

03044  
2  
20j

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA

"CENTRIFUGACION EN LA RECUPERACION DE PRODUCTOS BIOTECNOLOGICOS"

TESINA

QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE  
ESPECIALIZACION EN BIOTECNOLOGIA

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

PRESENTA

MA. ELENA RODRIGUEZ ALEGRIA



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

	pág.
1. INTRODUCCION	1
2. OBJETIVOS	5
3. CENTRIFUGACION	6
3.1 Principios de la centrifugación	6
3.2 Equipos: clasificación y aplicación	10
3.2.1 Nivel laboratorio	13
3.2.2 Nivel Industrial	13
3.3 Centrifugación de células microbianas y de restos celulares	29
3.4 Métodos para mejorar y ayudar a la centrifugación	37
4. OPERACIONES UNITARIAS ALTERNATIVAS A LA CENTRIFUGACION	39
4.1 Filtración convencional	39
4.2 Filtración tangencial	44
5. SELECCION DE LA CENTRIFUGA POR SEDIMENTACION NIVEL INDUSTRIAL.	49
6. CONCLUSIONES	54
7. BIBLIOGRAFIA	55

## INDICE DE TABLAS

	pág.
TABLA 1. Ecuaciones de $\Sigma$ para varias geometrías de rotores.	11
TABLA 2. Clasificación de centrifugas nivel laboratorio.	14
TABLA 3. Propiedades de diferentes centrifugas.	19
TABLA 4. Características de las centrifugas de discos.	23
TABLA 5. Tamaño de las partículas biológicas y su relación con los costos de recuperación.	30
TABLA 6. Viscosidades aparentes de sistemas biológicos.	30
TABLA 7. Resumen de aplicaciones y limitaciones de las centrifugas de discos para diferentes sistemas.	33
TABLA 8. Datos técnicos de dos centrifugas de discos Alfa Laval utilizadas en procesos biotecnológicos.	34
TABLA 9. Datos técnicos de las centrifugas tubulares comerciales.	34
TABLA 10. Aplicaciones de diferentes tipos de centrifugas en la separación de productos biotecnológicos.	35
TABLA 11. Métodos para mejorar y acondicionar sistemas biológicos.	36
TABLA 12. Procesos que incorporan pretratamiento en la recuperación de sus productos.	38
TABLA 13. Velocidades relativas de filtración para diferentes sistemas.	41
TABLA 14. Comparación relativa entre la centrifugación y la microfiltración.	46
TABLA 15. Ventajas y desventajas de las operaciones: centrifugación, filtración y microfiltración.	48
TABLA 16. Criterio de la selección de una cetrífuga en base a tamaño de partícula.	50
TABLA 17. Criterio de selección de una centrifuga en base al contenido de sólidos en la corriente de alimentación.	50
TABLA 18. Valores de $Gt$ para diferentes sistemas.	51

## INDICE DE FIGURAS

	pág.
FIGURA 1. Operaciones unitarias involucradas en un proceso fermentativo.	3
FIGURA 2. Operaciones involucradas en la separación y recuperación de productos biotecnológicos.	4
FIGURA 3. Fuerzas que actúan sobre una partícula que cae en el seno de un fluido sometido a un campo de fuerzas externas.	9
FIGURA 3a. Partícula en un rotor de centrifuga tubular.	9
FIGURA 4. Clasificación de centrifugas.	12
FIGURA 5. Clasificación de centrifugas industriales.	15
FIGURA 6. Centrifuga de rotor tubular.	17
FIGURA 7. Sección transversal de una centrifuga de discos.	18
FIGURA 8. Diferentes tipos de centrifugas de discos.	21
FIGURA 9. Diagrama de centrifuga decantadora.	25
FIGURA 10. Diagrama de centrifuga multicámaras.	25
FIGURA 11. Diagrama esquemático de centrifugas por filtración.	28
FIGURA 11a. Detalle de dos tipos centrifugas de empuje.	28
FIGURA 12. Diagrama de filtro prensa y filtro rotatorio al vacío.	42
FIGURA 13. Geometrías de los equipos de microfiltración y ultrafiltración.	45

## 1. INTRODUCCION.

Dentro de un proceso biotecnológico, bien sea a nivel laboratoriorio, piloto o industrial, se pueden distinguir las etapas de producción y de separación de productos.

En el caso de de productos de origen microbiano (bioproductos), la etapa de producción es la fermentación, en la cual se dan las condiciones y requerimientos necesarias al microorganismo para que produzca el producto de interés.

La siguiente etapa, la separación del producto es un área considerada como la *segunda mitad* del proceso. Este hecho se justifica si consideramos que los gastos de inversión y el costo de operación que implican la recuperación y purificación de un producto muchas veces superan a los relacionados con la etapa de producción. Además, es común encontrar que esta *segunda mitad* del proceso sea más sofisticada que el proceso de fermentación. En general, el costo relativo del proceso de recuperación tiende a aumentar conforme se incrementa la complejidad química o bioquímica del proceso. Así, por ejemplo, la relación de costo recuperación a costo fermentación es de 0.16 para etanol, 1.0 para penicilina y 2 para una enzima, y puede llegar a ser hasta 9 para una proteína de alta pureza de uso farmacológico (Naveh, 1985; Datar, 1986).

Las sustancias producidas por microorganismos se pueden encontrar dentro de las células (productos intracelulares), ser excretados al medio de cultivo (productos extracelulares), o ser la biomasa el producto de interés. De esto dependerá el proceso de separación a seguir (figura 1). Después de la producción de biomasa, esta es separada del medio de cultivo. Si el producto de interés son las células, el microorganismo es concentrado, lavado y secado. Si la sustancia es intracelular, las células son desintegradas, se separan los restos celulares y posteriormente se realizan operaciones para purificar el producto. Cuando el bioproducto es extracelular, este primero es separado del medio de cultivo y/o concentrado, para posteriormente ser tratado por operaciones similares a las utilizadas para productos intracelulares.

En general dentro de un proceso de bioseparación se encuentran cuatro etapas comunes (Belder, 1988):

1. Separación sólido/líquido, mediante la cual se separan compuestos insolubles. La centrifugación y la filtración son las operaciones unitarias más utilizadas para este fin.

2. Aislamiento de productos, estos pasos son relativamente inespecíficos, se separan grupos de compuestos de diversas propiedades; las operaciones típicas de este paso son la extracción, adsorción y la precipitación.

3. Purificación, estas técnicas son altamente selectivas y

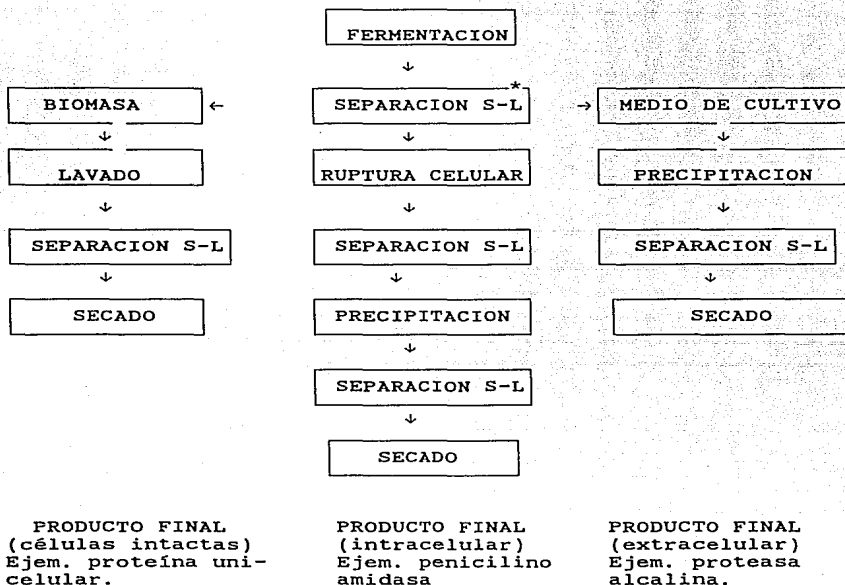
remueven impurezas muy similares al producto de interés; las operaciones unitarias involucradas son la cromatografía, la electroforesis y la precipitación principalmente.

4. Pulimiento, es la parte final del proceso, y las operaciones principales son la cristalización y secado.

En la figura 2 se muestran las técnicas involucradas en la separación y purificación productos biotecnológicos siendo la separación sólido-líquido una de las operaciones más utilizadas. En ella se incluyen la centrifugación, la filtración convencional y la filtración por tecnología de membranas. Cada una de éstas tiene sus ventajas y sus desventajas, y para elegir la más conveniente en un proceso dado, es importante conocer sus principios básicos, los equipos utilizados, su aplicación y criterios de escalamiento.

En este trabajo se tratarán los puntos antes mencionados, para la operación unitaria centrifugación, la cual se tomara como punto de referencia para discutir la complementariedad y/o competencia con la filtración convencional y filtración por tecnología de membranas.

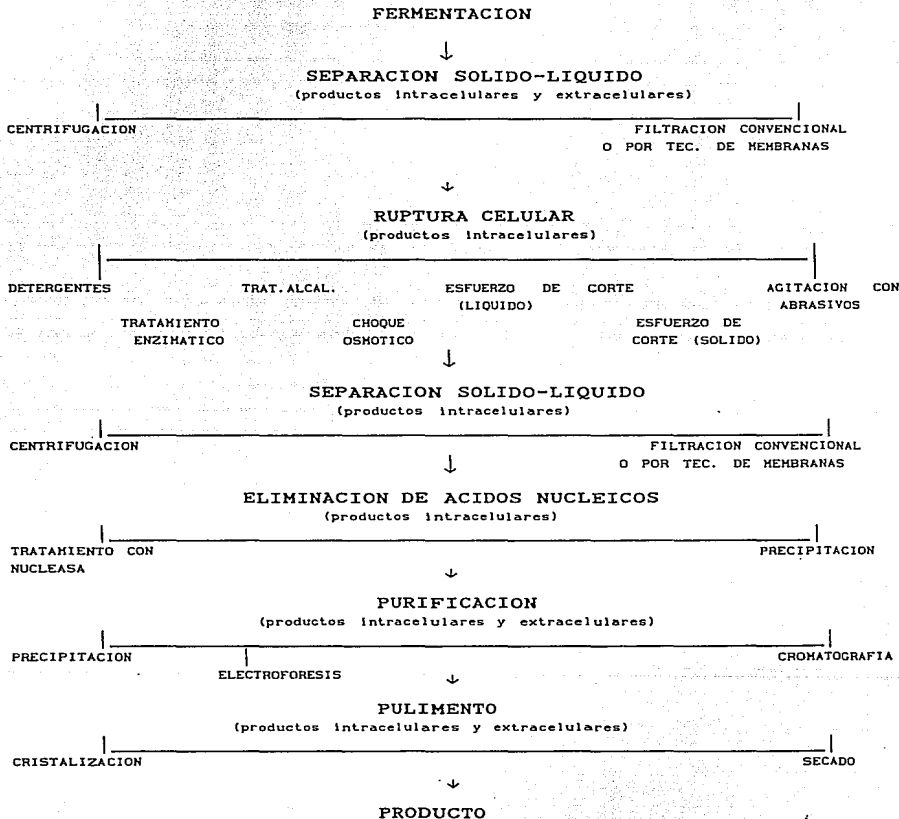
FIGURA 1 Operaciones unitarias involucradas en un proceso fermentativo.



\*S-L sólido-líquido.



FIGURA 2. Operaciones involucradas en la separación y recuperación productos biotecnológicos (modificada de Scawen, 1986)



## 2. OBJETIVOS.

- a) Recopilar y analizar información referente a la operación unitariacentrifugación en la recuperación de productos biotecnológicos de origen microbiano. Así como la descripción de equipos de centrifugación utilizados a nivel industrial y/o piloto.
- b) Realizar un análisis en base a la literatura del escalamiento de la centrifugación
- c) Comparar la centrifugación con las operaciones filtración convencional y por tecnología de membranas.

### 3. CENTRIFUGACION.

#### 3.1 Principios de la centrifugación.

Cuando una partícula sólida cae en el seno de un fluido, la velocidad a la cual la partícula sedimenta, depende tanto de la naturaleza de la partícula y del fluido en el cual la partícula este suspendida, las fuerzas que gobiernan su movimiento son (figura 3):

- 1) Su peso
- 2) La fuerza de flotación
- 3) La fuerza de fricción,  $F_f$ , originada por el movimiento del cuerpo dentro del fluido y que se opone a el.

