

CARACTERÍSTICAS DE LA HIDRODINÁMICA DE UN BIORREACTOR INDUSTRIAL TIPO TANQUE AGITADO

HYDRODYNAMIC CHARACTERISTICS OF THE INDUSTRIAL STIRRED TANK BIOREACTOR

J. Raffo-Durán^{1*}, A. Figueredo-Cardero¹ y J.C. Dustet-Mendoza²

¹Centro de Inmunología Molecular. Calle 216 esq 15a, Reparto Atabey, Playa, CP 11600. La Habana, Cuba

²Instituto Superior Politécnico “José Antonio Echeverría”, CUJAE, Facultad de Ingeniería Química. Calle 114 No. 11901 entre Ciclovía y Rotonda, Marianao, CP 19390. La Habana, Cuba.

Recibido 12 de Diciembre de 2013; Aceptado 28 de Junio de 2014

Resumen

Este trabajo se propone el uso de la Dinámica de Fluidos por vía Computacional (DFC) y la experimentación para satisfacer las necesidades del conocimiento sobre los patrones de flujos y de otras magnitudes relacionadas con los mismos en un biorreactor industrial tipo tanque agitado para el cultivo de células animales, obteniéndose información sobre la hidrodinámica mediante la manipulación de los parámetros de operación flujo de aire y velocidad de agitación. Se propone un modelo matemático, usando la herramienta de DFC, obteniéndose con el mismo los campos de velocidades comparables con los informados en la literatura para un biorreactor con la misma geometría que el estudiado. Por la vía experimental fueron determinados el tiempo de mezclado y la distribución de tiempos de residencia (DTR) en la condición de operación del biorreactor (sin usar aireación), obteniéndose un patrón de flujo de mezcla perfecta para la fase líquida. Además se determinó el tiempo de mezclado mediante la DFC alcanzándose una buena aproximación con el obtenido experimentalmente. Se caracterizó la operación del biorreactor usando aire mediante un diseño experimental factorial 3^2 y se obtuvo que el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno (k_{La}) depende de las variables velocidad de agitación (N) y flujo de aire (Qa). Haciendo uso de correlaciones publicadas en la literatura se concluyó que en la condición de operación ocurre el fenómeno de inundación del impelente.

Palabras clave: biorreactor, tanque agitado, DFC, transferencia de masa gas-líquido, inundación del impelente, dispersión gas-líquido.

Abstract

This paper proposes the use of Computational Fluid Dynamics (CFD) to gain insight into the on flow patterns and other variables related to them in the industrial bioreactor for animal cell culture, and experimentation and to obtain information on the hydrodynamics by handling of the air flow and agitation operating parameters. We propose a mathematical model using the CFD tool, with which velocity fields comparable to those reported in the literature for a bioreactor with the same geometry as the one studied were obtained. By experimentation the time of mixing and the residence time distribution (RTD) were determined in the operating condition of the bioreactor (without aeration), and a flow pattern of perfect mix for the liquid phase was obtained. Also the mixing time was determined by CFD reaching a good approximation to that obtained experimentally. The operation of the bioreactor with air was characterized using a factorial experimental design 3^2 and the results obtained showed that the coefficient of volumetric oxygen transfer (k_{La}) depends on the variables stirring speed (N) and air flow rate (Qa). Using published correlations in the literature it was concluded that the phenomenon of flooding of the impeller occurs in the operating condition.

Keywords: bioreactor, stirred tank, CFD, gas-liquid mass transfer, flooding of the impeller, gas-liquid dispersing.

