

# TRANSFERÊNCIA DE OXIGÊNIO EM BIORREATOR AIRLIFT PRESSURIZADO

G. CAMPANI<sup>1</sup>, A. C. L. HORTA<sup>1</sup>, M. P. A. RIBEIRO<sup>1</sup>, R. C. GIORDANO<sup>1</sup>, A. C. BADINO<sup>1</sup>, T. C. ZANGIROLAMI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos  
E-mail para contato: gilson.campani@yahoo.com

**RESUMO** – O biorreator airlift apresenta vantagens frente aos reatores convencionais (tanque agitado e aerado), como menor complexidade de construção, baixo risco de contaminação e maior eficiência energética na transferência de oxigênio. Entretanto, a menor transferência de oxigênio no airlift, em relação à alcançada em reator convencional, justifica a pressurização do tanque a fim de maximizar esse transporte de massa. Neste âmbito, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da pressão sobre a retenção gasosa ( $\epsilon$ ) e o coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ( $k_L a$ ) em biorreator airlift. Os experimentos foram conduzidos em airlift de cilindros concêntricos de 5 L operado com água e meio de cultura complexo. Mostrou-se que uma pressão de até 4 bar não afeta  $\epsilon$  nem  $k_L a$ . A compreensão do efeito da pressão do sistema sobre a transferência de oxigênio no biorreator airlift contribui grandemente para a área de desenvolvimento de reatores não convencionais.

## 1. INTRODUÇÃO

Dentre os diversos reatores utilizados em bioprocessos, o biorreator pneumático airlift é um exemplo de reator não convencional que apresenta características instrumentais e de operação bastante interessantes. Basicamente, esse reator é composto por duas regiões interligadas no topo e na base do equipamento: a região de subida, onde o gás é aspergido, e a região de descida, que canaliza o meio reacional de volta para a base do reator. Com isso, há a mistura e a circulação do meio reacional dentro do biorreator. De forma geral, a menor complexidade de construção, o menor risco de contaminação decorrente da inexistência do selo mecânico (presente no tanque mecanicamente agitado) e a eficiente dispersão gás-líquido realizada pelo próprio gás de entrada com baixo consumo de energia (Onken e Weiland, 1983) fazem do biorreator airlift uma alternativa interessante frente aos reatores convencionais (tipo tanque agitado e aerado).

A ausência de agitação mecânica no biorreator airlift acarreta em menor transferência de oxigênio. O transporte de massa da fase gasosa para a fase líquida, no entanto, pode ser elevado através da manipulação de variáveis não convencionais, tal como a sobrepressão do reator. Letzel et al. (1999) relataram um aumento de retenção gasosa ( $\epsilon$ ) e do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ( $k_L a$ ) decorrente da sobrepressão em biorreator tipo coluna de bolhas. O mesmo efeito foi também observado por Letzel e Stankiewicz (1999) para biorreator airlift de circulação externa.

De acordo com a teoria de instabilidade hidrodinâmica de Kelvin-Helmoltz, a elevação da pressão em um sistema gás-líquido desestabiliza as bolhas de gás com maiores diâmetros (1,5 –

5,0 cm), diminuindo o seu tamanho médio (Kitscha e Kocamustafaogullari, 1989; Wilkinson e Dierendonck, 1990). Com isso, há um aumento da área interfacial gás-líquido específica de transferência de massa e uma diminuição na velocidade terminal de ascensão das bolhas de gás na coluna de líquido (Talaia, 2008), ambos afetando positivamente  $\epsilon$  e  $k_L a$ .

Embora a influência da pressão sobre a hidrodinâmica e a transferência de massa esteja bem estabelecida para os reatores coluna de bolhas e airlift de circulação externa, inexistem estudos na literatura envolvendo o biorreator airlift de circulação interna. Portanto, nesse contexto, este trabalho objetivou investigar a influência da pressão do sistema sobre  $\epsilon$ ,  $k_L a$  e sobre a transferência de oxigênio em biorreator airlift de cilindros concêntricos em escala de bancada (5 L).

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. Fluidos

Para a realização dos experimentos no biorreator airlift, foram empregadas as seguintes fases líquidas: água destilada e meio de cultura de autoindução (Studier, 2005).