Aplicando la segunda ley de Newton ( $F = ma$ ) y considerando una partícula esférica, (las cuales son una buena aproximación de muchas partículas biológicas) la fuerza debida a su peso  $P$  esta dada por:

$$P = mg = (\pi d_p^3 \rho_p g) / 6 \quad (1)$$

Y la fuerza de flotación por:

$$F_c = (\pi d_p^3 \rho_f g) / 6 \quad (2)$$

Donde  $g$  es la aceleración de la gravedad y  $m$  es la masa de la partícula,  $d_p$  es el diámetro de la partícula,  $\rho_p$  y  $\rho_f$  son las densidades de partícula y fluido respectivamente.

La fuerza de fricción que actúa sobre una sola partícula esférica esta dada por la ley de Stokes (Belder, et al 1988):

$$F_f = 3\pi\mu d_p v \quad (3)$$

donde  $\mu$  es la viscosidad absoluta del fluido y " $v$ " es la velocidad de la partícula. La ley de Stokes solo es confiable para suspensiones de baja concentración de partículas esféricas pequeñas, en la que la fuerza de fricción es proporcional a la velocidad de movimiento de la partícula (por debajo del intervalo del regimen turbulento) (Ambler, 1959) cuantitativamente, esto significa que:

$$\frac{v d_p \rho_p}{\mu} < 1 \quad (4)$$

donde el término del lado izquierdo de la ecuación es el número de Reynolds (Re) que caracteriza el flujo que rodea la partícula. Sin embargo, si el número de Reynolds fuera mayor de 1, dicha ecuación se reemplazará por (Belder, 1988):

$$Fr = f (1/2\rho_f v^2) [(\pi/4) d^2] \quad (5)$$

donde f es un factor de fricción, el cual se puede localizar en gráficas de libros de mecánica de fluidos (por ejem Foust et al, 1969, pág. 566, fig. 22.1)

Cuando una partícula esférica cae en el seno de un fluido, y su densidad es mayor que la del fluido, la fuerza dirigida hacia abajo es mayor que la fuerza dirigida hacia arriba y debido a esa fuerza neta el cuerpo caerá hacia el fondo del tanque con una velocidad cada vez mayor. Sin embargo, esta velocidad tiene un límite. En efecto, mientras esto sucede, la fuerza de fricción va creciendo con la velocidad hasta que llega a ser tal que la fuerza neta sobre el cuerpo es prácticamente cero. De ahí en adelante el cuerpo ya no será apreciablemente acelerado y continuará su caída con una velocidad constante llamada velocidad de sedimentación ( $v_s$ ):

$$v_s = \frac{d_p^2}{18\mu} (\rho_p - \rho_f) g \quad (6)$$

Cuando la suspensión de partículas se encuentra en un campo centrifugo la velocidad terminal de dichas partículas se expresa de la siguiente manera (Hsu, 1981):

$$v_c = \frac{d_p^2}{18\mu} (\rho_p - \rho_f) w^2 r \quad (7)$$

donde w es la velocidad angular en radianes/segundo y r es la distancia radial del centro de la centrifuga a la partícula. Esta ecuación es válida para  $Re < 0.4$ , para Re mayores se han derivado ecuaciones por Sakolov (1971) y Hsu (1981).

Como se mencionó con anterioridad la ecuación 7 se obtuvo suponiendo que las partículas son esféricas y en regimen de flujo laminar. Para partículas no esféricas el coeficiente de fricción se incrementa y puede ser hasta 10 veces mayor (en el caso de moléculas alargadas) modificando la ecuación a la siguiente expresión (Rickwood, 1984):

$$v_c = \frac{d_p^2 (\rho_p - \rho_f)}{18\mu (f/f_0)} w^2 r \quad (8)$$

donde  $f$  es el coeficiente de fricción de la partícula no esférica y  $f_0$  el de la partícula esférica.

Fuerza centrífuga relativa.

Al dividir la ecuación entre la ecuación se obtiene:

$$Z = \frac{w r^2}{g} \quad (9)$$

$Z$  se denomina fuerza centrífuga relativa, efecto centrífugo o "g". Este parámetro se utiliza para caracterizar centrifugas, pero no para estimar sus capacidades. Los intervalos de  $Z$  para centrifugas industriales están en el orden de 300 a 16,000. Para nivel laboratorio pueden ser mayores de 500,000 y para algunos rotores especiales hasta de 1,000,000 (Hsu, 1981).

Factor sigma ( $\Sigma$ ) y flujo volumétrico.

Estos parámetros se utilizan principalmente para para llevar a cabo el escalamiento de procesos de centrifugación. El factor  $\Sigma$  se puede definir como el área un sedimentador gravitatorio continuo (que opera con un flujo volumétrico  $Q$ ), con características equivalentes a las de la centrifuga en cuestión.

A manera de ejemplo ilustrativo a continuación se obtiene la relación existente entre  $Q$  y  $\Sigma$  para una centrifuga de rotor tubular de radio  $r$ , conteniendo una película delgada de líquido  $r_2 - r_1 = s$  (fig.3a). La distancia que una partícula avanzará durante el tiempo en que este suspendida en el fluido es:

$$(v_c)t = x = \frac{d_p^2}{18\mu} (\rho_p - \rho_f) w^2 r \frac{V}{Q} \quad (10)$$

donde:  $(v_c)t$  es la distancia radial ( $x$ ) recorrida por una partícula de diámetro  $d_p$ .

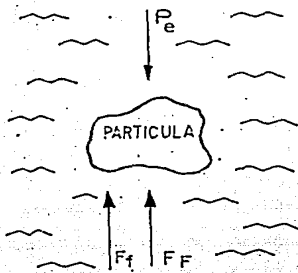
$Q$  es velocidad de flujo de líquido a través del rotor

$V$  es el volumen del material contenido en el rotor  $\pi(r_2^2 - r_1^2)$ .

Si  $x$  es mayor que el radio del rotor, la partícula se depositará en la pared del rotor y será removida de la fase acuosa. En un sistema ideal  $s$  es el espesor de la película líquida; cuando  $x = s/2$ , la mitad de las partículas de diámetro  $d$  será removida de la suspensión y la otra mitad no, al sustituir  $x = s/2$  en la ecuación 10 se puede determinar el flujo  $Q$  al cual se obtiene esta condición:

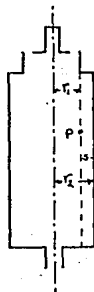
$$Q = \frac{d^2 (\rho_p - \rho_f) V w^2 r}{9\mu s} \quad (11)$$

FIGURA 3. FUERZAS QUE ACTUAN SOBRE UNA PARTICULA QUE CAE EN EL SENO DE UN FLUIDO SOMETIDO A UN CAMPO DE FUERZAS EXTERNAS.



$F_f$  = fuerza de flotación  
 $F$  = fuerza de fricción  
 $P_e$  = fuerza ejercida por el peso de la partícula

FIGURA 3a. PARTICULA EN UN ROTOR DE CENTRIFUGA TUBULAR?



de la ecuación anterior se puede obtener el diámetro de partícula crítico d:

$$d = \sqrt{\frac{9\mu Q s}{(\rho_p - \rho_f) V w^2 r}} \quad (12)$$

Partículas de mayor tamaño que d serán removidas, mientras que partículas de menor tamaño que d permanecerán en la suspensión.

Al multiplicar la ecuación 11 por g/g se obtiene

$$Q = \frac{d^2 (\rho_p - \rho_f) g}{9\mu} \frac{V w^2 r}{sg} = 2v_g \Sigma \quad (13)$$

donde  $\frac{V w^2 r}{sg}$  es el factor sigma para este tipo de centrifuga.

Cada modelo de centrifuga cuenta con una ecuación matemática para calcular el factor  $\Sigma$  (tabla 1).

La velocidad 'v<sub>g</sub>' es función del sistema que se este manejando independiente de la centrifuga utilizada, mientras que  $\Sigma$  es una característica exclusiva del equipo.

De esta forma para un problema de sedimentación cuyo v<sub>g</sub> es una constante, Q/ $\Sigma$  es constante y así es posible comparar centrifugas geoméricamente similares, basándose en que (Ambler, 1952):

$$Q_1/\Sigma_1 = Q_2/\Sigma_2 \quad (14)$$

En el caso de centrifugas tubulares se ha encontrado que los valores de  $\Sigma$  caen entre 97 y 98% de los valores teóricos. En las centrifugas de disco, el valor S es 55% del calculado.

Para centrifugas que no son geoméricamente similares, se puede emplear la ecuación 1 modificada (Suarovsky, 1979):

$$Q_1/\epsilon_1 \Sigma_1 = Q_2/\epsilon_2 \Sigma_2 \quad (15)$$

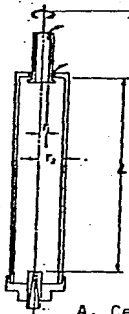
donde  $\epsilon_1$  y  $\epsilon_2$  son las eficiencias relativas para diferentes tipos de centrifugas.

### 3.2 Equipos: clasificación y aplicación.

Las centrifugas pueden clasificarse en base a una amplia variedad de criterios. Sin embargo, uno de los criterios mas

TABLA 1 Ecuaciones de  $\Sigma$  para varias geometrias de rotores.  
(Ambler, 1952; Ambler & Smith, 1961)

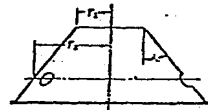
Tipo de centrifuga	Ecuación de $\Sigma$	simbolos
tubular (A)	$\frac{\pi w^2 L (r_2^2 - r_1^2)}{g \ln\left(\frac{2r_2^2}{r_2^2 + r_1^2}\right)}$	$r_1$ = radio interno del liquido. $r_2$ = radio interno del rotor. $L$ = longitud interna del rotor.
o	$\frac{2\pi w^2}{g} L \left( \frac{3}{4} r_2^2 + \frac{1}{4} r_1^2 \right)$	
decantadora (B)	$\frac{\pi w^2}{g} \left[ L_1 \left( \frac{3}{2} r_2^2 + \frac{1}{2} r_1^2 \right) + L_2 \left( \frac{r_2^2 + 3r_2 r_1 + 4r_1^2}{4} \right) \right]$	$L_1$ = longitud de la parte cilindrica $L_2$ = longitud de la parte conica
de discos (C)	$\frac{\pi w^2}{g} \frac{2}{3} N (r_2^3 - r_1^3) \cot \alpha$	$N$ = numero de discos $r_2$ = radio max. del disco $r_1$ = radio min. del disco $\alpha$ = angulo a la mitad del disco.
de tubos (D)	$\frac{w^2 v}{4.6g} \log \frac{2r_2}{r_1 + r_2}$	$r_1$ y $r_2$ especificados en la figura



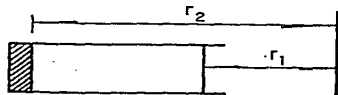
A. Centrifuga tubular



B. Centrifuga decantadora



C. Centrifuga de discos



D. Centrifuga de tubos



FIGURA 4. Clasificación de centrifugas.

Nivel Laboratorio

{ baja velocidad  
alta velocidad  
ultracentrifugas { analíticas  
preparatorias

Nivel Industrial  
(piloto)

{ separación  
A) por  
sedimentación

{ tubular  
de discos { rotor sólido  
boquillas  
eyección de sólidos  
boquilla de válvula  
decantadora  
multicapas

{ separación  
B) por  
filtración

{ de canasta  
decantadora  
de empujea  
"peladora"

variedad de criterios. Sin embargo, uno de los criterios mas sencillos es en base a su aplicación. En la figura 4 se muestra la clasificación de centrífugas en base a su escala de aplicación.

### 3.2.1. Nivel laboratorio.

Las centrífugas utilizadas a nivel laboratorio se pueden clasificar de acuerdo a la máxima velocidad que alcanzan. En la tabla 2 se indican las principales clases de centrífugas, así como sus aplicaciones.

a.-Centrífugas de baja velocidad.- Estas centrífugas son desde pequeñas centrífugas, en las cuales las muestras se mantienen frias por el paso de aire, hasta centrífugas grandes capaces de centrifugar seis litros de suspensión de partículas al mismo tiempo. Estos equipos son usados rutinariamente en el procesamiento inicial de muestras biológicas. Se pueden emplear para recuperar células y organelos de rápida sedimentación tales como núcleos y cloroplastos, además pueden usarse en el fraccionamiento de células por gradiente de densidad.

b.-Centrífugas de alta velocidad.- Este tipo de centrífugas alcanzan velocidades máximas de 18 000 a 25 000 rpm, generan cerca de 60 000 g. Son mucho mas económicas en costo y mantenimiento que las ultracentrífugas, son refrigeradas y algunos modelos tienen sistema de vacío. Su aplicación al igual que las centrífugas de baja velocidad es en la recuperación de fracciones subcelulares y organelos membranosos.

c.-Ultracentrífugas.- Estas centrífugas se dividen en dos tipos: Ultracentrífugas analíticas y preparativas. Las primeras son utilizadas para obtener datos muy precisos sobre propiedades de sedimentación de partículas. Las centrífugas preparativas también son utilizadas en estimaciones cuantitativas de coeficientes de sedimentación, sin embargo los datos obtenidos no son tan exactos.

