització i mida de partícules previstes. És important la fluïdització correcta del material i la determinació dels valors de τ i, si és necessari de B, mesurant els perfils de temperatura que s'han explicat abans.

Un aspecte important és determinar la mida de partícula a l'entrada de l'assecador. És possible que el sòlid humit provingui d'un tortó de filtració o d'una centrífuga. Per tant, caldrà disgregar-lo en forma de partícules petites. Generalment, s'empra un molí ràpid de martells continu a la capçalera de l'alimentació de sòlid, abans del vis sens fi o la vàlvula d'introducció del material a l'assecador.

Exemple 12.8 Dimensionament preliminar d'un assecador de llit fluïditzat.

Per al llit fluid de l'exemple anterior, tenim dades de la planta pilot que ens poden ajudar a calcular el llit fluïditzat a plena escala. Sabem que les partícules tenen una mida d_p= 0,500 mm, un factor de forma (esfericitat) ϕ = 0,67 i una densitat ρ_s = 2.600 kg/m^3. La porositat del llit en funcionament és de ε = 0,55. A una velocitat de fluïdització de 2 u_{mf}, el temps d'assecatge d'una mostra de sòlids en un llit fluid de laboratori fou de 8 min, amb l'aire en les mateixes condicions (56 ºC).

A partir d'un model simple del llit fluid continu, suposant que el sòlid circula en flux ben mesclat amb una distribució de temps de residència ideal, determineu unes dimensions inicials per al llit fluïditzat (altura i diàmetre).

Dades: S'estima que la viscositat de l'aire és μ= 0,02 cP. Se suposa que, a baixa velocitat de treball, no hi ha gaire bombolles i que l'expansió del llit és d'un 10 % respecte del llit fix. Per a d'altres dades, vegeu l'exemple 12.6.

Dades: d_p= 0,5 mm, μ = 0,02 × 10^{-3} Pa·s, ρ = 1 kg/m^3, ρ_s = 2.600 kg/m^3. Com que no sabem la porositat a mínima fluïdització, prenem:

$$\frac{1-\varepsilon_{mf}}{\phi^2\varepsilon_{mf}^3} \approx 11$$

Velocitat mínima de fluïdització:

$$u_{mf} = \frac{d_p^2(\rho_s - \rho)g}{150\mu}\left(\frac{\phi^2\varepsilon_{mf}^3}{1-\varepsilon_{mf}}\right), \quad per\ a\ \ \mathrm{Re} < 20$$

d'on:

$$u_{mf} = \frac{\left(0,5\times10^{-3}\right)^2(2.600-1)9,81}{150\times0,02\times10^{-3}\times11} = 0,38\,m/s$$

Comprovem Reynolds a mínima fluïdització:

$$\mathrm{Re} = \frac{d_p u_{mf}\rho}{\mu} = \frac{0,5\times10^{-3}\times1\times0,38}{0,02\times10^{-3}} = 9,5 < 20$$

Per tant, prenem $u_0 = 2 \times 0,38 = 0,77$ m/s, i suposem que hi ha una expansió del llit d'un 10 %.

Temps de residència mitjà a l'assecador. Tenim $X_d = 0,05$ i $X_0 = 0,20$ kg/kg as, i el temps d'assecatge de les partícules val $\tau = 8$ min. Vegem quan ha de valdre el temps mitjà de residència a l'assecador. Utilitzem l'expressió (12.49):

$$\frac{X}{X_0} = \frac{0,05}{0,20} = 1 - \frac{1-\exp\left(-8/\bar{t}\right)}{8/\bar{t}} = 0,25$$

d'on, resolent, $8/\bar{t} = 0,61$ i el temps mitjà és 13,1 min = 0,22 h. Per tant, el llit haurà de funcionar a un temps mitjà més gran que 8 min.

Per a una expansió del sòlid en el llit d'un 10 %, la densitat del llit fluid serà:

$$\rho_{llit} = \frac{\rho_s(1-\varepsilon)}{1,1} = \frac{2.600\times(1-0,55)}{1,1} = 1.060\,kg/m^3$$

i el volum de llit V complirà:

$$\bar{t} = \frac{W}{m_s} = \frac{V\rho_{llit}}{3.775} = \frac{V\times1.060}{3.775} = 0,22$$

d'on V= 0,78 m^3. Per tant, les dimensions d'un llit cilíndric seran:

$$\frac{\pi D^2}{4}u_0 = m_{sortida}\rho; \qquad D^2 = \frac{1,185\times4}{0,78} = 1,935$$

i les dimensions del llit fluid, D = 1,39 m, secció = 1,51 m^2, i l'alçada de sòlid en el llit en operació serà de 0,51 m.

