

Estudio de la distribución de los tiempos de residencia en un reactor tubular para la hidrólisis de lecitina de soja con fosfolipasa A₂ inmovilizada

Por B. Maroto* (1), C. Camusso (1) y N. Zaritzky (2)

(1) Facultad de Cs. Agropecuarias - Universidad Nacional de Córdoba - CC, 509 - 5000 Córdoba - R. Argentina - bmaroto@agro.uncor.edu

(2) Dpto. de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería y CIDCA - Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata 47 y 116 - 1900 - La Plata, Bs. As. Argentina

RESUMEN

Estudio de la distribución de los tiempos de residencia en un reactor tubular para la hidrólisis de lecitina de soja con fosfolipasa A₂ inmovilizada.

La hidrólisis de lecitina de soja puede ser efectuada mediante el uso de enzima fosfolipasa A₂ inmovilizada, liberando un ácido graso de la posición C-2 de los fosfolípidos para obtener un producto enriquecido en lisolecitinas.

La reacción enzimática sigue una cinética de primer orden cuando las concentraciones de sustrato están dentro del rango: $6,34 \cdot 10^{-3}$ y $19,0 \cdot 10^{-3}$ M. El valor de la constante de velocidad es: $k = 9,88 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ cuando la enzima está inmovilizada sobre alúmina.

Se construyó un reactor que permite la circulación del fluido a través del soporte. El soporte seleccionado fue alúmina en consideración a sus buenas propiedades mecánicas y a su bajo costo.

Fue analizado el comportamiento del flujo en el reactor, y cuanto este se aparta del modelo ideal de flujo en pistón, inyectando una solución de 1% NaCl (trazador) en forma de inyección por impulso. La medición de la conductividad de la solución efluente resultó adecuada para la determinación de los tiempos de residencia. El sistema mostró comportamiento lineal.

Se analizaron los tiempos de residencia en el reactor utilizando tres diferentes volúmenes de flujo para diferentes arreglos de soporte y material inerte.

Se calcularon las fracciones no convertidas en el reactor y se observaron las diferencias a la salida en comparación a las de un reactor de flujo en pistón, precisamente porque se generan canalizaciones y cortocircuitos en la columna. La conversión máxima resultó para las más altas concentraciones de sustrato y para el menor flujo de alimentación.

El módulo de dispersión resultó bastante mayor que el límite que introduce una curva gaussiana para el caso en el cual el grado de suposición de alta dispersión fue corregido. El reactor alcanzó un comportamiento similar al de un reactor de mezcla completa y se concluyó que son importantes el grado de retromezcla, la formación de remolinos y zonas de redistribución de material.

PALABRAS-CLAVE: Fosfolipasa A₂ - Reactor tubular - Tiempo de residencia.

SUMMARY

Study of residence times distribution in a tubular reactor for the hydrolysis of soybean lecithin using immobilized A₂ phospholipase.

The hydrolysis of soybean lecithin can be carried out by means of the use of immobilized A₂ phospholipase which releases a fatty

acid of C-2 position of the phospholipids so that an enriched product in lysolecithins is obtained.

The enzymatic reaction follows a first order kinetics when the substrate concentrations are in the range: $6,34 \cdot 10^{-3}$ M to $19,0 \cdot 10^{-3}$ M. The value of the rate constant: $k = 9,88 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ corresponds to the one obtained for the immobilized enzyme on alumina.

A reactor was constructed and alumina was the selected support because of its good mechanic properties and fundamentally because of its low cost.

The flow behaviour in the reactor and how it departs from the ideal model of plug-flow was analyzed by injecting a NaCl solution of a well-known concentration (tracer) and then, passing it through the reactor. According to the experiences carried out, the conductivity measures proved adequate for the determination of the residence times. The system showed lineal behaviour.

The residence times in the experimentally built reactor for different load arrangements (particle support + inert load) was analyzed by using three different flows.

The nonconverted fractions for the reactor were calculated and differences in the output were observed, in comparison to the plug-flow reactor, precisely because of channelizations and shut-offs that are generated inside the column. Maximal conversion in the experiences carried out both with higher substrate concentrations and for a minor feed flow were achieved.

The dispersion module resulted quite higher than the limit that introduces a gaussian curve, for the one for which the degree of supposition of high dispersion was correct. The reactor showed a behaviour similar to that of a reactor of complete mixture and it was concluded that the degree of back-mixing, the formation of whirls and zones of redistribution of material are important.

KEY-WORDS: A₂ phospholipase- Residence times - Tubular reactor.

1. INTRODUCCIÓN

Con los avances recientes en tecnología de bio-reactores e ingeniería genética, se han investigado muchas ideas nuevas e interesantes empleando biotecnología para producir oleoquímicos de grasas. Entre las rutas químicas más prometedoras de interés industrial está la hidrólisis, síntesis de ésteres y reacción de interesterificación de lípidos causados por lipasas (Segel, 1993; Creighton, 1984; Walsh, 1984).