Una centrifuga analítica puede manejar muestras de solo un mililitro o menos, el proceso de sedimentación se sigue por sistemas ópticos. Las fracciones individuales normalmente no son separadas al final de la corrida, el objetivo viene a ser simplemente observar su comportamiento en un campo centrifugo. Una centrifuga preparativa involucra cantidades mayores de material con el objetivo de separar y obtener las fracciones individuales para su posterior empleo.

### 3.2.2 Nivel Industrial.

Las centrifugas nivel industrial se clasifican en dos tipos (figura 5).

1) Centrifugas que llevan a cabo el proceso de separación por sedimentación.

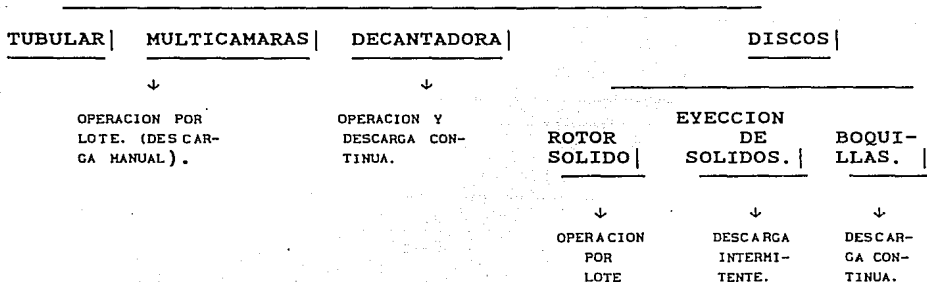
TABLA 2. Clasificación de centrifugas nivel laboratorio y su aplicación (Rickwood, 1984).

	Tipo de Centrifuga		
	baja velocidad	alta velocidad	ultracentrifuga
Intervalo de velocidad ( $\text{rpm} \times 10^3$ )	2-6	18-25	40-80
Máximo Z ( $\text{g} \times 10^{-3}$ )	6	60	600
Refrigeración	algunas	si	si
Sistema de vacío	ninguna	algunas	si
Controles de aceleración/freno	algunos	variable	variable
Aplicaciones para sedimentar:			
Células	si	si	si
Núcleos	si	si	si
Organelos membranosos	algunas	si	si
Fraciones de membranas	algunas	algunas	si
Ribosomas/polisomas	algunas	algunas	si
Macromoléculas	algunas	algunas	si

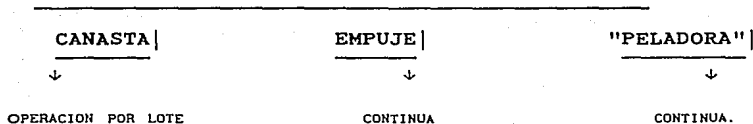
TH.

FIGURA 5. Clasificación de centrifugas industriales (Modificada de Suarovsky, 1979)

CENTRIFUGAS SEDIMENTADORAS



CENTRIFUGAS POR FILTRACION



II) Centrífugas en las cuales el fluido es forzado a pasar a través de un medio filtrante por acción de una fuerza centrífuga.

I) Centrífugas por sedimentación.- Existen principalmente tres tipos de centrífugas por sedimentación, que se caracterizan por la fuerza centrífuga desarrollada, rendimiento obtenido y concentración de sólidos que pueden manejar.

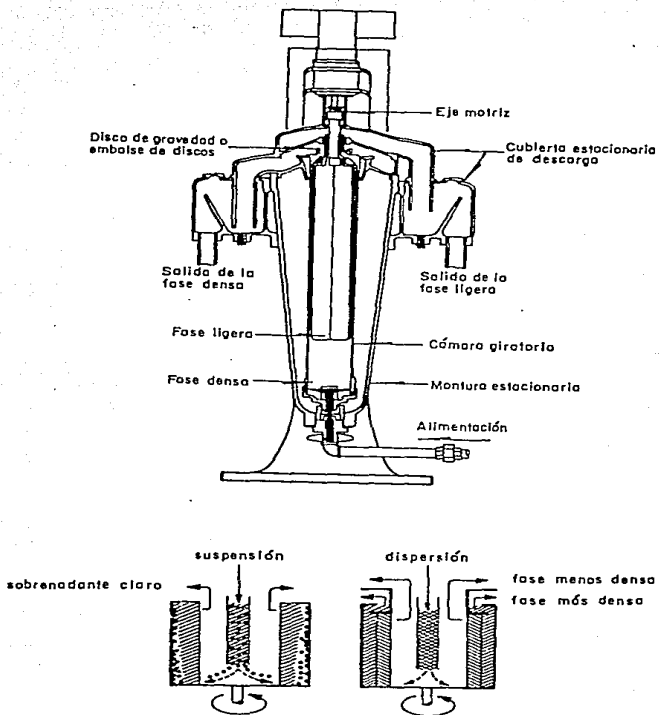
a) La primera de ellas es la *Centrífuga de rotor tubular*, de la que se mencionan sus características principales en la tabla 3. Dicha centrífuga consiste en un rotor tubular que gira dentro de una cubierta (figura 6). El rotor está conectado verticalmente a una flecha, sostenida por un soporte y accionada, ya sea directamente o a través de una banda, por un motor eléctrico. La alimentación se efectúa por medio de una boquilla en el fondo del rotor, donde rápidamente es acelerada hasta la velocidad del rotor. La fase pesada se acumula a lo largo de las paredes del rotor y la fase ligera forma una capa concéntrica en el interior de la fase pesada. En el caso de una operación líquido-líquido, el líquido ligero se mueve hacia el centro del rotor y el líquido mas pesado se mueve hacia la pared del mismo. La longitud del rotor varía entre 2 y 5 pies (0.61 y 1.524 m), lo cual es suficiente para proporcionar el tiempo de residencia necesario para que se lleve a cabo la separación. Las capas se mantienen dentro del rotor y su descarga separada se controla mediante anillos colocados en el extremo superior del rotor. No existe un dispositivo para separar los sólidos, estos se obtienen después de que se detiene la centrífuga y se recuperan manualmente.

b). El segundo tipo de centrífugas por sedimentación son las *Centrífugas de rotor de discos*. Este tipo de centrífugas fue inventada por De Laval en 1878, son utilizadas para remover sólidos de líquidos, para separar líquidos inmiscibles, células de medios de fermentación, etc.

En la figura 7 se muestra la sección transversal de un rotor de centrífuga de discos. Dicho rotor está dividido en un número de discos que pueden ir de 30 a 200, lo cual incrementa el área de sedimentación en un volumen dado, además reducen la distancia radial que la partícula tiene para viajar antes de sedimentar en una superficie. El espacio típico entre disco y disco es de 0.5 a 1 mm, y se encuentran sostenidos por espaciadores metálicos.

La alimentación entra al rotor por la parte superior de la centrífuga y se distribuye en la cámara, es entonces cuando entra a los discos. El fluido menos denso se mueve hacia arriba entre los discos, las partículas sólidas y el fluido mas denso migran hacia abajo. Cuando los sólidos llegan a un disco, se mueven a lo largo de su superficie y sedimentan en la periferia del rotor. El ángulo entre el disco y el eje de rotación es de 35 a 45°, es importante hacer notar que el disco debe tener la inclinación para

FIGURA 6. Centrifuga de rotor tubular.



- a) Partes principales de una centrifuga de rotor tubular.
- b) Mecanismo de separación sólido-líquido.
- c) Mecanismo de separación líquido-líquido.

FIGURA 7. Sección transversal de una centrifuga de rotor de discos

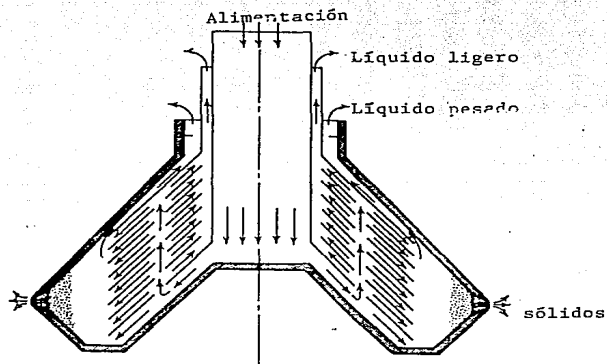


TABLA 3. Propiedades de diferentes Centrífugas.  
(Modificada de Kanster, 1987).

Tipo de centrífuga	Ventajas	Desventajas	Detalles* técnicos*
Canasta**	Buena eliminación de agua, limpieza fácil, posible lavado de sólidos.	Capacidad limitada de sólidos, recuperación de sólidos laboriosa, fuerza centrífuga baja, operación discontinua.	N=500-2500 Z=300-1500 Σ=900-1800
Decantadora** de filtro	Posibilidad para clasificar diferentes sólidos, es posible lavado de sólidos, operación continua.	Fuerza centrífuga baja.	N=500-1000 Z=300-1500
Rotor tubular	Buena eliminación de agua, fuerza centrífuga alta, limpieza y desmontaje del rotor fácil, es posible centrifugar fluidos viscosos.	Limitada capacidad de sólidos, recuperación de sólidos laboriosa, operación discontinua.	N=1300-18000 d=75-150 Z=13000-17000
Rotor Multicamaras	Soporta alta concentración de sólidos, no pierde eficiencia al llegar a la capacidad máxima de sus cámaras.	Recuperación de sólidos laboriosa, operación discontinua.	N=5000-10000 d=125-530 Z=6000-11400
Decantadora por sedimentación	Soporta fluidos con alta concentración de sólidos, descarga continua de sólidos, es posible refrigerar el rotor.	fuerza centrífuga baja.	N=700-2500 Z=350-1400 Σ=900-2300
De discos	Operación continua o discontinua depende del tipo de centrifuga, Σ alta, posibilidad de refrigerar, -- separa partículas muy pequeñas.	eliminación pobre de agua.	N=3000-10000 Z=4000-15000 Σ=3000-240000

\*d= diámetro del rotor en mm, N= rpm, Σ= m<sup>2</sup>

Z= fuerza centrífuga

\*\* se ilustran en la figura 13



que los sólidos fluyan a lo largo de su superficie antes de que se depositen en el disco, pero sin perder la ventaja de ser una distancia corta de sedimentación.

Hay cuatro tipos de centrifugas de discos (figura 8). La principal diferencia entre cada una de ellas es el mecanismo por el cual descargan los sólidos y del contenido de sólidos que pueden manejar. A continuación se hará énfasis en cada una de ellas. Adicionalmente en la tabla 4 se muestran sus principales características.

#### b1) Centrifuga de rotor sólido .

La centrifuga de rotor sólido es la mas simple y económica de las centrifugas de rotor de discos, los sólidos se acumulan en la pared interna del rotor y para removerlos es necesario parar y desmontar la centrifuga, lo cual es una desventaja. Para que su operación no presente inconveniente es necesario fluídos con contenidos de sólidos de hasta 1%.

El uso mas común es en la separación de dos líquidos inmiscibles sin sólidos o con bajo contenido de ellos. Un ejemplo es la eliminación de agua y partículas sólidas de aceite, en la figura 8a se muestra tal aplicación. También se pueden utilizar en la separación de sólidos-líquido, con ayuda de un disco especial.

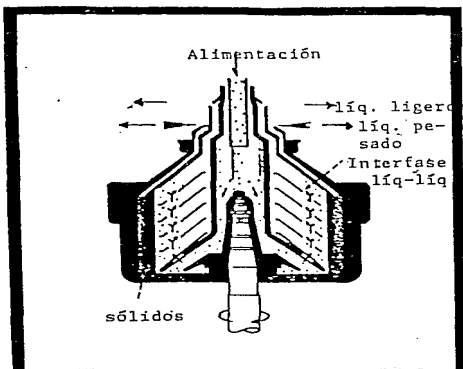
#### b2) Centrifuga de boquillas.

