

6. CONCLUSIONES

6.1. TRANSFERENCIA DE MATERIA GAS LÍQUIDO

1) En reactores tipo **tanque agitado**, el coeficiente volumétrico de transferencia de materia, K_{La} , aumenta conforme se incrementa el caudal de aire suministrado, tanto en agua como en líquidos orgánicos. Cuando el medio líquido es dodecano, el K_{La} es superior al obtenido con agua, debido a la menor tensión superficial del dodecano, y al mayor coeficiente de difusividad de oxígeno en este líquido.

2) En sistemas trifásicos gas-líquido-líquido, donde ambos líquidos son inmiscibles y el sistema se encuentra en condiciones de emulsión, el K_{La} es inferior al obtenido en los sistemas bifásicos gas-líquido.

La velocidad de agitación afecta positivamente sobre el K_{La} hasta que se alcanza un valor, cercano a las 800 rpm, a partir del cual se estabiliza e incluso disminuye.

3) Manteniendo constantes la FFO y el caudal de aire suministrado al reactor, el incremento de la velocidad de agitación implica el aumento del K_{La} . Además, la influencia de la velocidad de agitación es muy superior a la del caudal de aire, en las condiciones ensayadas, y especialmente para valores bajos de FFO.

4) La simulación del K_{La} en reactores tipo tanque agitado con el modelo semiteórico planteado por Gomez, 1995, estima valores de K_{La} muy superiores a los observados experimentalmente, debido a que no considera las pérdidas de energía debidas a la fricción entre las gotas de agua y el solvente orgánico.

5) En **columnas de burbujeo con recirculación interna**, (AIR-LIFT), el incremento de la FFO supone también el descenso de los valores de K_{La} obtenidos, cambiando la tendencia a partir de 70% v/v de FFO.

6. CONCLUSIONES

6) La simulación del K_{La} en reactores tipo air-lift es correcta para los líquidos puros y las FFO de 10 y 85% v/v, siendo los valores de K_{La} estimados superiores a los observados experimentales para el rango intermedio de FFO. El modelo teórico planteado, basado en el modelo fluidodinámico de García Calvo, 1989, no considera la existencia de pérdidas de energía por la fricción entre las gotas de agua y dodecano, tal y como ocurre en sistemas trifásicos gas-líquido-sólido. Utilizando un modelo trifásico, y considerando variación tanto en el diámetro medio de las burbujas como en la velocidad de escape de las mismas, se ha conseguido simular satisfactoriamente los datos experimentales obtenidos.

6.2. CRECIMIENTO Y BIODESULFURACIÓN (BDS) CON CÉLULAS EN CRECIMIENTO

7) Tanto en el caso de *Pseudomonas putida* CECT5279 como en el de *Rhodococcus erythropolis* IGTS8, en medios acuosos de crecimiento, el uso de una fuente de azufre no selectiva como el $MgSO_4$ o el DMSO, respectivamente, implica una multiplicación de la biomasa mucho más elevada que en el caso de utilizar DBT.

Con $MgSO_4$ como única fuente de azufre, se alcanzan densidades celulares de *Pseudomonas putida* CECT5279 1.4 veces superiores a las observadas empleando DBT. En crecimientos bifásicos con $MgSO_4$ y FFO entre 10-50 % v/v, se ha observado que los valores de densidad óptica final son 2 veces a los alcanzados en las mismas condiciones con DBT.

8) Empleando el modelo logístico de crecimiento se ha observado que la FFO no afecta a la μ_{max} de *Pseudomonas putida* CECT5279 hasta que no se emplean relaciones fase acuosa-orgánica de valor igual 1. En ese caso la μ_{max} disminuye, si bien, no se ha observado un descenso de la concentración de biomasa máxima alcanzada (C_{Xmax}).

9) En crecimientos bifásicos de *Pseudomonas putida* CECT5279, con una proporción de fases 1:1 y DBT como fuente única de azufre, la influencia de la concentración inicial de inóculo, para un rango de concentraciones de biomasa

entre 0.1 y 0.4 g/L, no implica variaciones significativas sobre los valores de μ_{\max} , calculados con el modelo logístico de crecimiento, mientras que si supone un incremento de los valores de $C_{X_{\max}}$ alcanzados.

10) Cuando se emplea en medios acuosos de crecimiento D-glucosa y DBT como fuentes de carbono y de azufre, respectivamente, *Pseudomonas putida* CECT5279 no incrementa su densidad celular, a pesar de que si expresa la ruta de desulfuración 4S. En cambio, *Rhodococcus erythropolis* IGTS8 muestra un mayor incremento celular que en el caso de emplear ácido L-Glutámico. Empleando DBT disuelto en etanol se obtienen porcentajes de desulfuración significativamente mayores que empleando 2-Propanol.

11) En procesos de BDS bifásicos con *Pseudomonas putida* CECT5279, la concentración de DBT afecta positivamente a la velocidad específica de crecimiento, pero aún más a la concentración de biomasa final obtenida. Las velocidades de producción específica de HBP son también mayores, manteniéndose más o menos constante el porcentaje de desulfuración, en un rango entre 200 y 3200 ppm de DBT.