La hidrólisis de lecitina de soja, una mezcla de fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina y fosfatidilinositol, puede llevarse a cabo mediante el uso de enzima Fosfolipasa A₂ liberando el ácido graso de la posición C-2 y se obtiene un producto enriquecido en li-

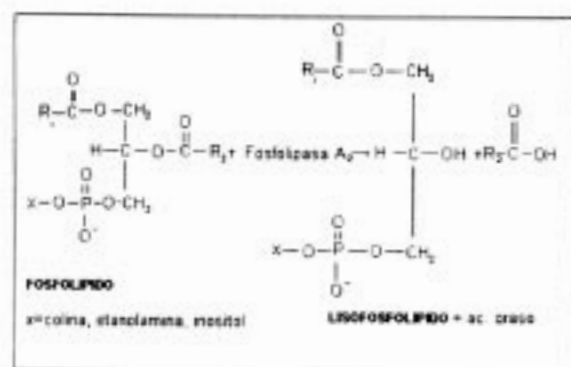


Figura 1
Reacción de hidrólisis de una lecitina catalizada por Fosfolipasa A₂.

solecitinas, con aplicaciones en la industria farmacéutica y de la panificación. La reacción que ocurre se muestra en Fig. 1.

Esta reacción enzimática puede efectuarse con enzima soluble o inmovilizada, presentando ésta última opción ventajas descritas en trabajos anteriores (Maroto *et al.*, 1999; Maroto y Camusso, 2000; Maroto *et al.* 2001).

Los reactores enzimáticos más avanzados están basados en las técnicas de inmovilización por adsorción iónica por ejemplo sobre Sephadex. Ellos fueron desarrollados, entre otros por Chibata y colaboradores (1976).

Los reactores más utilizados para este tipo de reacciones de hidrólisis o de esterificación en donde se emplean enzimas inmovilizadas son los reactores de lecho fijo y de lecho fluidizado (Patterson *et al.*, 1979; Bell *et al.*, 1981; Lavayre y Barath, 1982; Kimura *et al.*, 1983; Macrae, 1983, 1985; Brady *et al.*, 1986, 1987, 1988; Wisdom *et al.*, 1987; Omar *et al.*, 1988). Con reactores de lecho fijo debe tenerse en cuenta la posibilidad de que las partículas se deformen bajo su propio peso, y, con lechos fluidizados, cuando hay una diferencia pequeña de densidad entre las partículas y el fluido, se necesitan partículas grandes para conseguir flujos razonables (Atkinson, 1986).

Hay dos condicionamientos operacionales los cuales deben ser considerados cuando se opera con reactores de lecho empacado:

- I) limitaciones sobre velocidad de reacción por fenómenos de difusión intrapartícula; y
- II) caída de presión a través del reactor.

Las limitaciones difusionales pueden ser aliviadas si se utilizan partículas de soporte más pequeñas. Sin embargo, dan más altas caídas de presión. Si no se usan solventes, el efecto de la viscosidad puede ser minimizado sólo a expensas de tener que emplear temperaturas más altas, produciendo velo-

cidades de inactivación de enzima más rápidas. Consideraciones de índole económica requieren el compromiso entre todos estos efectos.

Si se conoce exactamente lo que sucede en el interior del reactor, es decir, si se dispone de una representación completa de la distribución de velocidades del fluido, se puede predecir el comportamiento del reactor. Aunque esta técnica sería magnífica, la complejidad que implica es tal que resulta impracticable (Bailey y Ollis, 1986).

En muchos casos sólo se necesita conocer cuanto tiempo permanece cada una de las moléculas en el recipiente o más exactamente la distribución de tiempos de residencia de la corriente del fluido. Esta información se determina por el método estímulo-respuesta.

El diseño de un reactor con flujo no ideal puede efectuarse, entonces, conociendo la distribución del tiempo de residencia del fluido y los coeficientes cinéticos obtenidos experimentalmente (Levenspiel, 1972).

El presente trabajo se enfocó a los siguientes objetivos:

1. Aplicar los estudios cinéticos realizados en el sistema lecitina de soja pura en polvo en forma soluble y fosfolipasa A₂ inmovilizada, al diseño de un sistema de reacción continuo.
2. Investigar la hidrodinámica de operación, que incluye estudios de empaquetado, de velocidad de fluido y evaluación de su efecto sobre la conversión de sustrato y la productividad del reactor.
3. Comparar los valores de conversión esperados según los datos obtenidos experimentalmente con el modelo de flujo en pistón y el modelo de dispersión.

2. PARTE EXPERIMENTAL

Para poder predecir el comportamiento del reactor y disponer de datos suficientes para el diseño, se realizó un estudio de la distribución del tiempo de residencia de los fluidos en un reactor tubular.