Las centrifugas de boquillas descargan en forma continua los sólidos (como un fluido concentrado de sólidos), esto lo hacen a través de boquillas localizadas en el diámetro mayor del rotor (figura. 8b).

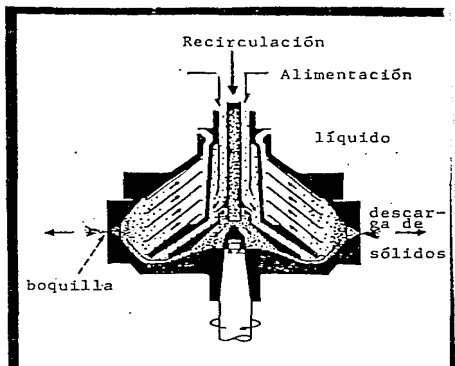
Este tipo de centrifugas pueden manejar fluidos con un contenido de sólidos del 20% como máximo. Una centrifuga de boquillas de 36 pulgadas (0.91 m) de diámetro produce valores de Z arriba de 6,000 g, puede ser alimentada a 1,000 gpm y descargar una suspensión concentrada a un flujo de 600 gpm (West, 1985). Han sido diseñadas para minimizar el taponamiento y desgaste de sus boquillas y pueden manejar sólidos muy compactos ó pegajosos. La abertura de sus boquillas es de 0.5 a 3 mm, con 2 a 24 boquillas dependiendo del tamaño de la centrifuga. Para evitar taponamiento la alimentación se prefiltra antes de entrar a la centrifuga para remover sólidos mas grandes que el diámetro medio de las boquillas, dichas boquillas estan construidas con materiales tales como tugsteno, boro, zafiro, ó diferentes tipos de cerámicas.

Para obtener el máximo de concentración de sólidos, el fluido concentrado se puede recircular descargandolo en la cercanía de las boquillas. (figura 8b).

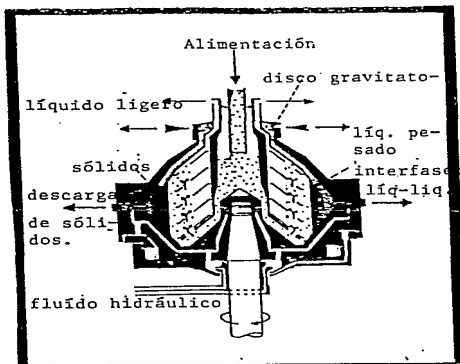
Debido a que estas centrifugas descargan grandes cantidades de sólidos continuamente, requieren casi del doble de energía que otros tipos de centrifugas de discos. Por ejemplo una centrifuga



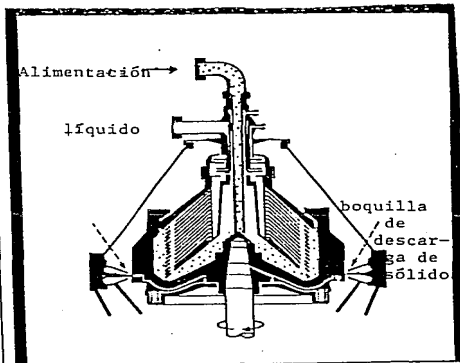
a. CENTRIFUGA DE ROTOR SOLIDO



b. CENTRIFUGA DE BOQUILLAS DE DESCARGA DE SÓLIDOS CONTINUA



c. CENTRIFUGA DE EYECCION DE SÓLIDOS



d. CENTRIFUGA DE BOQUILLAS DE VALVULA

FIG. 8 Diferentes tipos de rotores de centrifugas de discos.

79.

de disco sólido de 24 pulgadas (0.61 m) de diámetro necesita de 5 a 10 Hp, mientras una centrifuga de boquillas con las mismas dimensiones necesita de 10 a 25 Hp.

Estas centrifugas se emplean principalmente para concentrar sólidos de una suspensión diluida, su capacidad máxima de concentración es 1:20. También se utilizan en procesos de lavado. El líquido de lavado se alimenta directamente pasándolo en frente de las boquillas, como en el caso de la recirculación de la corriente concentrada.

### b3) Centrifugas de "Eyección de sólidos".

Estas centrifugas han desplazado a la centrifugas de rotor sólido en muchas aplicaciones, aunque su costo es casi el doble y requieren mas energía. Sin embargo reducen el tiempo de centrifugación, no es necesario parar para descargar los sólidos y pueden limpiarse *in situ*.

El rotor esta dividido en dos partes con un junta elástica entre ellas (figura 8c). La parte de arriba es fija, la parte de abajo esta sostenida por presión hidráulica, cuando esta presión se libera, esta parte se mueve hacia abajo permitiendo que se abran los orificios que se encuentran alrededor del rotor, y de esta manera descargan los sólidos. El periodo entre descarga y descarga puede ser de algunos segundos a algunas horas, pero lo mas recomendable es no mas de una vez por minuto. Los modelos mas recientes descargan en intervalos de 0.13 a 0.3 segundos.

En la figura 8c se muestra la aplicación en una separación sólido-líquido-líquido. Para asegurarse que las dos fases líquidas sean descargadas, la interfase líquido-líquido debe mantenerse dentro del diámetro de la parte superior del disco. La localización de la interfase se puede ajustar colocando anillos de diferente diámetro dentro del área de descarga de la fase pesada. Estos anillos se emplean también para separaciones líquido-líquido en los otros tipos de centrifugas de discos.

La eyección de sólidos se puede llevar a cabo en forma automática mediante dos mecanismos: en el primero de ellos un flujo parcial del producto es empleado como control de la eyección de sólidos. Si este flujo es interrumpido por la sedimentación de sólidos, la interrupción es usada como un impulso para iniciar la eyección de sólidos.

En el segundo mecanismo se hace mediante el monitoreo de la fase clarificada con una celda fotoeléctrica. Cuando el nivel de turbidez permisible se revasa, automáticamente se inicia la eyección de sólidos.

Las centrifugas de eyección de sólidos pueden limpiarse *in situ* y son ampliamente usadas en industrias de alimentos y farmacéutica.

TABLA 4 . Características de las centrifugas de discos.  
(West, 1985)

	Tipo de Centrifuga			
	Rotor Sólido	Boquillas	Eyección de sólidos	Boquilla de válvula
Fuerza centrífuga (Z)	4000-8000	4000-8500	4000-7000	14000-15000
Velocidad de alimentación (gpm)	<0.1-400	10-1000	<1-400	1-150
(l/h)	<22.71-90340	2271-227100	<227.1-90840	227.1-34065
% de sólidos del fluido alimentado	<1	<20	<10	<20
Diámetro del rotor. (in)	6-24	6-36	8-32	24
(mm)	152.4-609.6	125.4-914.4	203.2-812.8	689.6
Area de sedimentación equivalente, $\Sigma$ (m <sup>2</sup> )	3000-150000	5000-240000	4000-140000	100000-130000
Intervalo del tamaño de partícula ( $\mu$ m)	0.5-200	0.5-200	0.5-200	0.5-200
Costo	bajo	bajo	alto	alto
Construcción	simple	simple	compleja	compleja
Descarga de sólidos	debe parar para descargar	continua	periodica	periodica
Estado de los sólidos obtenidos	pasta firme	corriente concentrada	pasta densa	pasta densa
Limpieza 'in situ'	no	si	si	si
Sello hermético	no	si	si	si
Operabilidad	debe de ser parada para limpiar	las boquillas se pueden erosionar o tapar		

b4) Centrifugas de boquilla de válvula.

Las primeras centrifugas de boquilla de válvula, eran básicamente centrifugas de boquillas adaptadas con válvulas para que proporcionaran una descarga intermitente mas que continua, este diseño fue muy complicado por lo que se diseñaron otras, como la mostrada en la figura 8d, en las cuales los sólidos se descargan por la parte inferior del rotor. Las válvulas en este caso son discos elásticos unidos a un anillo que a su vez esta sellado a la parte inferior del rotor. Cuando el anillo es forzado por presión hidráulica, todas las válvulas se abren al mismo tiempo y descargan sólidos. Estas centrifugas tienen la descarga mas rápida de todas las centrifugas de discos (de 0.07 a 0.10 segundos), comunmente tienen 12 válvulas y discos delgados espaciados por 0.4 mm. La centrifuga mas grande de esta clasificación tiene alrededor de 200 discos con un  $\Sigma = 120, 000 \text{ m}^2$ . Su máxima velocidad de alimentación es de 150 gpm. Sin embargo, para separar particulas finas (0.5-1  $\mu\text{m}$ ) sus flujos mas comunes son de 10 a 30 gpm. En general estas centrifugas comparadas con las de eyección de sólidos son 10 veces mas eficientes en la separación de sólidos del mismo tamaño, pueden retener de 2 a 3.5 galones de sólidos y se usan en la industria farmacéutica, de fermentación, cervecera, etc.

c) El tercer tipo de centrifugas por sedimentación son las Centrifugas decantadoras. Las principales partes de estos equipos son un rotor en forma de cono truncado y un transportador de tornillo sin fin interno para los sólidos, que ajusta cerradamente en el cono del rotor. Estas partes giran juntas, sin embargo, el transportador gira en una proporción de un 1/20 a 1/60 abajo de la velocidad de rotación del rotor, la alimentación se lleva a cabo a través del tornillo central y entra al rotor aproximadamente a la mitad del lado del cono (figura 9). La fuerza centrifuga obliga, tanto a la fase líquida como a la fase sólida a irse hacia las paredes del cono hasta su extremo mayor. Los sólidos, siendo mas densos, se concentran sobre las paredes del cono. El transportador de sólidos, tiene una rotación neta hacia el extremo menor del rotor y raspa los sólidos de las paredes del cono llevándolos hacia el extremo menor. Conforme se mueven los sólidos en esta dirección, reciben un lavado con agua limpia, que entra en la misma forma en que se lleva a cabo la alimentación. Finalmente se descargan en el extremo final del rotor cónico.

Los diámetros de rotor para estas centrifugas varían entre 4 y 54 pulgadas (0.1016 y 1.37 m). El equipo de 54 pulgadas puede separar hasta 50 toneladas de sólidos por hora, a pesar de que esta proporción se reduce si las particulas son especialmente pequeñas o si la fase líquida es viscosa. Estas unidades desarrollan un fuerza centrifuga de 600 g.

También se fabrican centrifugas de este tipo que entran en la clasificación de centrifugas por filtración, ya que las paredes del rotor cónico estan perforadas, y actúan exactamente como

FIGURA 9. DIAGRAMA DE CENTRIFUGA DECANTADORA

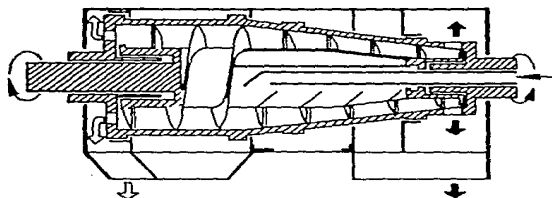
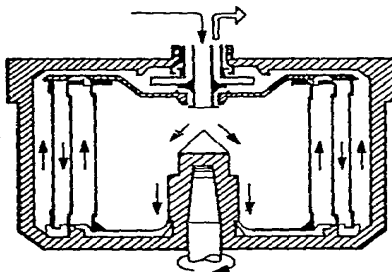


FIGURA 10. DIAGRAMA DE CENTRIFUGA MULTICAPAS



filtros, en los cuales el filtrado pasa a través de la torta y de la pared del rotor hacia un colector adyacente.

d) El cuarto y último tipo de centrifugas por sedimentación es la *Centrifuga multicámaras*, este tipo de centrifuga esta formada por un rotor cerrado subdividido en cámaras cilíndricas concéntricas verticales que operan en serie (figura 10). La alimentación se realiza por la parte central del rotor y viaja hacia las cámaras externas, se presenta un efecto de clasificación de sólidos ya que la fracción mas ligera queda en las cámaras externas y la fracción mas pesada en las cámaras internas. Estas centrifugas tienen gran capacidad de retención de sólidos, mayores de .075 m .

La limpieza de las centrifugas multicapas es mas difícil que las centrifugas de rotor tubular. La descarga se hace en forma manual y la alimentación esta limitada a suspensiones que contienen concentraciones de sólidos menores de 4-5%.

Trabajan a velocidades de 4500 a 8500 rpm, y flujos de 2.5 a 10 m<sup>3</sup>/hr y los rotores tienen de 335 a 615 mm de diámetro, se utilizan principalmente en la clarificación de cerveza, vino y jugos de fruta.