A composição do meio de cultura é: glicose (10 g/L), glicerol (60 g/L), lactose (20 g/L), phytone (10 g/L), extrato de levedura (5 g/L),  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (9 g/L),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (3,4 g/L),  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (2,7 g/L),  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (0,7 g/L), citrato de ferro (100,8 mg/L),  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (2,5 mg/L),  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (15 mg/L),  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (1,5 mg/L),  $\text{H}_3\text{BO}_3$  (3 mg/L),  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (2,1 mg/L),  $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COOH})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (33,8 mg/L), EDTA (14,1 mg/L),  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,5 g/L), tiamina (45 mg/L), canamicina (100 mg/L), polipropileno glicol (0,03% v/v) e pH de 6,7. A água destilada e o meio de cultivo são fluidos newtonianos, com viscosidades dinâmicas de  $0,8 \cdot 10^{-3}$  Pa.s e  $1,2 \cdot 10^{-3}$  Pa.s, respectivamente, a 30°C. A viscosidade do meio de cultura foi aferida através de reômetro digital de cilindros concêntricos (Brookfield Engineering Laboratories, model LV-DVIII+).

O gás aspergido no reator foi composto por misturas de nitrogênio e ar em proporções nas quais a pressão parcial de oxigênio se limitasse a 0,21 bar, mesmo nas condições de pressurização do biorreator. Isso foi necessário uma vez que o sensor amperométrico de oxigênio dissolvido não é capaz de aferir concentrações de oxigênio dissolvido superiores à de saturação com ar à pressão atmosférica (aproximadamente 7 mg/L).

### 2.2. Equipamento

Os experimentos foram conduzidos em biorreator pneumático airlift de cilindros concêntricos com 5 L de volume útil. O reator foi adaptado do projeto originalmente desenvolvido por Badino *et al.* (2004), substituindo o tubo superior por um confeccionado em aço inox (316L) contendo uma janela em vidro para observação do interior do equipamento. O aparato experimental contou com controle automático de pressão e temperatura desenvolvido em LabVIEW (National Instruments®, versão 8). A válvula atuadora (SMC, modelo VY1100) e o sensor de pressão (SMC, modelo ISE30A-01-F) foram instalados na linha de saída de gás. Os dados online foram adquiridos por meio de conversor A/D e D/A, compact FieldPoint (National Instruments, modelo cFP2020). A concentração de oxigênio dissolvido foi determinada através de sensor amperométrico (Mettler Toledo, modelo InPro 6830) munido com membrana de silicone (modelo S96). Um esquema do equipamento é representado na Figura 1.