2.1. Materiales

Equipamiento

El sistema de reacción empleado estaba constituido por un reactor tubular continuo de una capacidad volumétrica de 90 cm³, de 20 mm de diámetro y 135 mm de largo, provisto de camisa de circulación de agua. Se utilizó una bomba peristáltica Technicon de velocidad constante para la circulación de fluido y un conductímetro digital HI 8733 HANNA Instruments a la salida del reactor (Fig. 2). A fin de investigar la distribución de tiempos de residencia, se estimuló este sistema mediante una perturbación: la inyección de un trazador en el fluido que entra al reactor.

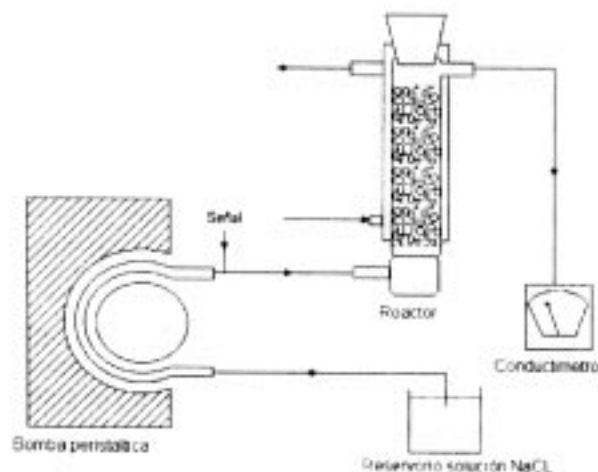


Figura 2
Sistema de reacción para estudios de flujo.

Trazador

- Solución de electrolito: 1% de NaCl

Relleno

- Soporte Inerte: Alúmina 70/230 mesh Mache-rey, Nagel Co.
- Elemento de Sostén: perlas de vidrio de 3,5 mm de diámetro.

2.2. Metodología

En este trabajo se considerará que la reacción química transcurre según una cinética de primer orden, ya que se pudo comprobar que la reacción enzimática considerada muestra este comportamiento en el rango de concentraciones de sustrato: $6,34 \cdot 10^{-3}$ M y $19,0 \cdot 10^{-3}$ M (Maroto *et al.*, 1999).

El valor de la constante de velocidad $k = 9,88 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ corresponde al obtenido para fosfolipasa A_2 inmovilizada sobre alúmina, y éste será el soporte empleado en las experiencias a realizar para el estudio del reactor (Maroto y Camusso, 2000).

En el caso de un reactor continuo como el descrito, una porción del reactante se mantiene en condiciones de reacción por tiempo menor que t y otras porciones se mantendrán por un tiempo mayor. Debido a esto, para nuestra reacción de primer orden, con k conocido, no es conveniente predecir la conversión usando la ecuación cinética $s/s_0 = e^{-kt}$, sin antes comprobar el apartamiento o no de las condiciones de idealidad del sistema, porque podríamos estar incurriendo en un error apreciable, mientras que, si se conoce exactamente la distribución del tiempo de residencia o tiempo de contacto entonces se puede predecir correctamente la conversión.

Flujo a través del reactor

A continuación se describe el estudio realizado con el objeto de conocer el comportamiento del flujo a través del reactor y su alejamiento o no de un sistema ideal de flujo en pistón. Para ello se determinó la distribución de tiempos de residencia de la corriente del fluido. Esta información se obtuvo por el método experimental estímulo- respuesta, caracterizando el grado de flujo no ideal por medio de la función de distribución de salida. Se estimuló al sistema mediante una perturbación y se observó la respuesta a este estímulo. El análisis de la respuesta dio información sobre el sistema.

En este trabajo el estímulo utilizado es la inyección del trazador en el fluido que entra al recipiente, mientras que la respuesta es una representación del trazador a la salida del reactor frente al tiempo.

A causa de la pequeña granulometría del soporte inerte empleado (alúmina 70/230 mesh) se produjeron taponamientos en la columna que impedían el flujo constante a través de ella. Debido a esto se ensayaron diversos elementos, que actuaban como sostén del soporte inerte, tales como cilindros, perlas de vidrio, etc. Se evitaron así grandes canalizaciones del flujo originadas por zonas estancadas o muertas que dan lugar a amplias desviaciones del comportamiento ideal, todo lo cual originaría una serie de dificultades adicionales en la operatividad del sistema.

Se eligieron perlas de vidrio y ambos, las perlas de vidrio y la alúmina, se encontraban entremezclados a lo largo de la columna (Tabla I).

A través de la columna se hizo circular a 50°C a tres caudales diferentes utilizando la bomba peristáltica, incorporando luego la inyección del trazador (2 ml de una solución de NaCl 1%), en forma de escalón y de inyección por impulso.

Se midió la concentración a la salida de la columna por conductimetría.