#### II). Centrifugas por filtración.

Las centrifugas por filtración en contraste con las centrifugas por sedimentación, existen en una amplia variedad de formas: continuas, automáticas y de operación por lote. Este tipo de centrifugas se usan normalmente para separar sólidos de suspensiones concentradas enriquecidos. Esta operación comunmente es acompañada por un lavado, aplicado a la fase sólida para reducir impurezas. Durante la operación la fase sólida se retiene sobre una medio filtrante permeable a través de la cual pasa el fluido, depositándose una torta de 2 a 20 cm y por la acción centrifuga esta casi puede seçarse.

La diferencia entre las centrifugas por sedimentación y las centrifugas por filtración es que las primeras tienen una pared sólida mientras que las últimas estan construídas por una pared perforada además el mecanismo de separación y las ecuaciones que lo describen son diferentes. En esta sección solo se enfatizará en los equipos mas comunes de centrifugas por filtración, sin entrar en las ecuaciones que describen su comportamiento. En la figura. 11 se esquematizan cuatro tipos básicos de centrifugas por filtración.

El equipo mas conocido es la centrifuga de canasta, el filtro es un cilindro poroso con perforaciones y un medio filtrante de baja resistencia al flujo, la suspensión se alimenta por la parte superior de la centrifuga, los sólidos acumulados en las paredes del rotor se pueden descargar en forma manual o bien por medio de una especie de cuchilla que se hace funcionar una vez formada la

torta. Los sólidos separados caen al fondo del rotor, los cuales se pueden recuperar en forma manual. En algunas centrifugas el rotor se abre en forma automática y de esta manera la recuperación de los sólidos se hace en forma continua.

a) Existen centrifugas de canasta automáticas que se controlan por tiempos, con velocidades variables que dependen de las diferentes etapas de operación (alimentación, lavado, secado y descarga). Las velocidades varían de 200 a 1200 rpm. Sin embargo, se forma una torta no uniforme que causa problemas durante la etapa de lavado. Existe un diseño de centrifuga denominado *Centrifuga por filtración automática por lote o centrifuga "peladora"*, que esta formada por un eje horizontal diseñado para operar a velocidad constante que además elimina periodos no productivos. Este equipo opera por ciclos: lavado del filtro, alimentación, lavado de la torta, escurrimiento y descarga.

El alimentador esta equipado con un indicador de nivel de la torta, que desactiva la válvula de alimentación cuando se ha llegado al nivel de torta deseado, después de que la torta se ha lavado y secado se descarga por la acción de una cuchilla interna, los sólidos caen a un vertedero a través de unas aberturas que estan frente al rotor.

#### b) *Centrifugas de "empuje"*

Estan formadas por un rotor cilindrico perforado que se ajusta a una malla de filtración. Dentro del rotor se encuentra un cono de alimentación y muy cercano a la malla esta un plato de empuje. La alimentación entra a la linea central (figura 11), se distribuye y acelera a la velocidad del rotor. La torta se acumula en el extremo posterior del rotor y el filtrado pasa a través de la malla. En forma intermitente la torta sufre un empuje hacia el extremo de descarga por acción del plato de empuje, el cual al regresar a su posición original, deja una región limpia lista para la formación de una nueva torta. De esta forma la torta se mueve a través de la superficie de la malla filtrante, hasta llegar a un colector de sólidos. A medida que los sólidos se mueven pasan a una sección de lavado, el líquido de lavado se recibe en un recipiente diferente al del líquido de filtrado.

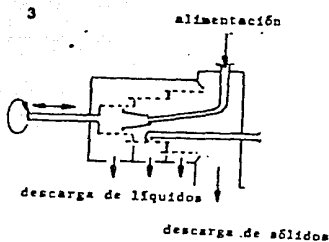
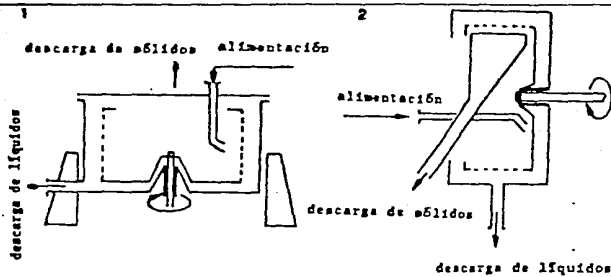
La frecuencia y tiempo de empuje se controlan externamente para optimizar la operación.

En la figura 11b se esquematiza una centrifuga de empuje multietapas, la cual esta formada por cilindros concéntricos que incrementan su diámetro en la dirección de descarga de sólidos. Cada sección de filtrado es relativamente corta, con su propio sistema de empuje.

Las centrifugas de empuje se utilizan para remover agua y lavar cristales y otros sólidos. La concentración de alimentación de las centrifugas de empuje convencionales debe ser superior a 35% en peso.

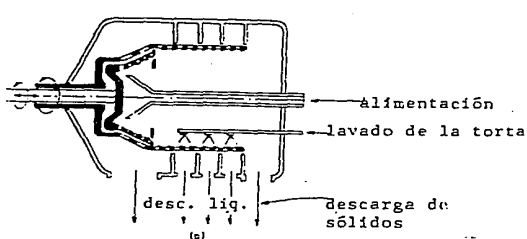


FIGURA 11. DIAGRAMA ESQUEMATICO DE CENTRIFUGAS POR FILTRACION.

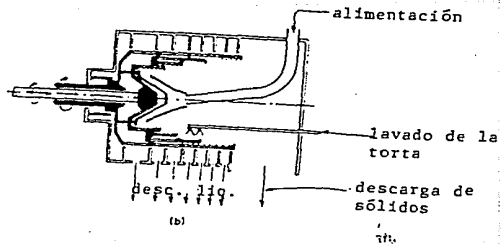


1. Centrifuga de canasta
2. Centrifuga "peladora"
3. Centrifuga de empuje.

11a. Detalle de dos tipos de centrifugas de empuje



centrifuga de empuje de un



centrifuga de empuje

### 3.3 Centrifugación de células microbianas y de restos celulares.

La separación sólido-líquido es una de las operaciones mas frecuentes en el aislamiento y purificación de productos biotecnológicos. La separación sólido-líquido usualmente cae dentro de las siguientes categorías:

- Separación de células completas del medio de fermentación,
- remoción de restos celulares de una corriente homogenizada,
- separación de proteínas precipitadas, y
- separación de sólidos adsorbentes.

Idealmente, el método de recuperación debe ser una operación económica, simple y segura, capaz de ser realizada a gran escala. Sin embargo, en la práctica estas condiciones se encuentran raramente. En particular, la recuperación de microorganismos del medio de fermentación es difícil, por la baja concentración a la cual se encuentran en el medio, por su naturaleza "gelatinosa, pegajosa", por su tamaño, y por la insignificante diferencia de densidad entre el medio de cultivo y el microorganismo.

La centrifugación se ha utilizado para resolver estos problemas. A nivel laboratorio no existen impedimentos para llevar a cabo esta operación dado que hay centrifugas capaces de desarrollar valores de  $Z$  de 1 000 000 g. Para realizar las separaciones mas críticas (por ejem. restos celulares) 20 000 g son suficientes. En este sentido las centrifugas de alta velocidad y las ultracentrifugas pueden llevar a cabo dichas separaciones. No obstante, son muy pocos los equipos nivel laboratorio capaces de generar valores de  $Z$  de 20 000 g y manejar grandes cantidades de material al mismo tiempo. Por ejemplo la centrifuga Sorvall RC 3-B o la Beckman J6 B pueden manejar 6000 ml (6 X 1000 ml) y generar valores superiores de 5000 g. La Sorvall RC5-B o la Bekman J2-21M, pueden manejar 3000 ml (6 X 500 ml) y generar valores de 13000 g. Algunas de estas centrifugas pueden utilizarse con rotores de flujo continuo, pero su capacidad se limita a 300-800 ml de sedimento.

Para operaciones a nivel piloto o industrial, uno de los factores que son críticos en la capacidad de separación de productos biotecnológicos es el tamaño de las partículas (Tabla 5).

En la separación de hongos por centrifugación, el problema que principalmente afecta la operación es la viscosidad (Tabla 6), dado que su morfología (esporas, hifas o agregados) da lugar a altas viscosidades. En centrifugas de discos, la máxima concentración a la cual una suspensión de células se puede alimentar depende de las características de flujo de dicha suspensión, por otro lado la velocidad de centrifugación

TABLA 5. Tamaño de las partículas biológicas y su relación con los costos de recuperación (Bowden, 1984).

Tipo de sólidos	tamaño ( $\mu\text{m}$ )		
Restos celulares	<0.4 x 0.4	incremento en	
células bacterianas	1 x 2	tamaño	
células de levaduras	7 x 10	↓	
hifas o bacterias filamentosas	1-10		↑
flóculos	100 x 100		incremento en costos de recup.

TABLA 6. Viscosidades aparentes de sistemas biológicos (Bowden, 1984)

Concentración de sólidos (peso seco) $\text{g}/\text{dm}^3$	viscosidad aparente (cp).	
	restos celulares, bacterias, levaduras	hongos (micelio)
2	1.2	30
10	1.3	900
20	1.5	8,000
30	2	40,000
70	3.5	grande

es inversamente proporcional a la viscosidad del medio (ecuación 3).

Por muchos años la centrifugación se ha utilizado para recuperar levaduras de medios de fermentación en la industria cervecera, sin embargo, en el caso de las bacterias, por ser aproximadamente 10 veces mas pequeñas que las levaduras, la capacidad de una centrifuga se reduce por un factor de 100, ya que el flujo es proporcional al cuadrado del diámetro (ecuación 3).

Se han desarrollado modelos de centrifugas específicamente para células bacterianas, basadas en el incremento de la velocidad de rotación, dichos modelos desarrollan valores de Z de 14 000 a 15 000 g. Dado que el esfuerzo mecánico de una centrifuga es proporcional al cuadrado del diámetro del rotor (Perry, 1973):

$$S_s = 4.11 \times n^2 D_r^2 \rho_r \quad (16)$$

donde:  $S_s$  = tensión ( $\text{lb}_f/\text{plg}^2$ ),  $D_r$  = diámetro del rotor,  $n$  = rpm  
 $\rho_r$  = densidad del material de construcción del rotor (libras/ $\text{pie}^3$ ).

Los diseños de estas centrifugas han requerido de implementaciones costosas en su diseño mecánico.

En el caso de separación de restos celulares, el tamaño de las partículas a remover entra en la categoría de submicrones (0.4 a  $0.5 \mu\text{m}$ ). Además, al liberarse los componentes celulares las propiedades de la suspensión, tales como viscosidad y densidad se modifican, afectando en forma negativa la sedimentación de los sólidos de tal forma que la operación se complica. Es importante elegir el método de ruptura apropiado, con el fin de facilitar el proceso de separación de restos celulares.

Las centrifugas mas utilizadas a escala industrial para la separación células bacterianas y restos celulares, son las centrifugas de discos y las centrifugas tubulares.

Para una centrifuga de discos de dimensiones y características dadas, la determinación de los parámetros de operación de un proceso particular se llevan a cabo en forma empírica.

El flujo de operación seleccionado, será aquel que de lugar a la obtención de un sobrenadante transparente, el tiempo entre descarga y descarga de sólidos, en el caso de las descarga intermitente será aquel que minimice la salida de líquido

mientras se permite la salida de sólidos. Si la velocidad de alimentación es muy alta, los sólidos serán arrastrados por el líquido, si el tiempo entre descarga y descarga es muy corto los sólidos contendrán exceso de líquido.

Las centrifugas de discos disponibles comercialmente son distribuidas por de  $\alpha$ -Laval, New York, USA; Wesfalia Separator Ltd., Wolverton, Bucks, U K; Bird Machine Co., South Wolpole, Massachusetts, USA, etc.

En la tabla 7 se resumen las aplicaciones y limitaciones de la centrifugas de discos para diferentes sistemas y en la tabla 8 las características técnicas de dos centrifugas de discos comercialmente disponibles.

Las centrifugas tubulares comercialmente disponibles son: Sharples Stokes Pennwalt de Carl Padberg, Lahr, West Germany.

En la tabla 9 se mencionan los modelos disponibles así como algunos datos técnicos.

De la misma forma que para centrifugas de discos, los parámetros de operación se determinan en forma empírica.