12.6. Consideracions finals

En aquest capítol, s'han descrit els principals aparells d'assecatge que es fan servir a la indústria biofarmacèutica. Un assecador industrial és obra de professionals de la construcció; per tant, s'han donat definicions d'aire humit i assecatge, i procediments molt generals per descriure el tipus d'assecador que s'ha de triar, però donant indicacions globals dels balanços de massa i energia necessaris per poder plantejar solucions en col·laboració amb el constructor.

En biotecnologia, convindrà saber quin sòlid es vol assecar i si cal fer-ho (v. taula 12.2). Caldrà fer proves a escala pilot amb diferents assecadors i preparar suficient sòlid humit per fer les proves. Això pot resultar molt car, tanmateix. Al laboratori del constructor, hi ha avui dia assecadors de llit fluid, atomitzadors o simplement estufes al buit, per jutjar l'adequació dels aparells. Les dimensions mínimes per estudiar un procés d'assecatge són les següents.

Assecadors rotatoris. Les mínimes dimensions serien de 30 cm de diàmetre del tambor i 2 m de llargada, amb 20 o 30 rpm de rotació del tambor. Escalfament elèctric.

Assecadors pneumàtics. Tub de pujada de 8 cm de diàmetre i 2 m d'alçada, fent diversos passos del sòlid, per tal de simular uns 10-12 m d'alçada. La velocitat de l'aire és d'1 m/s i l'alimentació, d'uns 0,1 kg/min.

Pel que fa als assecadors d'atomització, ens remetem a l'experiència de Niro Atomizer (Dinamarca), descrit per Perry-Green. Les condicions serien disposar d'un tambor d'1 m de diàmetre i 2 m d'alçada, amb un cabal d'aire de 0,5 m^3_n/min a una pressió suficient. Amb un equip així, es pot obtenir una evaporació de 10-25 kg/h i partícules de 5 a 40 micres.

Els assecadors de llit fluïditzat han de tenir una capacitat de treball de 50 kg/h d'evaporació per a ser significatius. Tanmateix, es poden extreure conclusions al taller del proveïdor amb unitats més petites, treballant per càrregues. És important definir ben bé (v. exemples presentats) l'estat en què arriben les partícules i com disgregar-les, com també la u_0 de treball en el disseny del llit final.

Respecte als proveïdors del país, cal esmentar Riera Nadeu, SA, en el camp dels assecadors pneumàtics tipus flaix; Niro Atomizer, i, per a sistemes d'assecatge al buit i liofilització, l'empresa Telstar, SA. D'altres constructors de molins i llits fluids són Oliver i Batlle o Zean, SA.

12.7 Notació

a	Area específica d´un sòlid, m^2/kg
A	Area, m^2
B	Coeficient d´assecament període velocitat decreixent, s^{-1}
C	Calor específica,kJ/kg ºC
Cs	Calor humit, kJ/ kg ºC
Δp	Caiguda de pressió llit fix, Pa
d_p	Mida de partícula, m
E(t)	Distribució de temps de residència, s^{-1}
F_0	Cabal màasic, kg/s
G	Flux màssic kg/m^2s
g	Acceleració gravetat, 9,81 m/s^2
h	Coeficient de convecció de calor, W/m2K
H	Entalpia, kJ/kg
h_R	Convecció-radiació, W/m2 K
k_e	Coeficient de de conducció efectiva medi porós, W/m K
k_m	Coeficient de conducció metall, W/m K
L	Gruix llit fix, m
L	Alçada llit fluid, m
m	Pendent
m	Cabal màssic, kg aire o aigua/s
N	Flux d´assecatge, kg aigua/m^2 kg as/s
n_A	Mols A
p_A	Pressio parcial component A, bar o Pa
p_{tot}	Pressió total, bar o Pa
q	Flux de calor total, W/m^2
Q	Quantitat de calor, kJ
q_c	Flux de convecció, W/m^2
q_k	Flux de conducció, W/m^2
q_R	Flux de radiació-convecció, W/m^2
Re	Nombre de Reynolds
s	Percentatge de sòlids d´un sòlid humit, kg/100 kg sòlid humit
t	Temps, s o h
T	Temperatura, ºC
$t_{mitjà}$	Temps mitjà de residència, s
u	Velocitat, m/s
U_k	Coeficient global en un medi compost, W/m2K
u_{mf}	Velocitat de fluidització incipient. m/s
u_t	Velocitat terminal d´una partícula, m/s
V	Volum, m3
w	Massa d´aigua, kg
W	Massa retinguda en llit fluid, kg ss
X	Humitat d´un sòlid, kg aigua/kg s.s.
X*	Humitat d´equilibri, kg/kg ss
X_c	Humitat crítica, kg/kg ss
Y	Humitat absoluta de l´aire, kg aigua/kg a.s.
y	Fracció molar de vapor en l´aire humit, mol/mol
z	Coordenada de longitut, m

ε	Porositat
ϕ	Coeficient d´esfericitat
λ	Calor latent vaporització, kJ/kg aigua
μ	Viscositat, Pa.s
ρ	Densitat, kg/m^3
τ	Temps d´assecatge d´una partícula, s

as/a.s.	Aire sec
ss/s.s.	Sòlid sec

ANNEX. Aire humit i diagrama psicromètric

A la taula 12A, es resumeixen les definicions i les equacions de l'aire humit a pressió normal a nivell del mar, que s'utilitzen per descriure el sistema d'aire humit, útil en l'estudi de l'assecatge de sòlids. A més, s'adjunta un diagrama humitat-temperatura (Carrier o Grosvenor). A continuació, proporcionem un exemple de com s'utilitza aquesta informació.