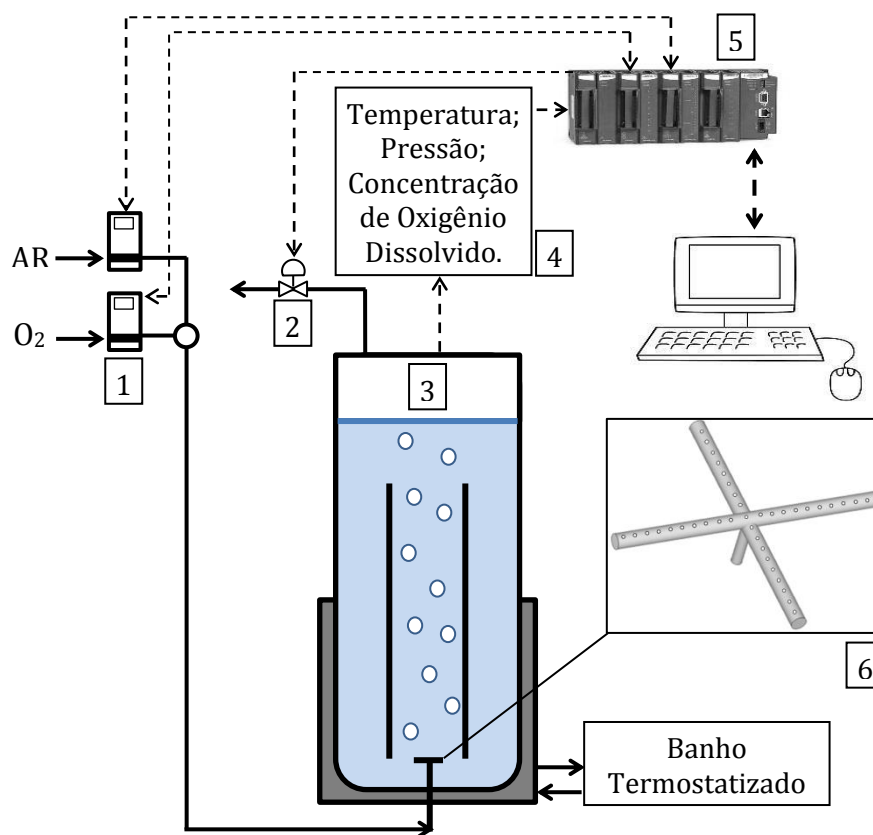


Figura 1 - Aparato experimental utilizado. (1) fluxômetros mássicos de gás (AALBORG®, modelo GFC); (2) válvula atuadora da linha de saída de gás; (3) biorreator airlift; (4) sensores de temperatura, concentração de oxigênio dissolvido e pressão; (5) compact FieldPoint; (6) aspersor de gás tipo “cruzeta”.

### 2.3. Medidas da Retenção Gasosa e do Coeficiente Volumétrico de Transferência de Oxigênio

A retenção gasosa global ( $\epsilon$ ) foi determinada pelo método de expansão volumétrica (Chisti, 1989), onde as alturas do líquido aerado ( $h_D$ ) e não aerado ( $h_L$ ) dentro do biorreator foram medidas. A partir desses valores, determinou-se  $\epsilon$  através da Equação 1.

$$\epsilon = \frac{h_D - h_L}{h_D} \quad (1)$$

O coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ( $k_L a$ ) foi avaliado pelo método dinâmico por degrau de pressão (Linek *et al.*, 1989). Nesse método, a pressão do sistema foi subitamente elevada em aproximadamente 15%. Com isso, a concentração de saturação de oxigênio dissolvido foi aumentada de um valor inicial ( $C_{e0}$ ) para outro aproximadamente 15% superior ( $C_{es}$ ). Através de regressão não linear pelo método dos mínimos quadrados (Marquardt, 1963), o valor de  $k_L a$  foi obtido ajustando o modelo matemático (Equação 2) aos dados da concentração de oxigênio dissolvido medidos pelo sensor ( $C_e$ ) em função do tempo após o aumento abrupto da pressão. A Equação 2 é proveniente do balanço de massa de oxigênio e no modelo de primeira ordem para a resposta do sensor de oxigênio dissolvido.

$$C_e = C_{e0} \cdot e^{-k_e \cdot (t-t_0)} + C_{es} \cdot (1 - e^{-k_e \cdot (t-t_0)}) + \frac{k_e \cdot (C_{es} - C_{e0})}{k_e - k_{La}} \cdot (e^{-k_e \cdot (t-t_0)} - e^{-k_{La} \cdot (t-t_0)}) \quad (2)$$

onde  $C_e = C_{e0}$  no instante inicial ( $t = t_0$ ) e  $k_e$  é a constante de atraso do sensor estimada juntamente com o  $k_{La}$  pelo método dos mínimos quadrados (Marquardt, 1963).

Para os experimentos conduzidos às pressões de 2, 3 e 4 bar, a vazão volumétrica de gás foi mantida constante dentro do reator através da elevação da vazão mássica do gás de acordo com a lei dos gases ideais (Equação 3).

$$Q = \frac{\dot{m}}{P} \cdot \frac{R \cdot T}{MM} \quad (3)$$

onde  $P$  é a pressão absoluta,  $Q$  a vazão volumétrica de gás,  $\dot{m}$  a vazão mássica de gás,  $T$  a temperatura absoluta,  $MM$  a massa molar do gás e  $R$  a constante universal dos gases ideais.

Finalmente, para avaliar estatisticamente a influência da pressão sobre o  $k_{La}$ , ajustou-se uma correlação empírica generalizada, representada na Equação 4, aos dados experimentais obtidos para as diferentes condições de  $P$  e  $Q$  empregadas.

$$k_{La} = b \cdot Q^c \cdot P^d \quad (4)$$

onde  $b$ ,  $c$  e  $d$  são constantes estimadas através de regressão não linear por mínimos quadrados (Marquardt, 1963). As constantes são adimensionais, exceto  $b$  [ $s^{c-1} m^{-3c} Pa^{-d}$ ].