Respuesta del sistema

Es evidente que los distintos elementos del fluido siguen diferentes caminos a lo largo del reactor y en

Tabla I

Cargas de columna (elemento de sostén + soporte) y caudales de trabajo

Carga de la columna (g de perlas de vidrio + g de alúmina)	Caudales (ml/min)
80 + 18	
60 + 24	2,22
40 + 28	4,76
20 + 37	6,94
0 + 40	

consecuencia los tiempos para atravesar el reactor serán distintos.

La distribución de estos tiempos en la corriente de fluido que sale del recipiente se denomina distribución de la edad a la salida E o distribución del tiempo de residencia (DTR) del fluido.

Para obtener la distribución de la edad a la salida E o DTR se realizó una inyección instantánea de 2 ml de trazador en la corriente de alimentación del reactor, repitiéndose el mismo procedimiento para todas las combinaciones posibles entre las diferentes composiciones de carga de la columna y los caudales preestablecidos para la circulación del fluido (Tabla I).

Cuando la corriente de fluido que entra al recipiente no contiene trazador alguno, y le imponemos una señal trazadora que se inyecta de modo virtualmente instantáneo (2 ml de solución 1% NaCl) y que frecuentemente se conoce con el nombre de función delta o pulsación, se denomina curva C a la respuesta normalizada del trazador en la corriente de salida frente al tiempo.

Se efectuó la normalización de los datos obtenidos para la curva E, calculando el área bajo dicha curva mediante integración gráfica. Luego se divide cada ordenada de la curva E, para intervalos de 2 min por el área bajo la curva E obteniendo la curva E normalizada.

Aplicación

La información obtenida con el trazador se emplea directamente o en unión de los modelos de flujo, para predecir el funcionamiento del reactor de flujo.

El método usado depende, en gran parte, de si el reactor puede considerarse como sistema lineal o se trata de un sistema no lineal.

Determinación de la linealidad del sistema

En la caracterización de un sistema de flujo es importante determinar la propiedad de linealidad, ya que si en un sistema ocurren simultáneamente varios procesos lineales independientes, el efecto global también será un proceso lineal. Por otra parte, el efecto total de estos procesos lineales individuales que ocurren simultáneamente en un sistema, pueden analizarse estudiando separadamente cada uno de los procesos. Esta propiedad no la presentan los procesos no lineales, de aquí que estos hayan de estudiarse en su situación total y su comportamiento no pueda predecirse a partir de cada uno de sus procesos constituyentes. Un proceso es lineal si cualquier cambio en la magnitud del estímulo produce un cambio proporcional en la magnitud de la respuesta.

Para analizar la linealidad del sistema se realizaron dos experiencias de inyección de trazador por pulso a la entrada del reactor, donde el trazador en la

primera experiencia fue 2 ml de una solución al 1% de NaCl y en la segunda 2 ml de una solución al 2% de NaCl, con un flujo de líquido en el reactor de 4,76 ml/min, midiendo la conductividad en la corriente de salida en función del tiempo.

Cálculo de la fracción no convertida para un reactor de flujo en pistón a partir de los datos cinéticos (reactor ideal)

Para realizar este cálculo se supone que cada elemento del fluido atraviesa la columna sin entremezclarse con los elementos adyacentes y la distribución de edades del material en la corriente de salida nos indica cuanto tiempo ha permanecido en el reactor cada uno de los elementos individuales. En consecuencia, para el reactante "a" en la corriente de salida, según la ec. 1, tenemos:

$$S_a = \int_0^{\infty} s_i \cdot E dt \quad (\text{ec. 1})$$

Por otro lado, para reacciones irreversibles de primer orden, sin variación de densidad, la concentración del reactante en cualquier elemento varía con el tiempo de residencia según:

$$s = s_0 e^{-kt} \quad (\text{ec. 2})$$

De las experiencias realizadas para enzima inmovilizada sobre alúmina (Maroto et al., 1999) resultó la constante cinética:

$$k (\text{primer orden}) = 0,0988 \text{ min}^{-1}$$

Luego se calculó la fracción no convertida $s/s_0 = e^{-kt}$ para dicha constante de velocidad, obteniendo así la fracción no convertida para un reactor ideal de flujo en pistón.

Se comparó este rendimiento ideal con:

- la fracción no convertida a partir de los datos obtenidos con el trazador y de la cinética de la reacción.
- la fracción no convertida según el modelo de dispersión cuando el grado de dispersión es grande.

Cálculo de la fracción no convertida a partir de los datos obtenidos con el trazador y de la cinética de la reacción (reactor real)

Para el reactor real considerado, la fracción no convertida, de acuerdo a las ec. 1 y 2, está dada por:

$$\frac{s}{s_0} = e^{-kt} \cdot E \Delta t \quad (\text{ec. 3})$$

Se calcularon las fracciones no convertidas para las experiencias realizadas con las variaciones de

carga de columna y caudales (los valores de E corresponden a los normalizados).

Cálculo de la fracción no convertida según el modelo de dispersión cuando el grado de dispersión es grande

Este modelo establece la analogía entre la mezcla en flujo real y la mezcla en los procesos difusivos; dicho modelo se denomina "de dispersión".