Taula A12.1 Relacions psicromètriques per sistema d'aire-aigua a pressió barométrica normal

Pesos moleculars			
Aigua	M_A=18,0 kg/kmol		
Aire	M_B=28,9 kg/kmol		
Humitat absoluta, Y	$Y = 0,622\dfrac{p_A}{1,0133\times10^5 - p_A} kg\ H_2O/kg\ as$	p_A pressió parcial del vapor d'aigua, Pa	Eq. A.1
Calor humida, Cs	$Cs = 1,005 + 1,884Y\ kJ/kg\ as^oC$		Eq. A.2
Entalpia de l'aire humit, H	$H = (1,005 + 1,884Y)T_g + 2.502Y\ kJ/kgas$		Eq. A.3
Calor latent del vapor d'aigua, λ_0	$\lambda_0 = 2.502kJ/kg$		Eq. A.4
Volum humit, v_H	$v_H = (0,00283 + 0,00456Y)(T_g + 273)\ m^3/kg\ as$		Eq. A.5
Línies de saturació adiabàtica	$T_g - T_w = \dfrac{\lambda_w(Y_{sat} - Y)}{h/k_Y}$	h coeficient de convecció de calor aire-aigua, J/s m^{2}ºC	Eq. A.6
Depressió del termòmetre humit	$T_g - T_w = \dfrac{(Y_{sat} - Y)}{Cs}$	k_Y coeficient de convecció de massa aigua-aire kg/s m$^2\Delta Y$=1	Eq. A.7
Relació psicromètrica	$\dfrac{h}{k_Y} = 0,950\ kJ/kg^oC$		Eq. A.8
Entalpia de l'aire saturat, H_s (kJ/kg) en funció de Tg	0ºC 10 20 30 40 50 60	9,48kJ/kg as 29,36 57,57 100,03 166,79 275,58 461,5	

Unitats del SI (m, kg, N, ºC); A = aigua; B = aire; as = aire sec; ss = sòlid sec; Tg temp. = termòmetre sec; Tw temp. = termòmetre humit. Zero d'entalpia: aire i aigua líquida, a 0 ºC. Humitat de l'aire saturat a 0 ºC, Y = 0,0040 kg/kg as

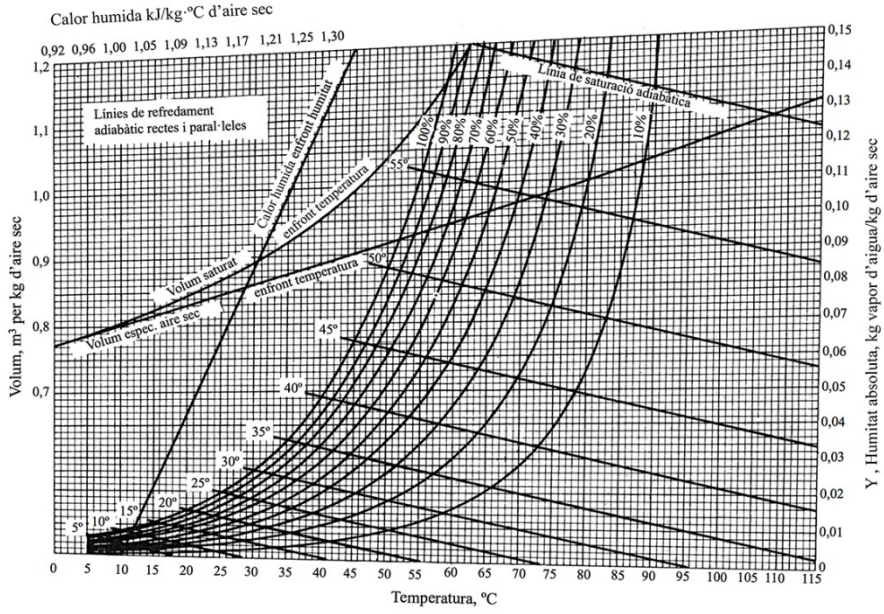


Fig Annex Diagrama Psicromètric (de Grosvenor) a pressió atmosfèrica normal 1013 mbar. Adaptat de McCabe-Smith (1968)

Exemple 12A Propietats d'un aire humit.