## 2.4. Estimativa da Velocidade de Transferência de Oxigênio

De acordo com teoria das duas películas estagnadas, a velocidade volumétrica de transferência de oxigênio ( $N_{O_2}$ ) da fase gasosa para a líquida pode ser descrita como o produto de uma força motriz ( $C^* - C$ ) pelo  $k_{La}$  (Equação 5) (Garcia-Ochoa e Gomez, 2009).

$$N_{O_2} = k_{La} \cdot (C^* - C) = k_{La} \cdot \left[ \left( \frac{y_{O_2}}{H_{O_2/líquido}} \cdot P \right) - C \right] \quad (5)$$

onde  $C^*$  é a concentração de oxigênio na fase líquida em equilíbrio com a sua pressão parcial na fase gasosa,  $C$  a concentração de oxigênio no seio do líquido,  $H_{O_2/líquido}$  a constante da Lei de Henry para o sistema oxigênio-líquido,  $y_{O_2}$  a fração molar de oxigênio no gás da linha de entrada e  $P$  a pressão absoluta do gás.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir das Equações 1 e 2, foram estimados os valores de  $\epsilon$  e de  $k_{La}$  utilizando os dados experimentais obtidos para vazões específicas de gás no biorreator airlift de 2, 3 e 4 vvm (V/V.min) e de pressão interna de 1, 2 e 3 bar. Para a pressão de 4 bar, as vazões específicas empregadas foram de 2 e 3 vvm. Não foi possível obter os valores de  $\epsilon$  e de  $k_{La}$  para a vazão de gás de 4 vvm e pressão de 4 bar, uma vez que seria necessário empregar uma vazão mássica superior ao limite de operação dos fluxômetros disponíveis.

Os resultados obtidos para  $k_{La}$  e  $\epsilon$ , empregando água e meio de cultivo de autoindução, são apresentados nas Figuras 2 e 3, respectivamente. Os dados de  $k_{La}$  foram então

correlacionados com a vazão volumétrica de gás (Q) e com a pressão absoluta interna do biorreator (P), de acordo com a Equação 4. As correlações obtidas para  $k_La$  em função de P e Q para o biorreator airlift operado com água e com meio de cultivo são representadas nas Equações 6 e 7, respectivamente.

$$k_La = 105. Q^{(0,98 \pm 0,09)}. P^{(0,04 \pm 0,04)} \quad (R^2 = 0,93) \quad (6)$$

$$k_La = 338. Q^{(0,9 \pm 0,1)}. P^{(-0,15 \pm 0,06)} \quad (R^2 = 0,89) \quad (7)$$

onde as unidades são:  $k_La$  [ $s^{-1}$ ], P [Pa] e Q [ $m^3/s$ ].

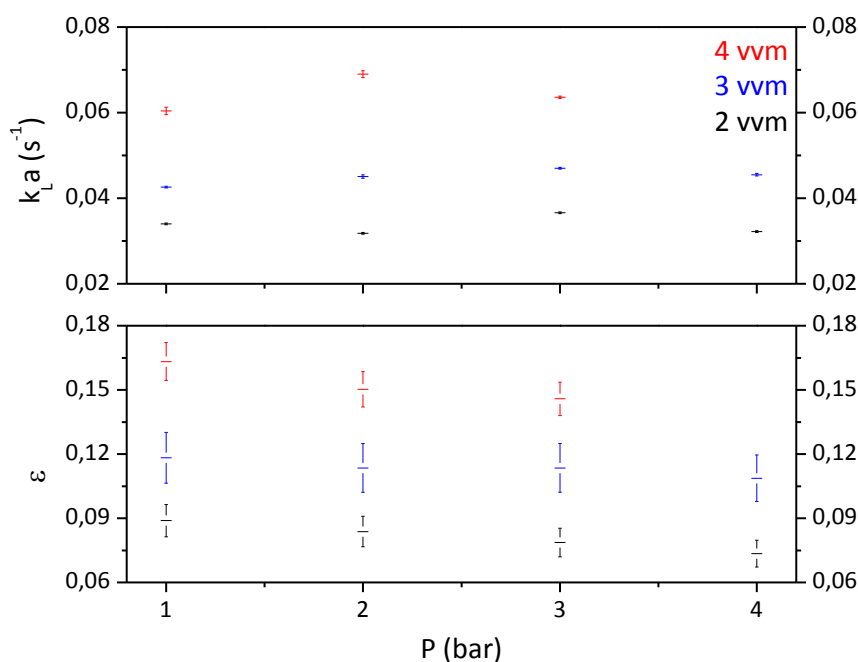


Figura 2 - Medidas em triplicata de  $k_La$  e  $\epsilon$  em função de P e Q em biorreator *airlift* (5 L) operado com água destilada. As barras de desvio se referem ao desvio padrão das medidas de  $\epsilon$  e ao erro padrão das estimativas de  $k_La$ .