La retromezcla de fluido que circula en dirección x se puede describir como:

$$\frac{\delta C}{\delta t} = D \cdot \frac{\delta^2 C}{\delta x^2}$$

siendo D = coeficiente de dispersión axial.

Si se adimensionaliza la expresión

$$z = \frac{x}{L} ; \theta = \frac{t}{t_{resid}} = \frac{D \cdot u}{L}$$

surge el grupo adimensional D/uL.

Luego:

$$\frac{D}{uL} \rightarrow 0 \quad \text{flujo pistón}$$

$$\frac{D}{uL} \rightarrow \infty \quad \text{gran dispersión}$$

Por medio del cálculo del grupo adimensional D/uL, denominado "módulo de dispersión del recipiente", es posible conocer el grado de dispersión axial.

Para ello elegimos la varianza σ^2 de la distribución de edades a la salida del reactor como la magnitud descriptiva que hemos de emplear para la determinación del módulo de dispersión. La varianza de una distribución continua medida en un número finito, de puntos equidistantes (Levenspiel 1972) aplicada a nuestro problema se define como:

$$\sigma_a^2 = 2 \cdot \frac{D}{uL} - 2 \cdot \frac{D}{uL} \cdot (1 - e^{-\frac{uL}{D}})$$

Considerando el flujo estacionario dentro del reactor de longitud L, a través del cual circula fluido con velocidad constante u, y en el cual el material se mezcla axialmente con un coeficiente de dispersión D, la expresión:

$$\frac{s}{s_0} = \frac{4 a \cdot e^{-\left(\frac{1}{2} \frac{uL}{D}\right)}}{(1-a)^2 \cdot e^{-\left(\frac{a}{2} \frac{uL}{D}\right)} - (1-a)^2 \cdot e^{-\left(\frac{a}{2} \frac{uL}{D}\right)}} \quad (\text{ec. 4})$$

donde

$$a = \sqrt{1 + 4 \cdot k \cdot t \cdot \left(\frac{D}{uL}\right)}$$

fue obtenida por Wehner y Wilhem (1956) y nos proporciona la fracción no convertida para una reacción de primer orden.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se puede observar en la Fig. 3, la concentración del trazador a la salida se duplica cuando se duplica la concentración de entrada, lo que nos permitió afirmar que el sistema tiene comportamiento lineal.

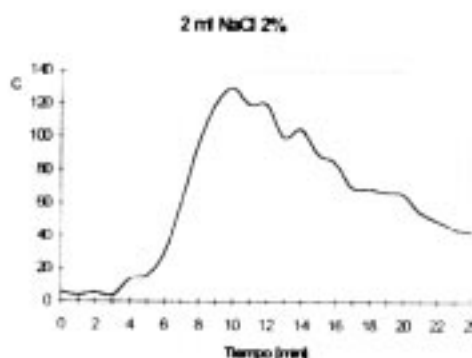
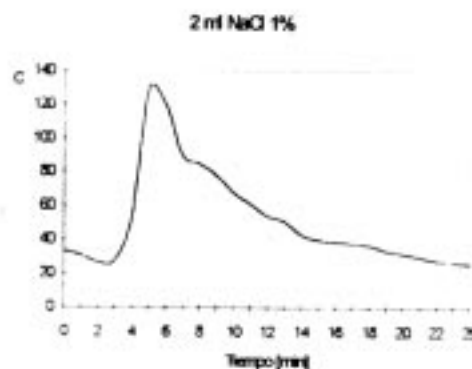


Figura 3
Determinación de la linealidad de la respuesta del reactor.

Tabla II

Fraciones no convertidas (curvas E_i representadas en Fig. 4) para cada carga de columna y para distintos caudales (*Carga de la columna en g de perlas de vidrio + g de alúmina)

Carga *	Caudal [ml/min]		
	2,22	4,70	6,94
80 + 18	0,1293 Curva E1	0,2743 Curva E6	0,4184 Curva E11
60 + 24	0,1159 Curva E2	0,2663 Curva E7	0,3711 Curva E12
40 + 28	0,0943 Curva E3	0,2600 Curva E8	0,3466 Curva E13
20 + 37	0,1046 Curva E4	0,1918 Curva E9	0,3389 Curva E14
0 + 40	0,0922 Curva E5	0,2877 Curva E10	0,2967 Curva E15