Un aire humit té una temperatura de 55 ºC i una temperatura humida de 32 ºC. Trobeu-ne les característiques següents: *a*) humitat absoluta, humitat relativa i temperatura de rosada; *b*) pressió parcial de l'aigua; *c*) entalpia de l'aire; *d*) volum humit; *e*) Calor específica humida.

a) El mesurament de les temperatures seca i humida d'un aire amb els dos termòmetres (el normal i l'humit) és el mètode aproximat més ràpid per determinar la humitat de l'aire.

Situem primer la T_w = 32 ºC sobre la corba de saturació. Des d'aquest punt, tracem una paral·lela a les rectes adiabàtiques cap a temperatures creixents, fins que intersequi la perpendicular a la temperatura de les abscisses a 55 ºC. La Y d'aquest punt serà la humitat absoluta de l'aire, Y = 0,02 kg/kg as. Per calcular-ne la humitat relativa, primer determinem la humitat absoluta d'un aire saturat d'humitat. Una perpendicular a les abscisses a 55ºC ens dóna una humitat absoluta de Hs = 0,115 kg/kg as. La humitat relativa serà, doncs:

$$HR = \frac{Y}{Y_s}100 = \frac{0,02 \times 100}{0,115} = 17,4\%$$

La temperatura de rosada de l'aire de 55ºC l'obtindrem traçant una horitzontal des d'aquest punt cap a l'esquerra del diagrama fins a intersecar la corba de saturació, T_{rosada}= 25ºC

c) Com que al diagrama que tenim no hi són representades les entalpies, calculem l'entalpia d'un aire amb l'equació A3 de la taula A12, per a Y = 0,02 i T = 55

$$H = (1,005 + 1,884Y)T + 2.502Y = (1,005 + 1,884 \times 0,02) \times 55 + \\ +2.502 \times 0,02 = 107,3\, kJ/kg\ as$$

d) Volum humit. Sobre el diagrama, es llegeix, per a *aire saturat* = 1,05 m^3/kg as, a T = 55 ºC. Per a *aire sec* = 0,93. Així doncs, per a una humitat del 17,4 % podem interpolar:

$$V_H = 0,95 + (1,05 - 0,93) \times 0,174 = 0,96\, m^3/kg\ as$$

però, aplicant l'equació A5, s'obté:

$$V_H = (0,00283 + 0,00456Y)(T_g + 273) = (0,00283 + 0,00456 \times 0,02) \times (273 + 55) = \\ 0,958\, m^3/kg\ as$$

e) Calor específica humida. Es pot llegir sobre el diagrama. Per a una humitat de Y = 0,02, tenim ~1,05 kJ/kgºC, que, com que és imprecís, calculem amb l'equació A2 de la taula A12:

$$Cs = 1,005 + 1,884Y\ \ kJ/kg\ as°C = 1,005 + 1,884 \times 0,02 = 1,042\, kJ/°C\ \ kg\ as$$

Annexos

Annex 1: Fòrmules de Van der Laan

Considerem un bloc no estacionari, sotmès a una entrada de traçador inert. Es defineix la transmitància del bloc com:

$$G(s) = \frac{Y(s)}{X(s)} \tag{A1}$$

on Y(s) i X(s) són les transformades de la resposta y(t) i de l´entrada x(t)., respectivament. Si l'entrada és un impuls unitari x(t) = δ(t), la seva transformada val X(s) = 1. Per tant, tenim que la sortida ens dóna, directament, G(s), ja que:

$$G(s) = Y(s)\big|_{pols} \tag{A2}$$

La teoria del flux no ideal de Levenspiel (1999) estableix que la resposta temporal d'una entrada en impuls unitari és la funció de distribució del temps de residència, E(t). Així doncs, la transformada de Laplace de la resposta E(t) és igual a la transmitància del bloc. Per tant:

$$G(s) = \int_0^\infty e^{-st} E(t)\, dt \tag{A3}$$

Sabem que, per a un adsorbat, un traçador no reactiu o inert o una columna cromatogràfica reversible, res no queda retingut a la columna, d'on:

$$G(s=0) = \int_0^\infty E(t)dt = \mu_0 = 1 \tag{A4}$$

que implica que E (t) està normalitzada (anomenada corba C (t) per Levenspiel). Derivant dues vegades la G(s) respecte a s, sota el signe integral, s'obtenen les expressions següents:

$$G'(s=0) = -\int_0^\infty tE(t)dt = \mu_1 = \bar{t}$$
$$G''(s=0) = \int_0^\infty t^2 E(t)dt = \mu_2 \qquad \text{(A5, A6)}$$

etc., que ens donen els valors de temps mitjà i la variància total de l'E(t). L'expressió general del moment d'ordre k és:

$$\mu_k = (-1)^k \left(\frac{d^k G}{ds^k}\right)_{s=0} \qquad k = 1,2,... \qquad \text{(A7)}$$
$$\mu_k = G(s=0) \qquad k = 0$$