En la separación de algunas proteínas precipitadas y sólidos adsorbentes se utilizan las centrifugas por filtración. Estas centrifugas se utilizan principalmente en la purificación de enzimas adsorbidas a intercambiadores iónicos u otras resinas y para regenerar o equilibrar intercambiadores iónicos.

Dichos equipos están disponibles en varios tamaños por los productores: Carl Padberg, Lahr, West Germany y Thomas Broadbent, Huddersfield, UK, entre otros.

En la tabla 10 se proporcionan datos de algunas aplicaciones de las diferentes centrifugas en la separación de productos biotecnológicos.

TABLA 7. Resumen de aplicaciones y limitaciones de las centrifugas de discos para diferentes sistemas (Bowden, 1984).

Sistema	Máximo % de recup. para un pase.	Comentarios
Restos celulares 0.4 x 0.4 mm	90-95	centrífuga de discos semicontinua (válvula de descarga).
Bacterias	95-98	centrífuga de discos del tipo de boquillas de válvula y de boquillas, depende de la concentración de la alimentación.
Levaduras	95-98	igual
Hifas	----	la alta viscosidad a concentraciones relativamente bajas causa muchos problemas.
Flóculos	95-98	centrífuga de discos de los tipos boquilla de válvula y de boquillas, centrifugas decantadoras; depende de la concentración de la alimentación. Los flóculos pueden ser susceptibles a esfuerzos de corte.
Agregados ("Pellets")	95-98	igual, con excepción de que no se presentan problemas de esfuerzo de corte.

TABLA 8. Datos técnicos de dos centrifugas de discos Alfa Laval utilizadas en procesos biotecnológicos (Quiler, 1984).

Datos técnicos	Modelo AX	Modelo UX
Z	14200	6500-8400
Tamaño de partícula separado	<0.5 $\mu$ m	<1 $\mu$ m
Descarga de sólidos	boquillas intermitente	boquilla continuo
Capacidad	>450 m <sup>3</sup> /h	>40 m <sup>3</sup> /h
Alimentación típica	bacterias 4m <sup>3</sup> /h	levaduras 170m <sup>3</sup> /h

TABLA 9. Datos técnicos de centrifugas tubulares comerciales (datos proporcionados por Sharples Stokes S.A. de C.V.)

Datos técnicos		AS 16	Modelos AS 26	minisharples (motor elect)
Velocidad máx. del rotor	- rpm	15000	15-17000	12000
Fuerza centrífuga	- xg	13200	500-20000	3542
Cap. total del rotor	- L	6.3	8.8	---
Cap. de sólidos del r.	- L	3.5	5	0.25
Diámetro interno del r.	- mm	105	124	44
Longitud interna del r.	- mm	725	725	195
Peso del rotor vacío	- kg	17	25	---
Peso del rotor lleno	- kg	21	31	---
Peso de la unidad	- kg	410	490	29.5
Potencia del motor	- kW	1.5	3	0.0745
$\Sigma$	- m <sup>2</sup>	2422	285.2	89.5

TABLA 10. Aplicaciones de diferentes tipos de centrifugas en la separación de productos biotecnológicos (Belder, 1988).

Producto	Microorganismo	Tamaño ( $\mu\text{m}$ )	Velocidad de alimentación relativa en la centrifuga	Tipo de separador
Levadura de:				
	Saccharomyces	7-10	100	Boquillas
	Saccharomyces	5-8	70	Boquillas
Alcohol	Saccharomyces	5-8	60	Eyección de sólidos
Proteína unicelular	Candida	4-7	50	Boquillas, decantado- ra
Acido citrico	Hongos	-	30	Eyección sólidos,
Antibióticos	Hongos	-	20	decantado- ra
Antibióticos	Actinomicetos	10-20	7	Eyección de sólidos
Enzimas	Bacillus	1-3	7	Boquillas
Vacunas	Clostridia	1-3	5	Rotor sólido.



TABLA 11. Métodos para mejorar y acondicionar sistemas biológicos (Bowden, 1984).

Método	Observaciones.
<b>Física</b>	
Calentamiento	Reduce la viscosidad de la suspensión, promueve la agregación de partículas.
<b>Químicos.</b>	
Coagulación	Adición de iones metálicos multivalentes. La carga de las partículas se afecta, y se promueven mecanismos de agregación.
Floculación	Adición de polímeros orgánicos, sintéticos o naturales o polielectrolitos, dando lugar a la formación de puentes entre las partículas.
pH	Agregación de partículas altamente dependientes de pH.
<b>Biológicos</b>	
Edad	Cambios de las características superficiales de las células durante diferentes etapas de su crecimiento. Muchas bacterias tienden a flocular durante la fase estacionaria.
Genético	Se han identificado los genes responsables de la floculación, y se han insertado en microorganismos para lograr su floculación.

### 3.4 Métodos para mejorar y facilitar la centrifugación.

En algunos sistemas biológicos es muy difícil realizar la separación sólido líquido, principalmente por el tamaño de la partícula, esto es particularmente importante en la separación de restos celulares. Por esta razón muchos sistemas biológicos requieren de un tratamiento previo, el cual tiene como objetivo aumentar el tamaño de la partícula, para facilitar de esta manera su separación por centrifugación. En la tabla 11 se enlistan los métodos para mejorar y acondicionar sistemas biológicos.

La floculación es uno de los métodos mas empleados y consiste en la adición de compuestos que promueven el aglomeramiento de las partículas, de tal forma que tenemos partículas de mayor. La floculación puede ocurrir en forma reversible si las cargas de la superficie de las partículas se neutralizan por cargas opuestas, e irreversiblemente si las moléculas de polímeros cargados forman puentes entre las partículas.

Los agentes floculantes incluyen sales inorgánicas, minerales, hidrocoloides y polielectrolitos orgánicos. En la elección del agente floculante se deben considerar factores tales como la naturaleza de las partículas, fuerza iónica del microambiente y temperatura. Una vez elegido el floculante, se debe tener cuidado en seleccionar la concentración adecuada, para evitar el arrastre de moléculas que no deseamos separar del sobrenadante.

Otro pretratamiento muy sencillo, pero que solo se puede aplicar a sustancias termoestables es el calentamiento. Cuando una suspensión de partículas de origen proteico se calienta tiende a coagular formándose aglomerados de partículas de tamaño mayor, este tratamiento también reduce la viscosidad del fluido.

Los ácidos y las bases cambian el pH dando lugar a que las cargas de las partículas se neutralicen, promoviendo de esta manera su precipitación.

Estos pretratamientos son diseñados basicamente en forma empírica y pueden significar una gran ayuda, sin embargo, presentan ciertas limitaciones ya que pueden contaminar al sistema y dañar el producto de interés.

En la tabla 12, se mencionan algunos procesos que incorporan pretratamiento en la recuperación de sus productos. 74.

TABLA 12. Procesos que incorporan pretratamiento en la recuperación de sus productos (Bowden, 1984).

Producto	Pretratamiento	Operación empleada* en la recuperación.
Penicilina G	floculación del microorg.	frv
Cefalosporina	" " "	frv
Glucosa isomerasa	" " "	frv
Vitamina B12	" " "	frv
Enzima extracelular	" " "	frv, fp, cent
Enzima intracelular	floculación después de ruptura mecánica.	frv, fp, cent.
Bebidas alcoholicas	autofloculación	frv, fp,
Polisacaridos	acondicionamiento por ca- lentamiento o químicos	frv, cent.
Proteina unicelular	floculación	sed, flot, cent.

\*frv, filtro rotatorio al vacío; fp, filtro prensa; cent, centrifugación; sed, sedimentación; flot, flotación.

#### 4. OPERACIONES UNITARIAS ALTERNATIVAS A LA CENTRIFUGACION.

Además de la centrifugación existen otras operaciones unitarias que tienen el mismo objetivo, y en muchas ocasiones son más convenientes de usar, ellas son la filtración tradicional y la filtración por flujo tangencial (microfiltración).

##### 4.1 Filtración.

La filtración es una operación que tiene como objetivo la separación de un sólido del fluido en que se encuentra, la separación se lleva a cabo forzando el fluido a través de una membrana porosa. Las partículas sólidas son retenidas por la membrana y forman una capa sobre la superficie de la misma. El flujo de filtrado que pasa a través de la torta se describe por la ley de Darcy (Aiba et al., 1973):

$$\frac{dV}{dt} = \frac{\Delta p A}{\mu (R_m + R_c)} \quad (17)$$

donde: V es el volumen de filtrado  
t es el tiempo de filtración  
 $\Delta p$  es la caída de presión  
 $\mu$  es la viscosidad del fluido  
A es el área de filtración  
 $R_m$  resistencia del medio filtrante  
 $R_c$  resistencia de la torta acumulada.

La resistencia del medio filtrante es constante, independiente de la resistencia de la torta. En contraste, la resistencia de la torta  $R_c$ , varía con la cantidad de filtrado (V). La naturaleza exacta de esta variación depende de si la torta es o no incompresible.

Si la torta es incompresible, el espesor de esta es directamente proporcional al volumen de filtrado, y como resultado la resistencia de la torta  $R_c$  se describe por la siguiente ecuación:

$$R_c = \alpha \rho_o (V/A) \quad (18)$$

donde:  $\alpha$  es la resistencia específica de la torta  
 $\rho_o$  es la masa de torta acumulada por volumen de filtrado (M/V).

Sustituyendo en la ecuación 17 se obtiene:

$$\frac{dV}{dt} = \frac{\Delta p A}{\mu [\alpha \rho_o (V/A) + R_m]} \quad (19)$$

Integrando la ecuación 19 para  $t=0$  y  $V=0$  se obtiene:

$$\frac{At}{V} = K (V/A) + B \quad (20)$$

donde  $K = \mu\alpha\rho_0/2\Delta p$  (21) y  $B = \mu R_m/\Delta p$  (22)

Al graficar  $At/V$  contra  $V/A$  se obtiene una línea recta donde  $K$  es la pendiente y es función de la caída de presión y de las propiedades de la torta. El intercepto  $B$  es función de la resistencia del medio  $R_m$ , si se considera que esta resistencia es despreciable la ecuación 20 se simplifica y el tiempo de filtrado se describe por la siguiente ecuación:

$$t = \frac{\mu\alpha\rho_0}{2\Delta p} \frac{V^2}{A^2} \quad (23)$$

Desafortunadamente casi todos los materiales biológicos son compresibles y en consecuencia la velocidad de filtrado disminuye.

Para estimar el efecto de compresibilidad, se asumirá que la resistencia de la torta es función de la caída de presión:

$$\alpha = \alpha_0(\Delta p)^s \quad (24)$$

donde  $\alpha$  es una medida del tamaño y forma de las partículas que forman la torta, y  $s$  es una medida de la compresibilidad de la torta, varía desde cero, para partículas rígidas e incompresibles hasta valores cercanos a 1 para partículas altamente compresibles. En la práctica los valores de  $s$ , se encuentran en un intervalo de 0.1 - 0.8. Los valores de  $s$  y  $\alpha_0$  se pueden determinar fácilmente graficando logaritmo de  $\alpha$  contra el logaritmo de  $\Delta p$ , la pendiente de la recta es  $s$ . Cuando  $s$  es alto, será necesario hacer algún tipo de pretratamiento o bien utilizar filtro ayuda.

Los equipos de filtración tradicionales comúnmente usados en bioseparaciones son: los filtros prensa y los filtros rotatorios al vacío. En la tabla 13, se resumen las características de estos tipos de filtros en la recuperación de microorganismos.

El filtro prensa (figura 12a) ha sido el equipo de filtración mas ampliamente usado en la industria química, tiene la ventaja de que su costo inicial y de mantenimiento son bajos. Sin embargo, son unidades que llevan a cabo la operación de filtración por lote lentamente, generalmente requieren del uso de filtro ayuda y es necesario desarmarlos manualmente por lo que los costos de operación son altos. Se utilizan principalmente en procesos de biotecnología tradicional, para separar bacterias, levaduras

Tabla 13 . Velocidades relativas de filtración para diferentes sistemas (Bowden, 1984)

Sistema	Velocidad relativa
Restos celulares	1
Bacterias	5-10
Levaduras	10-30
flóculos	40-70
Agregados ("pellets")	100
Micelio	20

12a FILTRO PRENSA

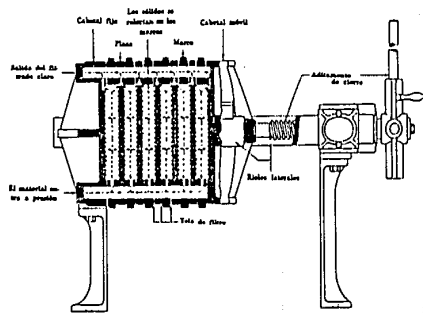
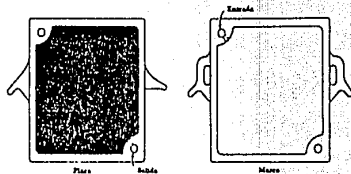


Diagrama esquemático de un filtro-prensa en operación.