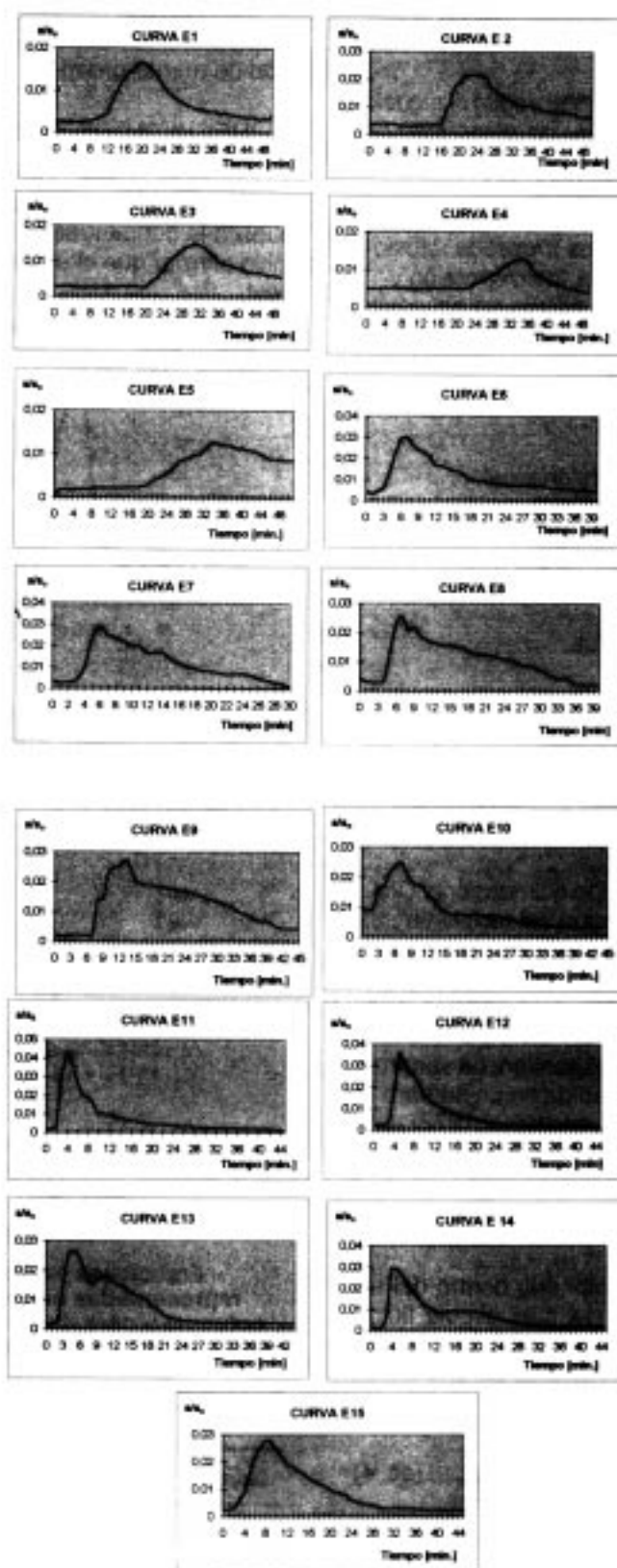


Figura 4
Estudios de flujo para distintas cargas y caudales (Curvas E_i)

Los datos obtenidos a partir de las determinaciones conductimétricas de la concentración de electrolito a la salida del reactor fueron representados gráficamente en función del tiempo. Dicha representación se realizó para la respuesta de la señal impulso.

Todas las experiencias realizadas para las distintas combinaciones de la Tabla I, se muestran en la Fig. 4 para la curva E y los valores obtenidos de fracción no convertida en la Tabla II.

Las fracciones no convertidas para el reactor real presentan ligeras discrepancias, en comparación con las obtenidas para un reactor de flujo en pistón, lo que se debería a las canalizaciones y cortocircuitos que se generan en el interior de la columna (Suresh y Chidambaram, 1997).

Las máximas conversiones se logran para el menor caudal de alimentación. El aumento del caudal hace que la circulación del fluido sea elevada y no permita a la enzima actuar sobre el sustrato.

La Tabla III muestra los valores de fracción no convertida para los distintos valores de D/uL , al considerarse el modelo de dispersión.

En la Fig. 5 se muestra la curva C (curva E normalizada) para recipientes cerrados calculada por métodos numéricos. Se observa que a medida que aumenta el D/uL la curva se va haciendo más asimétrica. Hemos trazado la curva C para nuestro D/uL PROMEDIO = 0,5522 y se observa que el comportamiento de nuestro reactor es intermedio entre reactor de mezcla completa y reactor de flujo en pistón, presentando "grado de dispersión" grande, ya que:

$$D/uL > 0,2$$

Respecto a la interpretación del valor calculado del módulo de dispersión del reactor se puede afirmar que la suposición del grado de dispersión elevada

Tabla III
Fracciones no convertidas para constante de velocidad $k = 0,0988 \text{ min}^{-1}$

	D/uL	n/n_0
Curva E ₁	0,585	0,1860
Curva E ₂	0,573	0,1941
Curva E ₃	0,591	0,1822
Curva E ₄	0,600	0,1767
Curva E ₅	0,613	0,1691
Curva E ₆	0,574	0,1934
Curva E ₇	0,544	0,2159
Curva E ₈	0,514	0,2428
Curva E ₉	0,524	0,2333
Curva E ₁₀	0,584	0,1867
Curva E ₁₁	0,535	0,2235
Curva E ₁₂	0,497	0,2604
Curva E ₁₃	0,511	0,2457
Curva E ₁₄	0,531	0,2270
Curva E ₁₅	0,507	0,2498