Pel que fa al moment de segon ordre, normalment es fa servir el moment centrat, variància estadística habitual respecte la tendència central:

$$\mu_2' = \int_0^\infty (t-\mu_1)^2 E(t)dt = \mu_2 - (\mu_1)^2 \qquad \text{(A8)}$$

que es calcula a partir de μ_1 i μ_2. Les expressions de A5 a A7 són les fórmules de Van der Laan, que permeten calcular els moments de la resposta a partir de G(s), calculant les derivades 1a i 2a de G (s), *sense haver d'invertir G*. El moment d'ordre zero val la unitat; el moment de primer ordre és el temps mitjà de residència, i el moment de segon ordre és la dispersió del senyal. Els moments superiors generalment no s'utilitzen. Aquestes expressions permeten fer un tractament més compacte del flux no ideal en aparells de procés.

Annex 2. Mides de partícula i anàlisi granulomètrica

Mètodes de mesurament de les mides de les partícules. A la taula A11.1, s'indiquen els mètodes més corrents de mesurament de la mida de les partícules, i els marges més corrents. Per raó de la seva forma irregular, les mides poden diferir en més d'un 50 %, com a conseqüència de la no-esfericitat. A la pràctica, la distribució de mides dels cristalls es fa amb un joc de tamisos normalitzats (d'acord amb ASTM, BS o ISO). Els tamisos normalitzats s'especifiquen a la taula annexa, junt amb les seves obertures.

Taula A.1
Mètodes per mesurar la mida de les partícules

Mètode	Interval de mides, micrometres
Anàlisi per tamisat	32 a 5.600
Comptador Coulter	1 a 200
Sedimentació per gravetat	1-50
Microscopia òptica	0,5-150
Dispersió de llum làser	0,04-2.000
Sedimentació centrifuga	0,01-5
Microscopia electrònica (t)	0,001-5

Abans de procedir al tamisat, la mostra de material se sotmet a 100 cops del contenidor de la mostra. El tamisat es fa durant 30-60 min amb un cert pes de mostra (500-1.000 g), en un aparell vibratori o rotatori.

Taula A:2
Escala de tamisos normalitzats de Tyler

Nombre de malles Tyler	Obertura entre fils adjacents, µm	Nombre de malles Tyler	Obertura entre fils adjacents, 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

Font: McCabe i Smith (1968)

Annex 3. Aire humit i diagrama psicromètric

A la taula A3, es resumeixen les definicions i les equacions de l'aire humit a pressió normal a nivell del mar, que s'utilitzen per descriure el sistema d'aire humit, útil en l'estudi de l'assecatge de sòlids. A més, s'adjunta un diagrama humitat-temperatura (Carrier o Grosvenor). A continuació, proporcionem un exemple de com s'utilitza aquesta informació.

Taula A.3
Relacions psicromètriques per sistema d'aire-aigua a pressió barom ètrica normal

Pesos moleculars			
Aigua	M_A=18,0 kg/kmol		
Aire	M_B=28,9 kg/kmol		
Humitat absoluta, Y	$Y = 0,622\frac{p_A}{1,0133\times10^5 - p_A} kg\ H_2O/kg\ as$	p_A pressió parcial del vapor d'aigua, Pa	Eq. A.1
Calor humida, Cs	$Cs = 1,005 + 1,884Y\ kJ/kg\ as^oC$		Eq. A.2
Entalpia de l'aire humit, H	$H = (1,005 + 1,884Y)T_g + 2.502Y\ kJ/kgas$		Eq. A.3
Calor latent del vapor d'aigua, λ_0	$\lambda_0 = 2.502kJ/kg$		Eq. A.4
Volum humit, v_H	$v_H = (0,00283 + 0,00456Y)(T_g + 273)\ m^3/kg\ as$		Eq. A.5

Línies de saturació adiabàtica	$T_g - T_w = \frac{\lambda_w (Y_{sat} - Y)}{h / k_Y}$	h coeficient de convecció de calor aire-aigua, J/s m^2ºC	Eq. A.6
Depressió del termòmetre humit	$T_g - T_w = \frac{(Y_{sat} - Y)}{Cs}$	k_Y coeficient de convecció de massa aigua-aire kg/s $m^2 \Delta Y=1$	Eq. A.7
Relació psicromètrica	$\frac{h}{k_Y} = 0,950\ kJ / kg^{\circ} C$		Eq. A.8

Entalpia de l'aire saturat, H_s (kJ/kg) en funció de Tg		
	0ºC	9,48kJ/kg as
	10	29,36
	20	57,57
	30	100,03
	40	166,79
	50	275,58
	60	461,5

Unitats del SI (m, kg, N, ºC); A = aigua; B = aire; as = aire sec; ss = sòlid sec; Tg temp. = termòmetre sec; Tw temp. = termòmetre humit. Zero d'entalpia: aire i aigua líquida, a 0 ºC. Humitat de l'aire saturat a 0 ºC, Y = 0,0040 kg/kg as