Par formado por un marco y una placa, provistas de un orificio en dos de las esquinas.

12b FILTRO ROTATORIO AL VACIO.

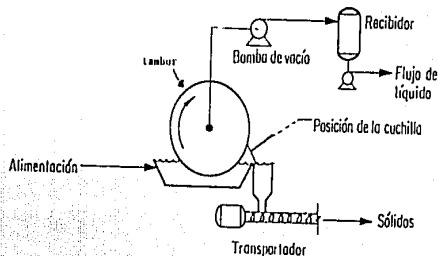


Diagrama esquemático de un filtro rotatorio al vacío en operación.

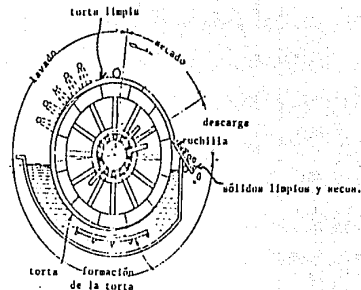


Diagrama esquemático del mecanismo de filtración de un filtro rotatorio al vacío.

Durante la filtración el filtro prensa permite la entrada de la suspensión hacia la superficie filtrante, entonces la pasta es forzada contra las superficies filtrantes y el filtrado sale.

La filtración se lleva a cabo en el momento en que el tambor se sumerge en el recipiente que contiene la suspensión de sólidos, aplicando vacío en el interior del tambor. Posteriormente la torta recibe sucesivamente un lavado y exprimido, y finalmente la torta se descarga con ayuda de una cuchilla.

y hongos de productos extracelulares y para la recuperación de precipitados de proteínas.

Los filtros rotatorios al vacío, (fig. 12b) son de operación continua o casi continua, sin embargo, como en el caso de los filtros prensa en muchas ocasiones se requiere del uso de filtros ayuda. Este equipo frecuentemente se usa en la recuperación de levaduras y micelio de caldos de fermentación. Los microorganismos miceliales son relativamente grandes y fibrosos por lo que su separación por filtración es fácil. Esta operación es muy utilizada en la industria de producción de antibióticos por fermentación.

La centrifugación y la filtración son función del tamaño de partícula, este factor es determinante en la selección del filtro y en la decisión de emplear filtro ayuda o de algún pretratamiento. Sin embargo, el aspecto económico de la filtración no es función del diámetro de la partícula, como en el caso de la centrifugación.

En muchos casos, los productos son inestables (ejem. proteínas), y el rendimiento es función del tiempo de proceso y en otros es más importante obtener el mayor rendimiento.

Los factores técnicos afectan significativamente la decisión de utilizar una u otra técnica de separación, entre las cuales se encuentran: compatibilidad con las condiciones existentes, con el resto del proceso, grado de pureza del producto requerido y preferencias individuales o de la compañía. Por ejemplo en una compañía donde solo se usan operaciones de filtración y se desea hacer una ampliación, el hecho de adquirir una centrífuga puede resultar una desventaja. Por otro lado si dentro del proceso de separación y purificación de una proteína se requiere usar algún tipo de cromatografía, es muy probable que gel no tolere restos celulares, la microfiltración es una buena alternativa para obtener un sobrenadante transparente, ya que la centrifugación en el mejor de los casos dejará 1% de los sólidos iniciales en el sobrenadante. En algunos procesos de filtración se requiere filtro ayuda, el cual puede contaminar la proteína de interés, en tales casos la centrifugación es la mejor alternativa. Finalmente, las preferencias individuales o de la compañía se deben considerar. En muchas ocasiones la diferencia en costos entre una operación u otra es insignificante con respecto a el costo total del producto. En estos casos la preferencia del personal operario puede ser el mejor criterio de decisión.

En general, las técnicas de filtración para la recuperación de productos biotecnológicos, presenta una serie de desventajas. La compresibilidad de la torta, como ya se mencionó es el problema más importante, especialmente en las



operaciones por lote. La velocidad de filtración inicialmente es alta, pero cae rápidamente durante el transcurso de la filtración, para reestablecer la velocidad de filtración inicial se puede aplicar mayor presión, sin embargo la torta se puede colapsar, dando lugar al bloqueo total del filtro. Este es un problema que particularmente se presenta durante la separación de restos celulares aún empleando filtro ayuda. En la tabla 13 se indican las velocidades de filtración para diferentes sistemas, observándose que la filtración de restos celulares es la mas difícil.

#### 4.2 Filtración tangencial.

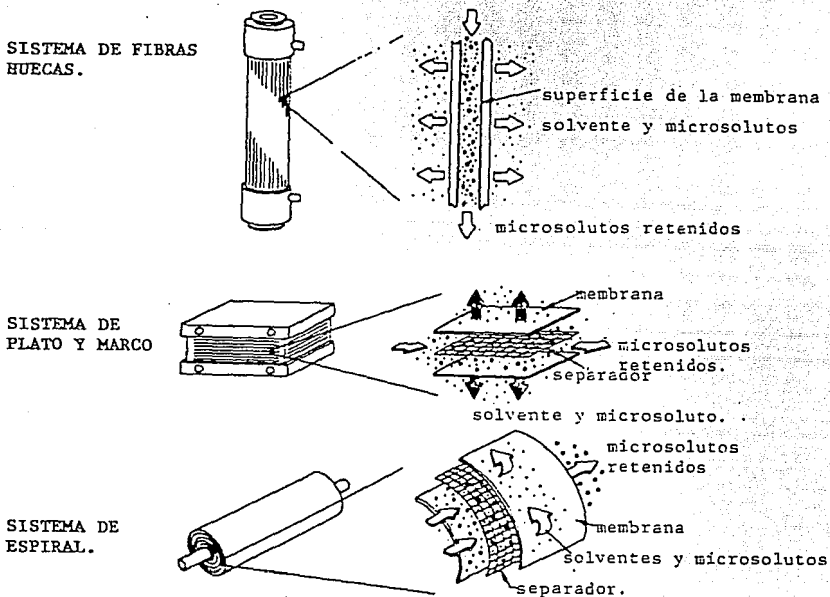
La filtración tangencial puede ser descrita como una forma especial de filtración estática donde el objetivo es evitar la formación de la torta en la superficie del filtro por removimiento constante de las partículas con esfuerzos de corte tangenciales.

La clave de la microfiltración es el medio filtrante, denominado membrana. Las membranas se pueden clasificar en dos tipos en términos de su microestructura: simétricas, asimétricas, las primeras consisten de un material como esponja, la superficie es la que lleva a cabo la filtración, el resto sirve de soporte, las membranas asimétricas están formadas por una membrana delgada de poros finos soportada por material poroso. Los equipos empleados en esta operación difieren en su geometría los principales son de plato y marco, tubulares y de fibras huecas (figura 13).

La filtración tangencial es una operación es ampliamente utilizada, principalmente a nivel laboratorio. Al igual que otras operaciones tiene limitaciones, por ejemplo suspensiones de alta viscosidad como medios miceliales, no se pueden separar por microfiltración, es mejor emplear la filtración. De las limitaciones mas severas que presenta la microfiltración es el taponamiento de la membranas, y esto se ve reflejado en el decaimiento del flux (flujo volumétrico/área) con el tiempo. En algunos sistemas este fenómeno es reversible, sin embargo, cierto tipo de moléculas se pueden adsorber sobre la superficie de las membranas obstruyendo sus poros y convirtiendo el fenómeno en irreversible. Esto se presenta cuando se tratan de separar restos celulares y también sucede con los antiespumantes que se adicionan a las fermentaciones. En la tabla 14 se presenta la comparación relativa entre la centrifugación y la microfiltración, se puede observar que los principales problemas de la microfiltración es la escala de operación y el taponamiento de las membranas.

Para concluir con este punto en la tabla 15 se resumen las ventajas y desventajas de las operaciones unitarias centrifugación, filtración y microfiltración.

FIGURA. 13. Geometrias de los equipos de microfiltración y ultrafiltración.



El sistema de plato y marco proporciona flux bajos pero es fácil de reparar, el sistema de fibras huecas proporciona flujos altos pero es difícil de limpiar y reparar, la geometría de espiral es intermedia.

TABLA 14. COMPARACION RELATIVA ENTRE LA CENTRIFUGACION  
LA MICROFILTRACION

	CENTRIFUGACION	MICROFILTRACION
<b>Limitaciones del proceso</b>		
<b>1. Escala de operación</b>		
pequeña	9	9
media	9	9
grande	9	2
<b>2. Contención biológica</b>		
operatividad	8	9
limpieza	7	7
<b>3. Estabilidad del pcto.</b>		
esfuerzo de corte	6	7
temperatura	7	9
<b>4. Limitaciones de espacio</b>	9	6
<b>5. Requerimientos del estado final del pcto.</b>		
pasta	8	5
corriente conc.	9	9

CONTINUA.....

## Propiedades de la alimentación

1. Tamaño de partícula		
grande ( $>5\mu\text{m}$ )	9	7
pequeña ( $<5\mu\text{m}$ )	7	7
2. Diferencia de densidad		
menor de $2 \text{ kg/m}^3$	2	10
3. Concentración de sólidos		
baja ( $<15\%$ )	8	8
alta	3	6

## Requerimientos de separación

1. Grado de sep. ( $>99\%$ )	5	9
2. Lavado	6	9
3. Mínimo contenido de líquido en los sólidos	7	4
4. Capacidad de alimentación	8	5

## Aspectos económicos.

1. Costos de capital	6	8
2. Costos de mantenimiento	6	9
3. Costos de operación	7	6
4. Costo de refacciones	7	5

La escala de calificación esta entre 1 y 10, significa entre mayor sea el valor adjudicado es mejor.

TABLA 15. VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LAS OPERACIONES, CENTRIFUGACION, FILTRACION Y MICROFILTRACION

	CENTRIFUGACION	FILTRACION	MICROFILTRACION
VENTAJAS	<ul style="list-style-type: none"> <li>-DISEÑO COMPACTO</li> <li>-COMPATIBILIDAD CON PROCESOS CONTINUOS</li> <li>-CONTENCION BIOLOGICA BUENA</li> <li>-TIEMPO DE RETENCION CORTO</li> <li>-CONTROL EN LA EFICIENCIA DE SEPARACION FACIL</li> <li>-RELATIVAMENTE ECONOMICA A GRAN ESCALA</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-COSTOS DE CAPITAL Y MANTENIMIENTO BAJOS</li> <li>-OPERACION FACIL DE REALIZAR</li> <li>-SE PUEDEN EMPLEAR SUSPENSIONES VISCOSAS (DE PARTICULAS GRANDES)</li> <li>-RELATIVAMENTE ECONOMICA A GRAN ESCALA</li> <li>-EL LAVADO DEL PRODUCTO ES SIMPLE</li> <li>-LA OPERACION PUEDE SER EN LOTE O EN CONTINUO</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-RECUPERACION DE SOLIDOS DEL 100%</li> <li>-EL LAVADO DEL PRODUCTO ES SIMPLE</li> <li>-LA OPERACION SE PUEDE LLEVAR CABO POR LOTE, DE UN SOLO PASE O EN MULTISTADOS.</li> </ul>
DESVENTAJAS	<ul style="list-style-type: none"> <li>-COSTOS DE CAPITAL Y MANTENIMIENTO ALTOS</li> <li>-SE PUEDE CAUSAR DAÑO A LOS PRODUCTOS BIOLOGICOS</li> <li>-LA TEMPERATURA SE INCREMENTA SIGNIFICATIVAMENTE AUN A BAJOS FLUJOS DE ALIMENTACION</li> <li>-LOS PORCENTAJES DE RECUPERACION ESTAN ALREDEDOR DEL 90% O MENOS</li> <li>-ALGUNOS PROBLEMAS DE LIMPIEZA Y ESTERILIZACION</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-NO SE PUEDE UTILIZAR PARA SOLIDOS COMPRESIBLES</li> <li>-LOS PRODUCTOS BIOTECNOLOGICOS GENERALMENTE REQUIEREN FILTRO AYUDA</li> <li>-PROBLEMAS DE ESTERILIDAD</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-EL FLUJO DEL FILTRADO ES DEPENDIENTE DEL TIEMPO</li> <li>-LOS COSTOS DE REEMPLAZAMIENTO DE MEMBRANAS Y BOMBEO SON ALTOS</li> <li>-TIEMPOS DE RETENCION ALTOS</li> <li>-ES INCOSTEABLE A GRAN ESCALA</li> <li>-POSIBLE PERDIDA DE ACTIVIDAD BIOLOGICA DE LOS PRODUCTOS</li> </ul>

## 5. SELECCION DE CENTRIFUGAS POR SEDIMENTACION NIVEL INDUSTRIAL

Las centrifugas industriales son equipos de alta velocidad diseñadas sobre bases mecánicas que no se pueden modificar fácilmente. En particular sus rotores se exponen a fuerzas radiales tremendas, así los tamaños del rotor contrastan con la velocidad a que se pueden manejar debido a la resistencia que pueden soportar sus materiales estructurales. Por esta razón, cuando se requiere llevar a cabo una centrifugación a nivel industrial, se debe partir del hecho que los equipos de centrifugación ya existen y no de que estos se pueden diseñar ad hoc. Por lo tanto hablar de escalamiento de la operación centrifugación, se refiere mas bien a la selección de la centrifuga mas adecuada de las disponibles comercialmente. La selección final sera el resultado de conocimientos del sistema a centrifugar, de informacion reportada en la literatura y proporcionada por proveedores, de la experiencia propia y discusión con los diferentes proveedores.