*Autor para la correspondencia. E-mail: jordan@cim.sld.cu
Tel. +53-53-83-56-36, Fax 00-00-00-00

1 Introducción

En la biotecnología de células animales los biorreactores tipo tanque agitado (BTA) son los más empleados y se operan a escala industrial en modo continuo, por lote alimentado o cultivo en perfusión. En este último modo de operación se alcanzan las más altas concentraciones celulares comparadas con los demás y generalmente se logra una mayor productividad. En la producción de biofármacos se utilizan biorreactores tipo tanque agitado con una capacidad de producción de varios kilogramos al año de proteínas recombinantes. Los BTA son fundamentales para los procesos biotecnológicos y por tanto es necesario conocer su funcionamiento interno para mejorar su eficiencia y obtener una mayor productividad. El incremento de la productividad, que es un indicador directo de la economía del proceso, en dichos equipos, depende mucho de las condiciones de operación y del uso de criterios de escalamiento apropiados.

La dinámica de fluidos en los reactores de tanques con agitación es compleja y provocó que en el pasado; el establecimiento de variables de operación, de escalamiento y los criterios de diseño se apoyasen casi totalmente en correlaciones empíricas. Para obtener las correlaciones debían ser realizados un gran número de experimentos y además el intervalo de validez de las mismas era solo aquel cubierto por los experimentos. Desafortunadamente las ecuaciones disponibles en la literatura han sido obtenidas para condiciones de agitación más rigurosas que las usadas en biorreactores para cultivar células animales (Calderbank 1958; van't Riet and Smith 1973; Middleton 1992; Doran 1995; Nienow 1998; Garcia Ochoa and Gomez 2004).

La dinámica de fluidos computacional (DFC) es una herramienta que permite la solución numérica de las ecuaciones de transporte por vía computacional. Con ella se resuelven las ecuaciones de transporte de cantidad de movimiento, masa, calor y determinan otras magnitudes físicas relacionadas. Usando DFC puede generarse una enorme cantidad de información que en la práctica no podría ser obtenida experimentalmente (Versteeg and Malalasekera 2007). Para muchos tipos de flujo, la DFC ha demostrado ofrecer resultados confiables lo cual permite que de cierta forma complemente los experimentos reales. A los resultados obtenidos por simulación se les llama experimentos *in silico*.

Combinando métodos experimentales avanzados como la Velocimetría por efecto Doppler Láser

(VDL), la Anemometría Térmica y la Velocimetría por Seguimiento de Partículas (VSP) con la DFC se pueden obtener un gran número de datos suficientes para conseguir ajustar determinados modelos o correlaciones adimensionales. Incluso la DFC permite resolver estructuras que serían muy difíciles de demostrar experimentalmente o peor aún, resultan totalmente inaccesibles por la vía experimental.

Las células de mamíferos son muy sensibles al estrés mecánico que existe en un biorreactor como consecuencia de la agitación y la aireación. Por tal motivo en los biorreactores para el cultivo de células de mamíferos se acostumbra a trabajar con bajas velocidades de agitación y relativamente altos valores de flujo de aire. Para estas condiciones operacionales es común encontrarse la inundación del impelente, fenómeno no deseado asociado también con un patrón de flujo no ideal. El fenómeno de inundación del impelente ocurre cuando el flujo de aire es demasiado alto y a velocidades de agitación bajas, la corriente de aire domina el flujo del sistema y el aire es dispersado débilmente (Nienow 1990; Doran 1995). Este fenómeno hace ineficiente la dispersión del gas disminuyendo bruscamente la velocidad de transferencia de masa gas-líquido y la retención del gas en el volumen del líquido, lo cual es una condición indeseable y debe ser evitada en operaciones de mezclado gas-líquido (Hsuan 1986; Doran 1995).

En los biorreactores industriales no se conocen los valores del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno y el tiempo de mezclado en las condiciones de operación. Tampoco se conoce si ocurre o no el fenómeno de inundación del impelente. Todo lo anterior está relacionado con la hidrodinámica y a su vez con el patrón de flujo en el biorreactor.

Debido a la necesidad de aumentar el conocimiento sobre los patrones de flujo y de otras magnitudes en los biorreactores usados en el cultivo de células animales, este trabajo se propone el uso de la DFC para la predicción de los campos de velocidad de líquido y gases en un biorreactor industrial. Por otra parte la DFC como herramienta no ha sido aplicada en su totalidad para caracterizar la operación de los biorreactores industriales.