Analisando as correlações obtidas (Equações 6 e 7), o valor da constante “c” indica que o aumento da vazão de gás atua positivamente no  $k_La$ , devido ao aumento de  $\epsilon$ , conforme já relatado em estudo realizado por Cerri (2009). Já o valor pouco significativo da constante “d”, mostra que a pressão interna do biorreator airlift praticamente não afeta o  $k_La$ . Na Equação 6 (airlift operado com água), o expoente de P é estatisticamente insignificante, uma vez que o seu valor médio é igual ao seu respectivo erro padrão, indicando a irrelevância do efeito da pressão sobre o  $k_La$ . Quanto à Equação 7 (airlift operado com meio de cultivo), pode-se afirmar, com base na distribuição estatística de Student, que, com 97% de confiança, a média do expoente de P está contida no intervalo [-0,01; 0,31]. Logo, como esse intervalo contém o valor nulo, se constata novamente a insignificância estatística do expoente de P e, consequentemente, da influência da pressão sobre o  $k_La$ . Os menores valores de  $k_La$  e  $\epsilon$  obtidos para o meio de cultivo, em comparação aos determinados em água, devem-se à

presença de polipropileno glicol no meio de cultivo, que aumenta a tensão interfacial gás-líquido e, conseqüentemente, a coalescência das bolhas de gás.

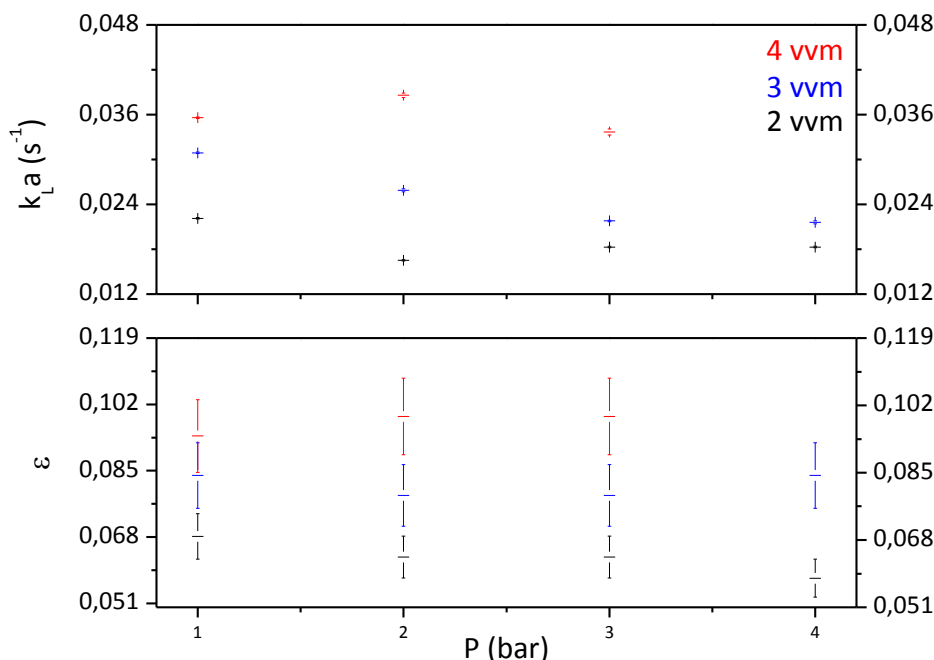


Figura 3 - Medidas em triplicata de  $k_{La}$  e  $\varepsilon$  em função de P e Q em biorreator *airlift* (5 L) operado com meio de cultivo. As barras de desvio se referem ao desvio padrão das medidas de  $\varepsilon$  e ao erro padrão das estimativas de  $k_{La}$ .