En la selección de una centrifuga a nivel industrial, se requiere del conocimiento de datos que proporciona la operación a nivel laboratorio y de los requerimientos del proceso a nivel industrial. Entre ellos de puede mencionar: propiedades de la suspensión (tamaño y concentración de sólidos, (tablas 16 y 17), susceptibilidad de las partículas al esfuerzo de corte, si requieren pretratamiento, esterilidad, etc.. Por otro lado, tipo de equipos disponibles, costos incluyendo costo inicial del equipo, costos de operación, mantenimiento y otros factores.

Los datos a nivel laboratorio se obtienen comunmente de centrifugas de tubos. Esta operación la podemos considerar como una operación ideal, ya que obtenemos un sobrenadante transparente y una pasta de sólidos concentrada. El sobrenadante se separa sin mayor problema por decantación y los sólidos se recuperan fácilmente en forma manual. Esta diferencia debe ser considerada cuando se quiera escalar el proceso de nivel laboratorio a nivel piloto o industrial.

Existen dos parámetros por la cuales se puede obtener información muy útil en la selección de una centrifuga. El primero de ellos es de caracter cualitativo denominado tiempo equivalente ( $G_t$ ), y el segundo de caracter cuantitativo es el factor  $\Sigma$ . El tiempo equivalente esta dado por:

$$G_t = \frac{w - R_0}{g} - t \quad (25)$$

donde  $R_0$  es el radio máximo de la centrifuga.

La tabla 18 proporciona algunos valores de  $G_t$  para diferentes sistemas.

Para la estimación del parámetro  $G_t$  existe una centrifuga

TABLA 16. Criterio de selección de una centrifuga en base a tamaño de partícula.

Tamaño de partícula ( $\mu\text{m}$ )                      0.1    1    10    100    1000    10000    100000

centrifuga clarificadora							
centrifuga auto-limp.							
centrifuga de discos							
centrifuga decantadora							
centrifuga de tornillo							
centrifuga "peladora"							
centrifuga de "empuje"							

TABLA 17. Criterio de selección de una centrifuga en base a contenido de sólidos en la alimentación.

concentración de la alimentación (% p/v)                      0    10    20    30    40    50    60    70    80    90    100

centrifuga clarificadora											
centrifuga auto-limp.											
centrifuga de discos											
centrifuga decantadora											
centrifuga de tornillo											
centrifuga "peladora"											
centrifuga de "empuje"											

TABLA 18. Valores de Gr para diferentes sistemas.  
(Belder, 1988).

Sólidos	valor de Gr ( $10^6$ seg)
Proteínas precipitadas	9
Bacterias	18
Restos celulares	54



pequeña disponible comercialmente denominada Gyro Tester, la cual esta equipada con tres rotores intercambiables. El primer rotor es una unidad para tubos, el segundo rotor es para separaciones líquido-líquido y el tercero es un rotor de discos con válvula de descarga para clarificación de suspensiones sólido-líquido.

El primer rotor es un sistema excelente para medir Gr. Esta unidad esta equipada con tubos graduados de 10 ml de capacidad, la centrifugación se puede llevar a cabo por intervalos de tiempo de 5 a 30 segundos, de esta manera el grado de sedimentación se observa cada determinado tiempo y como la fuerza centrifuga relativa es conocida, el valor de Gr se puede determinar fácilmente. Los vendedores de centrifugas industriales tienen información de valores de Gr para diferentes tipos de unidades industriales.

Una vez determinado el valor de Gr, se puede empezar a considerar una centrifuga de un valor similar al obtenido, sin embargo esta consideración debe tomarse como una aproximación muy burda.

El segundo parámetro utilizado para el escalamiento de centrifugas es el factor  $\Sigma$ , relacionada con el flujo de alimentación por medio de la ecuación 12:

$$Q = 2v_g E$$

donde  $v_g$  refleja las propiedades de los sólidos, y  $\Sigma$  las características de las centrifugas. En la tabla se encuentran las expresiones matematicas para calcular el factor  $\Sigma$ , para diferentes tipos de centrifugas.

Ya que se ha(n) elegido la(s) centrifuga(s) mas adecuada(s), se hacen pruebas en equipos piloto de los cuales se obtienen datos de Q y  $\Sigma$  mas confiables que los obtenidos en la centrifuga de tubos.

Con estos datos se puede escalar la operación utilizando la ecuación 14 o 15:

$$Q_1/\Sigma_1 = Q_2/\Sigma_2$$

Donde  $Q_1$  y  $\Sigma_1$  son valores de la centrifuga a nivel piloto  
 $Q_2$   $\Sigma_2$  son valores de la centrifuga a nivel industrial

El número, calidad y versatilidad de las centrifugas se han incrementado a medida que los procesos biotecnológicos lo han requerido, por lo que la selección final es difícil ya que cada proveedor ofrece una gran variedad de cada uno de los diferentes

tipos de centrifugas. Las siguientes preguntas dan una idea del tipo de consideraciones técnicas que se deben considerar en la selección de una centrifuga:

- Que fuerza centrifuga (g), desarrolla?
- Que tan exacto es el control de los flujos del clarificado y la alimentación?
- Es de descarga continua o intermitente?
- Cuanto liquido residual queda en la corriente concentrada?
- El equipo se puede limpiar *in situ* o es necesario desensambalar la centrifuga?
- Los esfuerzos de corte provocados por la centrifugación tendrán efectos destructivos sobre la actividad biológica del producto?
- Resistirá el material del rotor el uso prolongado?
- Que tan versátil es la centrifuga?
- Se puede controlar la emisión de aerosoles?

## 6. CONCLUSIONES.

La centrifugación es una operación elemental en los procesos de separación de procesos biotecnológicos, es mas costosa que la filtración y comunmente el producto contiene mas humedad que cuando la separación se lleva a cabo por filtración. Sin embargo, es una buena alternativa cuando la filtración es difícil o imposible. Existe una gran variedad de centrifugas. Aquí se han analizado principalmente las centrifugas por sedimentación: tubular y de discos. Las primeras son menos costosas, trabajan por lote y en pequeña escala; las últimas son mas costosas, comunmente continuas y con posibilidades de utilizarse a gran escala. El tercer tipo, son las centrifugas por filtración, en las que la fuerza centrifuga ayuda a que la el proceso de filtración se acelere.

Cuando se requiere llevar a cabo una centrifugación a nivel industrial, se debe partir del hecho que los equipos de centrifugación ya existen y no de que estos se pueden diseñar ad hoc. Por lo tanto hablar de escalamiento de la operación centrifugación, se refiere mas bien a la selección de la centrifuga mas adecuada de las disponibles comercialmente.

## 7. BIBLIOGRAFIA.

- Aiba, S., A.E. Humphrey y N. Millis (1973). *Biochemical Engineering*. Academic Press, New York
- Alfa Laval (1977). Microorganism harvest yields 98% recovery with high-rpm centrifuges. *Chemical Processing*. September, 154-155.
- Ambler, C. M. (1952). The evaluation of centrifuge performance. *Chem. Eng. Progr.*, 48, 150-158.
- Ambler, C.M. (1961). Centrifugation equipment-theory. *Ind.Eng. Chem.*, 53, 430-435.
- Axelsson, H.A.C. (1985). Centrifugation. En *Comprehensive Biotechnology* ed. Moo-Young M. vol. 2, 325-346. Pergamon Press USA.
- Belder, P.A., E.L. Cussler y W.-S. Hu. (1988). *Bioseparations, Processing for Biotechnology*, Wiley.
- Belder, P.A. (1985). Filtration of fermentation broths. En *Comprehensive Biotechnology*. ed. Moo-Young M. vol 2, 347-350. Pergamon Press USA.
- Bjurstrom, E. (1985). *Biotechnology. Chemical Engineering*, 92(4), 126-158.
- Bowden., C.P. (1984). Primary solid-liquid separation The recovery of micro-organisms from fermentation broth -A critical overview & state of the art, *The world Biotech Report.2*, 139-173.
- Datar, R., (1986). Economics of Primary Separation Steps in Relation to Fermentation ans Genetic Engineering. *Process Biochem*, feb., 19-26..
- Foust, A. S., Wenzel L.A., Clump, C.W. y Andersen, L.B. (1969). *Principios de operaciones unitarias*. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Gabler, F.R. (1985). Cell Processing Using Tangential Flow Filtration. En *Comprehensive Biotechnology*. ed. Moo-Young M. vol 2, 351-366. Pergamon Press USA.
- Hemfort, H., Kohlstette, W.(1988). Centrifugal clarifiers and decanters for biotechnology. Wesfalia separator (Technical Scientific Documentation No 5).
- Hsu, H-W. (1981). En *Separation by centrifugal phenomena*, ed. Edmond S. Perry., pag. 1-49 y 380-432. John Wiley.
- Kanstner., G.S. y C. F. Golker. (1987). *Basic Biotechnology*, ed.

John Bu'Lock y Bjorn Kristiansen, pag 173-179. Academic Press London.

Moyers, C.G. (1966). How to approach a centrifugation problem. *Chem. Eng.*, 73 June 20, 182-189.

Neville M., Fish y Lilly D.L. (1984). The interactions between fermentation and protein recovery. *Bio/technology*. 2, (7), 623-627.

Noveh, D. (1985). Scale-Up of fermentation for recombinant DNA products. *Food Technol.* 39(10), 102-109.

Perry, R.H., y Chilton, C.H. (1973). Centrifugation, section 19 Liquid-Solid System en *Chemical Engineers' Handbook*, 5a edition. pag. 19-87 a 19-100. Tokyo, Japan.

Quintero., R.R. (1981) *Ingenieria Bioquimica (teoria y aplicaciones)*. Alhambra Mexicana. México.

Quiler, J. (1984). Biotechnology. *En alfa-laval news*. información tecnica

Rickwood, D. (1984). *En Centrifugation a practical approach*. ed. D. Rickwood. England: Departament of Biology, University of Essex. Colchester. Irl Press. Oxford Washington DC.

Scawen, M.D. (1986). *En Bioactive Microbial Products 3 (Dawnstream Processing)*, ed. Stowell, J. D.; Bailey, P.J.; Winstanley, D.J., pag 77-101. Academic Press.

Sharples Stokes S.A. de C.V, Centrifuges for Pharmaceutical & Biotechnology Applications. Boletin tecnico 1500. USA.

Sharples (alfa-laval group), The sharples sterilizable super-centrifuge, AS-26SP

Sharples (alfa-laval group), The Sharples Biological Super Centrifuges AS-16VB.

Svarosvsky, L. (1979). Advances in solid-liquid separation I. *Chem Eng.*, Jul. 2, 62-76.

Svarosvsky, L. (1979a). Advances in solid-liquid separation II. *Chem Eng.*, Jul. 16, 93-105.

Svarosvsky, L. (1979b). Advances in solid-liquid separation III. *Chem Eng.*, Jul. 30, 69-78.

West, J. (1984). Disc Bowl Centrifuges, *Chem. Eng.* Jan. 7, 69-73.