2 Materiales y métodos

2.1 Equipamiento y condiciones experimentales

El biorreactor estudiado, cuyo volumen de trabajo es 1100 L (Bioengineering AG; Suiza) cuenta

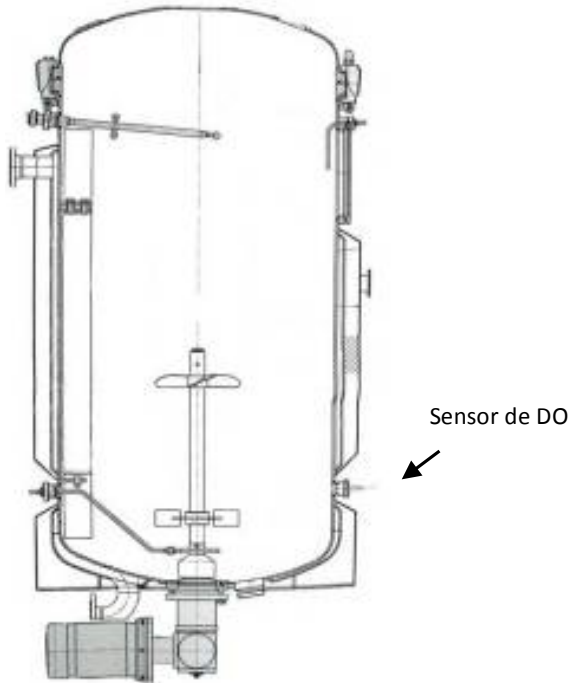


Fig. 1. Vista lateral del biorreactor industrial de volumen total 1500L.

con dos impelentes acoplados al mismo eje. Una representación esquemática del mismo puede apreciarse en la Figura 1. El impelente inferior es una turbina Rushton de 6 paletas para impulsar el fluido radialmente. Mientras que el impelente superior presenta una propela marina con 3 aspas orientadas para impulsar el fluido axialmente hacia abajo. Ambos impelentes presentan un diámetro de 0.3 m y están separados entre sí a 0.512 m, la distancia del impelente inferior con respecto al fondo es de 0.23 m. El diámetro del tanque es de 0.98 m y presenta 4 deflectores, la altura del líquido es de 1.54 m. La aireación se realiza mediante un burbujeador tipo tubo perforado.

2.2 Determinación experimental del tiempo de mezclado y la distribución de tiempos de residencia

El tiempo de mezclado está definido como el tiempo requerido para alcanzar el 95 % de la homogeneidad en un tanque agitado una vez añadido un trazador (Xing, Kenty et al. 2009). Para los biorreactores que son usados en la producción comercial no es posible introducir compuestos extraños como trazadores (material radioactivo o colorantes fluorescentes)

debido a las regulaciones GMP (*Good Manufacturing Practice* por sus siglas en inglés). Por esta razón es ventajoso emplear un material como trazador que es normalmente utilizado en el proceso de producción, como por ejemplo el hidróxido de sodio (NaOH). En este estudio fue empleado un pulso de NaOH (ac) a la concentración de 1 mol/L como trazador. El trazador fue adicionado en la superficie del líquido. La conductividad fue medida con un electrodo (InPro 7200 METTLER TOLEDO; Suiza) y monitoreada con una interfaz computarizada. El electrodo de conductividad fue calibrado empleando una solución patrón de KCl (ac) 0.1 mol/L. La temperatura del vaso fue mantenida constante en 35°C, manteniendo una agitación de 30 min⁻¹. El volumen de trazador añadido fue menor que el 0.5 % del volumen del líquido (agua) en el biorreactor, de este modo el efecto del volumen del trazador adicionado sobre el tiempo de mezclado es despreciable (Xing, Kenty et al. 2009). La adición del trazador fue súbita, monitoreándose la conductividad hasta alcanzar el estado estacionario.