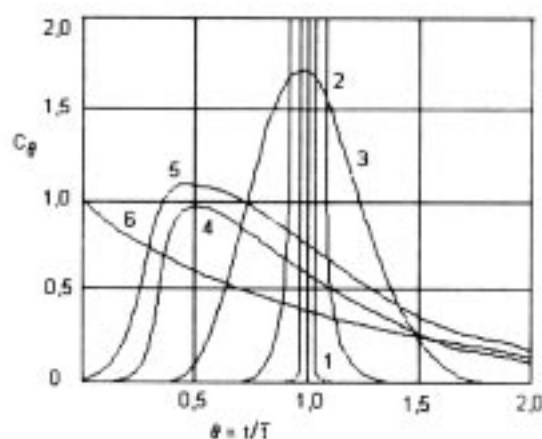


Figura 5
Curva C en recipientes cerrados para distintas intensidades de retromezcla predichas por el modelo de dispersión (O. Levenspiel, 1972).

donde \bar{t} = tiempo medio de residencia

- 1) Flujo Pistón $D/uL = 0$;
- 2) Dispersión Pequeña $D/uL = 0,002$;
- 3) Dispersión Media $D/uL = 0,025$;
- 4) Dispersión Grande $D/uL = 0,2$;
- 5) Nuestro caso $D/uL = 0,5522$;
- 6) Flujo en mezcla completa $D/uL = \infty$

do fue concreto. El D/uL es bastante mayor al límite que presenta una curva de tipo gaussiana.

Con el alejamiento del valor cero, del módulo de dispersión del recipiente, el comportamiento del reactor se aleja del ideal y tiende a comportarse como un reactor de mezcla completa.

Los resultados observados permiten concluir que es importante el grado de retromezcla, la formación de remolinos y de zonas de redistribución de la materia por deslizamiento.

La columna de relleno donde se producirá la hidrólisis enzimática de la lecitina de soja, presenta un alejamiento del comportamiento como reactor en flujo pistón atribuible a las interferencias del flujo (taponamientos, zonas muertas, canalizaciones y/o a la interacción de tipo axial de las partículas que circulan por el reactor) Weatherley *et al.*, 1997).

El comportamiento del trazador a lo largo de la columna difiere de acuerdo al caudal y relleno, manifestándose en la respuesta a la salida como un adelanto o atraso respecto del tiempo esperado (tiempo medio).

El tiempo de residencia de las partículas de trazador coincide con el tiempo medio esperado para bajos caudales y alto porcentaje de perlas de vidrio en el relleno de la columna. El mismo se encuentra en atraso para los ensayos de bajos caudales y bajo porcentaje de perlas de vidrio; y adelantado para el caso de caudales más elevados.

El sistema tiene comportamiento lineal (midiendo una de las variedades se puede interpretar el comportamiento de las demás) (Abureesh, 1997).

Si comparamos los modelos ensayados: reactor de flujo en pistón y modelo de dispersión, con los resultados obtenidos en el reactor real podemos observar que:

- Para bajos caudales, en el reactor real, la fracción no convertida se aproxima a la correspondiente al modelo de reactor ideal de flujo en pistón (Tabla II).
- Para caudales elevados, el modelo de dispersión podría emplearse para definir el flujo real con más aproximación (Tabla III).

4. CONCLUSIONES

- Se analizó el comportamiento de flujo a través del reactor por el método de estímulo-respuesta, constatando que el sistema tenía comportamiento lineal.
- Se analizaron los tiempos de residencia en el reactor experimental construido a tal efecto para distintos arreglos de carga (partícula soporte + carga inerte) y a distintos caudales. Al más bajo caudal estudiado (2,2 ml/min) y altas proporciones de soporte las gráficas no presentan anomalías. Para caudales mayores (4,76 y 6,94 ml/min) y para todos los arreglos de carga el trazador aparece antes del tiempo previsto, lo que indica la presencia de canalizaciones en el reactor.
- Se calcularon las fracciones no convertidas para el reactor real y se observaron diferencias en los resultados, en comparación a los de un reactor de flujo en pistón, precisamente a causa de canalizaciones, recirculación del fluido y cortocircuitos que se generan en el interior de la columna.
- Se lograron máximas conversiones en las experiencias realizadas a mayor concentración de sustrato y para un menor caudal de alimentación.
- El módulo de dispersión resultó bastante mayor al límite que presenta una curva de tipo gaussiana, por lo que el análisis del reactor no ideal mediante el empleo del modelo de dispersión para grado de dispersión elevado fue correcto. El reactor tendía a comportarse como un reactor de mezcla completa y se concluye que el grado de retromezcla, la formación de remolinos y zonas de redistribución de materia por deslizamiento son importantes.