O fato dos parâmetros  $\varepsilon$  e  $k_{La}$  não serem afetados pela sobrepressão no biorreator *airlift* de cilindros concêntricos contraria os resultados obtidos em reator tipo coluna de bolhas (Letzel et al., 1999) e em *airlift* de circulação externa (Letzel e Stankiewics, 1999), onde  $\varepsilon$  e  $k_{La}$  aumentaram com a elevação da pressão interna do biorreator.

A elevação da densidade do gás decorrente da pressurização intensifica a fragmentação das bolhas com maiores diâmetros, o que aumenta  $\varepsilon$  e  $k_{La}$ . Entretanto, esse efeito é considerável apenas para sistemas com maiores velocidades relativas entre as fases gasosa e líquida (Wilkinson e Dierendonck, 1990), como as alcançadas, por exemplo, em reatores tipo coluna de bolhas, próximas de 1,3 m/s (Letzel et al., 1999). Isso fica evidenciado no trabalho de Letzel e Stankiewics (1999), no qual é relatado um menor aumento de  $\varepsilon$  e  $k_{La}$  com a sobrepressão em *airlift* de circulação externa, onde a velocidade relativa interfacial gás-líquido ( $U_r$ ) é menor (da ordem de 0,4 m/s), em relação ao aumento observado em reator tipo coluna de bolhas. Logo, possivelmente, devido ao baixo  $U_r$  alcançado no biorreator *airlift* de circulação interna (por volta de 0,17 m/s), o efeito da sobrepressão sobre a redução do diâmetro médio das bolhas e, conseqüentemente, sobre  $\varepsilon$  e  $k_{La}$  é desprezível nesse reator. A estimativa de  $U_r$  para o biorreator *airlift* de circulação interna foi feita através da Equação 8 (Jones, 1985) utilizando os seguintes dados para o reator *airlift* de 5 L operado com água: velocidade superficial do gás na região de subida ( $U_{Gs}$ ) de 0,079 m/s ( $Q = 20$  L/min),  $\varepsilon = 0,16$  e velocidade média de circulação do líquido ( $U_L$ ) de 0,27 m/s, obtida por Cerri (2009) para semelhante condição de operação no mesmo reator. Utilizando ainda a Equação 8, os valores

de  $U_r$  apresentados para o reator tipo coluna de bolhas e para o reator airlift de circulação externa foram estimados com base nos dados de  $U_{GS}$ ,  $U_L$  e  $\varepsilon$  apresentados por Letzel *et al.* (1999) e Letzel e Stankiewics (1999), respectivamente.

$$U_r = \frac{U_{GS}}{\varepsilon} - U_L \quad (8)$$

Entretanto, mesmo os parâmetros  $\varepsilon$  e  $k_{LA}$  sendo insensíveis à pressão, a mesma pode elevar proporcionalmente  $N_{O_2}$ , como se verifica através da Figura 4, construída a partir da Equação 5 assumindo  $C$  igual a  $0,071 \text{ mol/m}^3$  (30% da saturação em água pura à pressão atmosférica e  $30^\circ\text{C}$ ). Para a realização dessa estimativa, foram utilizados valores de  $k_{LA}$  obtidos no biorreator airlift operado com água destilada e vazão volumétrica de ar de 3 vvm (Figura 3).

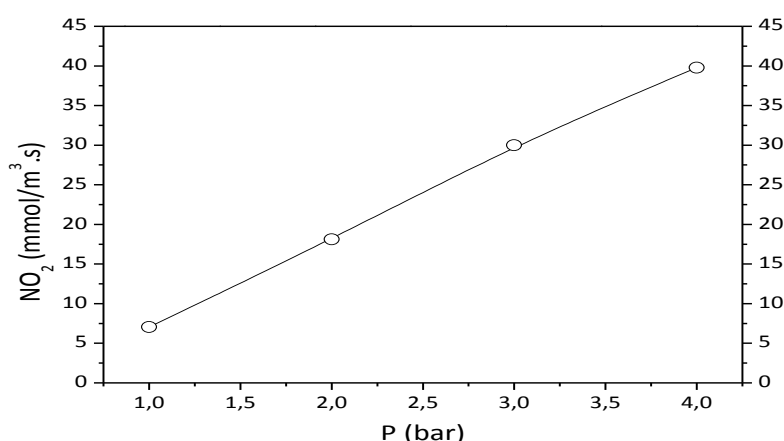


Figura 4 –  $N_{O_2}$  predito em função da pressão absoluta (P) em biorreator airlift operado com água destilada e vazão volumétrica de ar de 3 vvm.