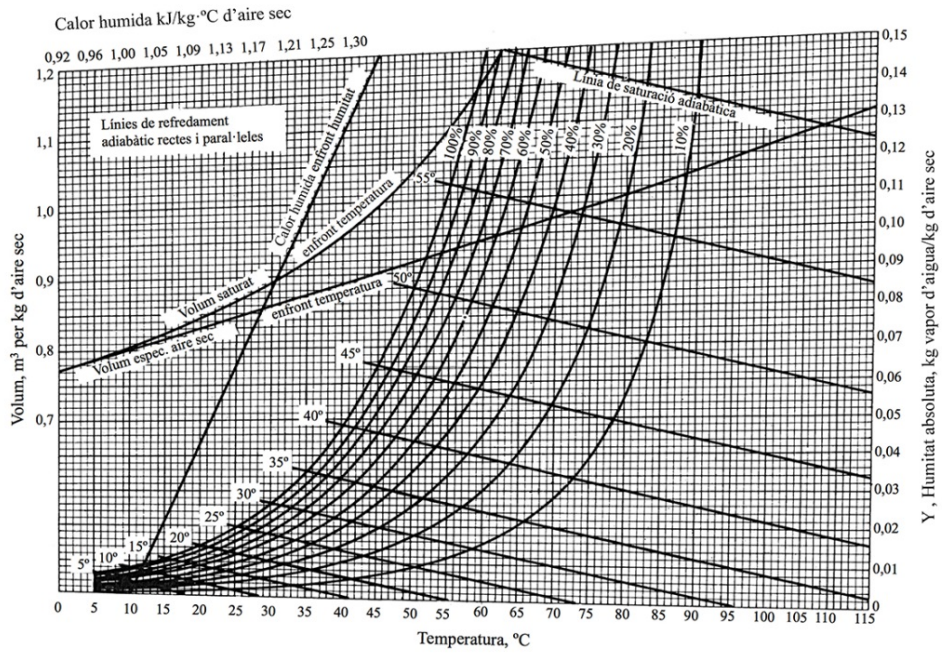


Fig Annex Diagrama Psicromètric (de Grosvenor) a pressió atmosfèrica normal 1013 mbar. Adaptat de McCabe-Smith (1968)

Exemple A Propietats d'un aire humit.

Un aire humit té una temperatura de 55 ºC i una temperatura humida de 32 ºC. Trobeu-ne les característiques següents: *a*) humitat absoluta, humitat relativa i temperatura de rosada; *b*) pressió parcial de l'aigua; *c*) entalpia de l'aire; *d*) volum humit; *e*) Calor específica humida.

a) El mesurament de les temperatures seca i humida d'un aire amb els dos termòmetres (el normal i l'humit) és el mètode aproximat més ràpid per determinar la humitat de l'aire.

Situem primer la T_w = 32 ºC sobre la corba de saturació. Des d'aquest punt, tracem una paral·lela a les rectes adiabàtiques cap a temperatures creixents, fins que intersequi la perpendicular a la temperatura de les abscisses a 55 ºC. La Y d'aquest punt serà la humitat absoluta de l'aire, Y = 0,02 kg/kg as. Per calcular-ne la humitat relativa, primer determinem la humitat absoluta d'un aire saturat d'humitat. Una perpendicular a les abscisses a 55ºC ens dóna una humitat absoluta de Hs = 0,115 kg/kg as. La humitat relativa serà, doncs:

$$HR = \frac{Y}{Y_s}100 = \frac{0,02 \times 100}{0,115} = 17,4\%$$

La temperatura de rosada de l'aire de 55ºC l'obtindrem traçant una horitzontal des d'aquest punt cap a l'esquerra del diagrama fins a intersecar la corba de saturació, T_{rosada}= 25ºC

c) Com que al diagrama que tenim no hi són representades les entalpies, calculem l'entalpia d'un aire amb l'equació A3 de la taula A12, per a Y = 0,02 i T = 55

$$H = (1,005 + 1,884Y)T + 2.502Y = (1,005 + 1,884 \times 0,02) \times 55 +$$
$$+2.502 \times 0,02 = 107,3\, kJ/kg\ as$$

d) Volum humit. Sobre el diagrama, es llegeix, per a *aire saturat* = 1,05 m^3/kg as, a T = 55 ºC. Per a *aire sec* = 0,93. Així doncs, per a una humitat del 17,4 % podem interpolar:

$$V_H = 0,95 + (1,05 - 0,93) \times 0,174 = 0,96\, m^3/kg\ as$$

però, aplicant l'equació A5, s'obté:

$$V_H = (0,00283 + 0,00456Y)(T_g + 273) = (0,00283 + 0,00456 \times 0,02) \times (273 + 55) =$$
$$0,958\, m^3/kg\ as$$

e) Calor específica humida. Es pot llegir sobre el diagrama. Per a una humitat de Y = 0,02, tenim ~1,05 kJ/kgºC, que, com que és imprecís, calculem amb l'equació A2 de la taula A12:

$$Cs = 1,005 + 1,884Y\ \ kJ/kg\ as°C = 1,005 + 1,884 \times 0,02 = 1,042\, kJ/°C\ \ kg\ as$$