12) Empleando glicerol como fuente de carbono principal en el proceso de BDS con células en crecimiento de *Rhodococcus erythropolis* IGTS8, añadir succinato de sodio incrementa significativamente el porcentaje de desulfuración obtenido y la velocidad específica de producción de HBP.

13) Introduciendo en el proceso bifásico de BDS con *Rhodococcus erythropolis* IGTS8 15ppm de β -ciclodextrina se incrementan los porcentajes de desulfuración, con respecto al mismo sistema en ausencia de ciclodextrina. Por otro lado, aumentando la concentración de biocatalizador, lo que implica la saturación de la interfase, la velocidad de producción de HBP se mantiene estable, por lo que se puede concluir que la ciclodextrina no incrementa la transferencia de DBT a la fase acuosa, ni evita completamente que existan efectos de inhibición por producto.

6. CONCLUSIONES

14) El proceso bifásico de BDS a escala de fermentador tipo tanque agitado con *Pseudomonas putida* CECT5279 muestra un comportamiento muy similar al observado en erlenmeyer, en términos de crecimiento, no afectando la FFO, al menos hasta porcentajes del 50% v/v de hexadecano. Anallizando de manera aislada la influencia de la FFO sobre el proceso de BDS se concluye que no afecta a la actividad desulfurante.

15) Desarrollando la BDS con la cepa de *P. putida* CECT5279 es mejor emplear ácido L-Glutámico que D-glucosa, tanto en términos de crecimiento como de rendimiento en la desulfuración de DBT, sin embargo, las diferencias entre ambas fuentes de carbono son significativamente menores que lo observado en erlenmeyer.

16) En tanque agitado y medio bifásico, *Rhodococcus erythropolis* IGTS8 resulta un biocatalizador más eficaz que *P. putida* CECT5279, tanto en términos de crecimiento como de rendimientos de desulfuración.

17) El proceso de BDS en medios bifásicos con células en crecimiento se ve afectado por inhibición por sustrato, tanto del crecimiento como de la desulfuración, describiéndose correctamente con el modelo cinético de Haldane. Además, las μ_{\max} obtenidas aplicando el modelo logístico de crecimiento y el de Haldane son muy similares.

6.3. BIODESULFURACIÓN (BDS) CON CÉLULAS EN RESTING CELL

18) Generalmente, el aumento de fracción de fase orgánica implica un descenso progresivo de los porcentajes de desulfuración de DBT obtenidos. La adición de etanol aumenta la solubilidad del DBT en la fase acuosa, lo que afecta sensiblemente a los porcentajes de desulfuración alcanzados en medios bifásicos, especialmente en el caso de utilizar *P. putida* CECT5279, o elevadas densidades celulares de *R. erythropolis* IGST8.

19) Con *Rhodococcus erythropolis* IGTS8, el incremento en la concentración de DBT supone un descenso de los porcentajes de desulfuración obtenidos, tanto en

medios acuosos como bifásicos. En cambio, en medios bifásicos con *Pseudomonas putida* CECT5279, la tendencia es la contraria. Por tanto, la transferencia de materia afecta más significativamente a la cepa de *P. putida* CECT5279.

20) Combinando los efectos de la fracción de fase orgánica, la concentración de sustrato y la densidad celular se puede concluir que las limitaciones de transferencia de materia son las responsables de los rendimientos alcanzados en el proceso de BDS cuando se utilizan bajas fracciones de fase orgánica y concentraciones de sustrato, pero elevadas concentraciones de biocatalizador.

21) Con *Pseudomonas putida* CECT5279 no se ha observado inhibición por producto, ni siquiera con 40 y 217 μ M de HBP, en condiciones acuosas y bifásicas, respectivamente. Con *Rhodococcus erythropolis* IGTS8, en medios acuosos de desulfuración con células en estado de resting, los efectos de inhibición debidos a la acumulación de producto se observan desde las 15-20 μ M de HBP, y desde 220 μ M de HBP en medios bifásicos.

22) El modelo cinético que describe el comportamiento de la BDS con células de *Pseudomonas putida* CECT5279 en reposo sigue el modelo de Monod, observándose constantes muy diferentes en condiciones acuosas y bifásicas. Además de la evolución de la eliminación de DBT y producción de HBP, el modelo planteado describe satisfactoriamente la acumulación de un compuesto intermedio de la ruta 4S.

El modelo que describe el comportamiento desulfurante de *Rhodococcus erythropolis* IGTS8 en parada de crecimiento es un modelo típico de cinética enzimática con inhibición competitiva, donde el producto de la reacción, HBP, es el inhibidor. En este caso, la constante q_{Smax} utilizada es la misma en condiciones acuosas y bifásicas. El modelo planteado también predice correctamente la acumulación de un compuesto intermedio de la ruta 4S.