## 4. CONCLUSÕES

A caracterização da transferência de oxigênio em biorreator airlift de cilindros concêntricos mostrou que  $\varepsilon$  e  $k_{LA}$  praticamente não são afetados pela pressão (de até 4 bar), independentemente do fluido empregado (água destilada ou meio de cultivo acrescido de antiespumante, com maior tensão interfacial gás-líquido), contrariando os resultados relatados na literatura para reator pneumático tipo coluna de bolhas e airlift de circulação externa, onde  $\varepsilon$  e  $k_{LA}$  aumentam com a pressão. Com base na teoria de instabilidade hidrodinâmica de Kelvin-Helmoltz e nos resultados adquiridos através do presente trabalho, confirmou-se que  $U_r$  tem papel fundamental nesse fenômeno (quanto menor  $U_r$  menos relevante é o efeito da pressão sobre  $\varepsilon$  e  $k_{LA}$  em reatores pneumáticos). Entretanto, constatou-se a partir do modelo que descreve a transferência de oxigênio no sistema que a pressão afeta positivamente  $N_{O_2}$ , mesmo com a invariância de  $\varepsilon$  e  $k_{LA}$  devido à pressurização.

Finalmente, convém destacar que a compreensão do efeito da pressão do sistema sobre o transporte de oxigênio é essencial no desenvolvimento de reatores convencionais e não convencionais com maiores capacidades de transferência de oxigênio.



## 5. AGRADECIMENTOS

Beneficiário de auxílio financeiro da CAPES (Brasil) e da FAPESP (Brasil).

## 6. REFERÊNCIAS

- BADINO, A. C.; HOKKA, C. O.; CERRI, M. O. Biorreator pneumático de circulação interna e uso do mesmo. BR n. PI 0404703-6, 2004.
- CERRI, M. O. Hidrodinâmica e transferência de oxigênio em três biorreatores airlift de circulação interna geometricamente semelhantes. 2009. 157 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2009.
- CHISTI, M. Y. *Airlift bioreactors*. 1. ed. New York: Elsevier Applied Science, 1989. 345 p.
- GARCIA-OCCHOA, F.; GOMEZ, E. Bioreactor scale-up and oxygen transfer rate in microbial process: an overview. *Biotechnology Advances*, v. 27, p. 153-176, 2009.
- JONES, A. G. Liquid circulation in a draft-tube bubble-column. *Chemical Engineering Science*, v. 40, n. 3, p. 449-462, 1985.
- KITSCHA, J.; KOCAMUSTAFAOGULLARI, G. Breakup criteria for fluid particles. *International Journal of Multiphase Flow*, v. 15, n. 4, p. 573-588, 1989.
- LETZEL, H. M.; SCHOUTEN, J. C.; KRISHNA, R.; VAN DEN BLEEK, C. M. Gas holdup and mass transfer in bubble column reactors operated at elevated pressure. *Chemical Engineering Science*, v. 54, p. 2237-2246, 1999.
- LETZEL, M.; STANKIEWICZ, A. Gas hold-up and mass transfer in gas-lift reactors operated at elevated pressure. *Chemical Engineering Science*, v. 54, p. 5153-5157, 1999.
- LINEK, V.; BENES, P.; VACEK, V. Dynamic pressure method for kLa measurement in large-scale bioreactors. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 33, p. 1406-1412, 1989.
- MARQUARDT, D. W. An algorithm for least-squares estimation of nonlinear parameters. *Journal of the Society for Industrial and Applied Mathematics*, v. 11, n. 2, p. 431-441, 1963.
- ONKEN, U.; WEILAND, P. Airlift fermenters: construction, behavior and uses. *Advanced Biotechnology Processes*, p. 67-95, 1983.
- STUDIER, F.W. Protein production by auto-induction in high-density shaking culture. *Protein Expression and Purification*, v.41, p. 313-322, 2005.
- TALAIA, M. A. R. Terminal velocity of a bubble rise in a liquid column. *World Academy of Science Engineering and Technology*, v. 22, p. 264-268, 2008.
- WILKINSON, P. M.; DIERENDONCK, L. L. V. Pressure and gas density effects on bubble break-up and gas hold-up in bubble columns. *Chemical Engineering Science*, v. 45, n. 8, p. 2309-2315, 1990.