Los datos de conductividad obtenidos fueron normalizados de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$H(t) = \left| \frac{\Omega(t) - \Omega_i}{\Omega_f - \Omega_i} \right| \quad (1)$$

Donde: $H(t)$: es el índice de homogeneidad en el tiempo t , $\Omega(t)$ es la conductividad en el tiempo t , Ω_i es la conductividad inicial ($t = 0$ s) y Ω_f es la conductividad final ($t = \infty$).

En el estudio de la distribución de tiempos de residencia (DTR) se empleó la condición de agitación de 30 min⁻¹ sin aireación a 35°C y se mantuvo un flujo volumétrico de agua de 20 L·h⁻¹. Para graficar la curva de DTR se emplearon mediciones de la conductividad en el tiempo a la salida del reactor, para ello fue usada la siguiente expresión (Levenspiel and Barreiro 2002):

$$C_\theta = \frac{\Omega(t)}{\int_0^\infty \Omega(t) dt} \cdot \bar{t} \quad (2)$$

Donde: C_θ es el parámetro para graficar la curva C_θ, \bar{t} es el tiempo medio de residencia.

Para determinar el tiempo adimensional se utilizó la ecuación:

$$\theta = \frac{t}{\bar{t}} \quad (3)$$

Donde: t es el tiempo de experimental.

Tabla 1. Matriz del diseño factorial empleado en las determinaciones del k_{La} .

Velocidad de Agitación (N)		Flujo de Aire (Qa)	
Valor Absoluto (min^{-1})	Valor Normalizado	Valor Absoluto ($\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$)	Valor Normalizado
50	1	30	0
30	-1	30	0
30	-1	40	1
40	0	30	0
40	0	20	-1
40	0	40	1
50	1	40	1
30	-1	20	-1
50	1	20	-1

Para un recipiente cerrado y de densidad constante, entendiendo como recipiente cerrado aquel en que el fluido entra y sale solamente por flujo pistón, es decir, que tiene perfil plano de velocidad, se tiene que:

$$\bar{t} = \tau = \frac{V_L}{v_0} \quad (4)$$

Donde: τ es el tiempo espacial, V_L es el volumen de agua en el vaso del reactor y v_0 es el flujo volumétrico de agua a la entrada del vaso.

2.3 Determinación experimental del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno (k_{La})

La evaluación de la transferencia de oxígeno se realizó bajo condiciones de agitación y aireación controladas a temperatura constante de 35°C a un volumen de 1100 L con medio de cultivo. Fue aplicado un diseño factorial completo 3^2 sin réplicas y aleatorio, para investigar el efecto de las variables independientes velocidad de agitación y aireación sobre el k_{La} . La matriz de planeamiento puede ser observada en la Tabla 1. Los valores empleados en la simulación para las variables independientes se muestran en forma codificada (normalizada).

Se determinó como variable respuesta el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno. Además se evaluó la transferencia de oxígeno en agua pura con el objetivo de validar el modelo DFC generado. Para lograr esto se utilizaron las siguientes condiciones: agitación 30 min^{-1} y flujo de aire 1, 10 y 20 L/min a la temperatura constante de 35°C.

La ecuación de trabajo parte del balance de

oxígeno en fase líquida.

$$\frac{dC}{dt} = OTR = k_{La} (C^* - C_L) \quad (5)$$

Donde: OTR representa la velocidad de transferencia de oxígeno, dC/dt es el término acumulativo de la ecuación de balance de oxígeno ($\text{mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$), C_L es la concentración de oxígeno en la fase líquida ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), C^* es la concentración de oxígeno en la fase líquida en el equilibrio ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) y k_{La} es el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno (h^{-1}).