BIBLIOGRAFÍA

- Abureesh, I.M. (1997). Predicting the performance of immobilized enzyme reactors using reversible michaelis-menten kinetics. *Bioprocess Eng.* **17**, 3.
- Atkinson, B. (1986). Reactores Bioquímicos. Ed. Reverté, S.A., p. 233.
- Bailey, J.E. y Ollis, D.F. (1986). Biochemical Engineering Fundamentals. 2nd. ed. Mc Graw-Hill, p. 63.
- Bell, G., Toedd, J.R., Blain, J.A., Patterson, J.D.E. y Shaw, C.E. (1981). Hydrolysis of triglycerides by solid phase lipolytic enzymes of *rhizopus arrhizus* in continuous reactor systems. *Biotechnol. Bioeng.* **23**, 1703.
- Brady, C., Metcalfe, L., Slaboszewski, D. y Frank, D. (1986). Hydrolysis of Fats. U.S. Patent Nº 4.629.742.
- Brady, C., Metcalfe, L., Slaboszewski, D. y Frank, D. (1987). Hydrolysis of Fats. U.S. Patent Nº 4.678.580.
- Brady, C., Metcalfe, L., Slaboszewski, D. y Frank, D. (1988). Lipase immobilized on a hydrophobic microporous support for the hydrolysis of fats. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **65**, 917.
- Chibata, I., Tosa, T., Sato, T. y Mori, T. (1976). Production of L-amino acids by aminoacylase adsorbed on DEAE-sephadex in methods in enzymology. Vol. XLIV, Immobilized Enzymes - K. Mosbach ed. Ac. Press, p. 746.
- Creighton, T.E. (1984). Protein-structures and molecular properties. W.H. Freeman and Co., New York, p. 419.
- Kimura, Y., Tanaka, A., Sonomoto, K., Nihira, T. y Fukui, S. (1983). Application of immobilized lipase to hydrolysis of triacylglyceride. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **17**, 107.
- Lavayre, J. y Barath, J. (1982). Preparation and properties of immobilized lipases. *Biotechnol. Bioeng.* **24**, 1007.
- Levenspiel, O. (1972). Chemical Reaction Engineering. 2nd Ed. Wiley & Sons, New York.
- Macrae, A.R. (1983). Lipase-catalyzed interesterification of oil and fats. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **60**, 291.
- Macrae, A.R. (1985). Biocatalysis in organic synthesis. J. Tramper, H.C. van der Plaas y P. Linko, Ed. Elsevier Applied Science Publishers, Amsterdam, p. 185.
- Maroto, B. y Camusso, C. (2000). Inmovilización de enzima fosfolipasa A₂. *Grasas y Aceites* (España), **51** (3) 150-156.
- Maroto, B., Minchiotti, M. y Camusso, C. (1999). Estudio cinético de la hidrólisis enzimática de lecitina de soja pura en polvo. *Información Tecnológica*, Chile, **10**, 107-113.
- Maroto, B., Zaritzky, N. y Camusso, C. (2001). Estudio cinético de la reacción de hidrólisis de lecitina de soja pura en polvo con fosfolipasa A₂ inmovilizada. *Grasas y Aceites* **52**, 33-37.
- Omar, I.C., Saeki, H., Nishio, N. y S. Nagai. (1988). Hidrólisis de triglycerides by immobilized thermostable lipase from *trans humicola lanuginosa*. *Agric. Biol. Chem.* **52**, 99.
- Patterson, J.D.E., Blain, J.A., Shaw, C.E.L., Todd, R. y Bell, G. (1979). Synthesis of glycerides and esters by fungal cell-bound enzymes in continuous reactor systems. *Biotechnol. Lett.* **1**, 211.
- Segel, I.H. (1993). Enzymes kinetics-behaviour and analysis of rapid equilibrium and steady-state enzymes systems. J. Wiley & Sons, NY. P. 5.
- Suresh, R y Chidambaram, M. (1997). Periodic operation of well mixed enzyme reactors with steady state multiplicities using relay feedback. *Bioprocess Eng.* **16**, 4.
- Walsh, C. (1984). Enzymatic reaction mechanisms. W.H. Freeman and Co. New York, p. 24.
- Weatherley, L.R., Rooney, D.W. y Niekerk, M.V. (1997). Clean synthesis of fatty acids in an intensive lipase-catalysed bioreactor. *J. Chem. Technol. An Biotech.* **68**, 4.
- Wehner, J.F. y Wilhelm, R.H. (1956). *Chem. Eng. Sci.* **6**, p. 89.
- Wisdom, R.A., Dunill, P. y Lilly, M.D. (1987). Enzymatic interesterification of fats: The effect of non lipase material on immobilized enzyme activity. *Biotechnol. Bioeng.* **29**, 1381.

Recibido: Septiembre 2000
Aceptado: Mayo 2001