Bibliografia

Capitol 1

Belter, P.A., Cussler, E.L., Hu, W.-S. (1988): *Bioseparations*. Nova York: Wiley-Interscience

Blanch, H. W.; Clark, D. S. (1997): *Biochemical Engineering*. Nova York: - Marcel Dekker.

Ghosh, R. (2006): *Principles of Bioseparations Engineering*. Nova Jersey: World Scientific.

Harrison, R.G.,Todd,P., Rudge, S.R., Petrides, D.P. (2003): *Bioseparations Science and Engineering,* Oxford: OUP

King, C. J. (1980): *Separation Processes*. 2a ed. Nova York: McGraw-Hill.

Wesselingh,J.A., Krijgsman,J. (2013): *Downstream Processing in Biotechnology,* Delft : DAP

Capitol 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. Nova York: McGraw-Hill.

Pannevis-Larox (2012): <www.outotech.com>

Perry, J. H. (1980): *Chemical Engineers' Handbook*. Part 18. 7a ed. Nova York: McGraw-Hill.

Richardson J.F., Harker, J.H., Backhurst, J.R.(2002): *Coulson & Richardson´s Chemical Engineering* Volum 2, 5a ed., Oxford: Butterworth-Heinemann

Capitol 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 (març), 150. Nova York: AIChE.

Axelsson, H. (2013): "Cell Separation, Centrifugation", a Flickinger, M. C. (ed.) *Downstream Industrial Biotechnology*. Nova York: J. Wiley.

Belter, P. A.; Cussler, E. L., Hu, W. S. (1988): *Bioseparations.* Nova York: J. Wiley.

Coulson & Richardson (2002): "Centrifugal Separations", *Chemical Engineering*, 5a ed., vol. 2. 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", a Ratledge, C.; Kristiansen, B. (ed.) *Basic Biotechnology.* 3a ed., cap. 9. Cambridge: Cambridge University Press.

Perry, R. H.; Green, D. W. (1998): *Chemical Engineers' Handbook.* 7a ed. Nova York: McGraw-Hill.

Sinnott, R. K. (1998): "Coulson & Richardson's Chemical Engineering". *Chemical Engineering Design,* vol. 6, rev. 2a ed. Oxford: Butterworth-Heinemann.

Tanford, C. M. (1961): *Physical Chemistry of Macromolecules.* Nova York: J. Wiley.

Capitol 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*. Nova York: J. Wiley.

Engler, C. R. (1993): "Cell Breakage". A: Harrison, R. G. (ed.). *Protein Purification Process Engineering*. Nova York: M. 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. Nova York: McGraw Hill.

Tanford, C. (1961): *Physical Chemistry of Macromolecules*. Nova York: J. Wiley.

Capitol 5

Brandrup, J.; Immergut, E. H.; Grulke, E.A. (1999): *Polymer Handbook*. 4a ed. Nova 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. (2013b): *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.*, 2 de febrer.

Probstein, R. F. (2003): *Physicochemical Hydrodynamics*. 2a ed. Nova York: J. Wiley.

Rigola, M. (1989): *Tratamiento de aguas industriales*. Barcelona: Marcombo, Boixareu.

Shaw, D. J. (1980): *Introduction to Colloid and Surface Chemistry*. 3a ed. Londres: Butterworths.

Wang, D. I. C.; Cooney, C. L.; Demain, A. L.; Dunnil, P.; Humphrey, A. E.; Lilly, M. D. (1979): *Fermentation and Enzyme Technology*. Nova York: J. Wiley.

Capitol 6

Bailey, J. E.;, Ollis, D. F. (1986):, *Biochemical Engineering Fundamentals*. 2a ed. Nova York: McGraw-Hill.

Bell, 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*. Nova 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.*, 46, abril.

Levenspiel, O. (1996): *The Chemical Reactor Omnibook.*, OSU, Corvallis: OSU.

Pauling, L. (1970): *General Chemistry*. 3a ed. San Francisco: Freeman and Company.

Probstein, R. F. (2003): *Physicochemical Hydrodynamics*. 2a ed. Nova York: J. Wiley.

Tanford, C. (1961): *Physical Chemistry of Macromolecules*. Nova York: J. Wiley.

Treybal, R. E. (1981): *Mass-Transfer Operations*. 3a ed. McGraw-Hill.

Capitol 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

Kühni. *Solvent Extraction*. Suïssa: Allschwil. [Fullet comercial]

Rauber, J. (2004): *Design Practice for Packed Liquid-Liquid Extraction Columns*. Suïssa: Winterthur. [Publicació de 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. Series*, n. 100, vol. 66.

Sulzer. *Liquid-Liquid Extraction with Structured Packings*. Suïssa: Winterthur. [Fullet comercial]

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. Nova York: McGraw Hill.

Capitol 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*. Nova York: Marcel Dekker.

Levenspiel, O. (1975): *Ingeniería de las reacciones químicas*. Barcelona: Reverté.

McCabe, W. L.; Smith, J. C.; Harriott, P. (1993): *Unit Operations of Chemical Engineering*. 5a ed. Nova York: McGraw-Hill.

Perry-Green (1980): *Chemical Engineers' Handbook, Part 16*. 7a ed. Nova York: McGraw-Hill.

Recasens, F., McCoy, B., Smith, J.M., (1989): *Desorption processes: Supercritical Regeneration of Activated Carbon,* AIChE Journal, 35, 951-958: Nova York: AIChE

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 (1993), 265-287:Elsevier

Smith, J. M. (1981): *Chemical Engineering Kinetics*. 3a ed. McGraw-Hill.

Tomida, T., McCoy, B.J.,(1982): *Polynomial Profile Approximation for Intraparticle Diffusion*, AIChE Journal, 33, 1908-1911, Nova York: AIChE

Capitol 9

Blanch, H. W.; Clark, D. S. (1997): *Biochemical Engineering*. Nova 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. Nova 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, p. 551-557.

Moduline™ 2. Biochromatography Production Columns, Data Sheet, 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), p. 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. Nova York: Wiley-Interscience.

Storti, G.; Santacesaria, E.; Morbidelli, M.; Carrà, S. (1985): "Separation of Xylenes on Zeolites in the Vapor Phase". *Industrial & Engineering Chemistry. Product Research Development*, 24, p. 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, p. 363-367.

Capitol 10

Belter, P.A., Cussler, E.L., Hu, W.-S. (1988):*Bioseparations,* Nova 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 de España

Ghosh, R., (2006):*Principles of Bioseparation Engineering*, Nova Jersey: World Scientific

Katoh, S., Yoshida, F., (2009*): Biochemical Engineering,* Weinheim: VCH-Wiley

McCabe,W.L., Smith,J.C., Harriott, P. (1993): *Unit Operations of Chemical Engineering,* 5º ed., Nova York: McGraw-Hill

Millipore (1999) Technical Note: *Ultrafiltration Disk Membranes For Stirred Cells Micropartition Systems,* Millipore Technical Services, Billerica, MA:Millipore Corp.

Millipore (2003) Technical Brief: *Protein Concentration and Diafiltration by Tangential Flow Filtration*, Billerica, MA: Millipore Corp.

Osmonics,(1993): *Cross Flow Membrane Filtration,* Minnetonka (MN, USA): Osmonics, Inc.

Ottens, M., Wesselingh, J.A., van der Wielen, L.A.M., in Ratledge,C., Kristiansen, B.: *Basic Biotechnology*: 3a ed., Cambridge: CUP

Richardson J.F., Harker, J.H., Backhurst, J.R.(2002): *Coulson & Richardson´s Chemical Engineering* Volum 2, 5a ed., Oxford: Butterworth-Heineman

van den Berg, G.B., Rácz I.G., Smolders, C.A., (1989): *Mass transfer coefficients in cross-flow ultrafiltration,* J. Memb. Scie., 47 (1-2), pp 25-51, Amsterdam: Elsevier

Wesselingh, J. A., Krijgsman, J. (2013): *Downstream Processing in Biotechnology,* Delft: DAP

Capitol 11

Belter, P. A.; Cussler, E. L.; Hu, W. S. (1988): *Bioseparations*. Nova York: J. Wiley.

Dickey, D. S. "Liquid Agitation". A: Chopey, N. *Handbook of Chemical Engineering Calculations*. Cap. 12. 2a ed. Nova 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", *Chemical Engineering*, 24 de maig. Nova 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. Nova York: McGraw-Hill.

McCabe, W. L.; Smith, J. C.; Harriott, P. (1993): *Unit Operations of Chemical Engineering*. 5a ed. Nova York: McGraw-Hill.

Mullin, J. W. (2002): "Crystallization and Precipitation", *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. 7a ed. Weinheim: J. Wiley-VCH.

Perry, R. H.; Green, D. W. *Chemical Engineers' Handbook.* 7a ed. Nova 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. Nova York: J. Wiley.

Capitol 12

Belter, P. A.; Cussler, E. L.; Hu, W. S. (1988): *Bioseparations*. Nova 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 la reacciones 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. Nova York: McGraw-Hill.

Treybal, R. E. (1981): *Mass Transfer Operations*. 3a ed. Nova York: McGraw-Hill.