El porcentaje de saturación del oxígeno empleando aire se representa por la siguiente fórmula (Doran 1995):

$$DO = \left(\frac{C_L}{C^*} \right) \cdot 100 \quad (6)$$

Para determinar experimentalmente el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno (k_{La}) se empleó el método estático de barrido con nitrógeno y reoxigenación. De la ecuación (5) tras integrar y reagrupar se obtiene que:

$$\ln \left(\frac{C^*}{(C^* - C_L)} \right) = k_{La} t \quad (7)$$

Como el sensor de oxígeno lo que mide es % DO, esta ecuación se puede poner en función de dicho parámetro teniendo en cuenta la ecuación (6) y queda de la siguiente manera:

$$\underbrace{\ln \left(\frac{1}{\left(1 - \frac{DO}{100}\right)} \right)}_y = \underbrace{k_{La}}_m \underbrace{t}_x \quad (8)$$

Tabla 2. Condiciones geométricas empleadas en las correlaciones publicadas para la detección de la inundación.

Autor	Correlación	Régimen de flujo	T (m)	D/T	c/T	Tipo de burbujeador
(Zlokarnik 1973)	$Fl_F = 0.19Fr_F^{0.75}$	$0.01 \leq Fr \leq 2$	0.2-0.45	0.2 -0.45	1/3	Tubo perforado
(Henzler 1982)	$Fl_F = \frac{0.21Fr_F^{2.1(D/T)}}{(T/D-2.04)^{1.3}} + \frac{0.14Fr_F^{7.54(D/T)}}{(T/D-2.25)^{1.5}}$	$Re > 1 \cdot 10^4$, $Fr \leq 5$	Esc. Ind.	0.3 -0.4	-	Anillo perforado Tubo perforado
(Nienow 1990)	$Fl_F = 30(D/T)^{3.5}Fr_F$	$Fr_F \leq 0.85$	0.29-1.2	0.33 -0.5	0.25 -0.4	Anillo perforado

Luego, se puede obtener el k_{La} a partir de la pendiente ajustando una recta a los datos de $\ln\left(1 - \frac{DQ}{100}\right)^{-1}$ vs t . Las mediciones fueron realizadas hasta alcanzar un 80% de la concentración de equilibrio en la fase líquida.

2.4 Determinación de las condiciones de inundación del impelente

Para determinar las condiciones operacionales que provocan el fenómeno de inundación del impelente, se calcularon los números de Froude (Fr) y de aireación (Fl_G) correspondientes a la condición de inundación según la bibliografía consultada (Zlokarnik 1973; Henzler 1982; Nienow 1990). En la Tabla 2 se muestra un resumen de las correlaciones empleadas (Zlokarnik 1973; Henzler 1982; Nienow 1990) para el cálculo de la transición a la inundación del impelente que se aproximan a la geometría en estudio.

Las condiciones operacionales a evaluar están determinadas partiendo de experiencias previas de trabajo y considerando los criterios informados en la literatura (Varley and Birch 1999; Nienow 2006) para cultivos de células de animales tales como la velocidad en la punta del impelente ($U_{tip} = \pi ND \leq 1.5 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$) y el flujo de aire de ($Qa/V_L \leq 0.01 \text{ vvm}$). Las condiciones de operación a evaluar se muestran en la Tabla 3.

En la Tabla 3 se muestran además las condiciones hipotéticas de operación del biorreactor con el objetivo de obtener diferentes regímenes de flujos. Empleando las correlaciones mostradas en la Tabla 2, se determinaron las condiciones de agitación y aireación según el criterio de inundación del impelente y se compararon con las condiciones operacionales de la Tabla 3.

Tabla 3. Condiciones de operación a evaluar.

Velocidad de Agitación (N) (min^{-1})	Flujo de Aire (Qa) ($\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$)
30*	1*
30	10
30	20
30	30
30	40
40*	1*
40	10
40	20
40	30
40	40
50*	1*
50	10
50	20
50	30
50	40

*Condiciones hipotéticas.

2.5 Cálculos usando Fluido Dinámica Computacional

Las simulaciones fueron llevadas a cabo usando el paquete computacional Ansys Workbench 12.0 (ANSYS Inc.; USA). La geometría a simular fue construida usando el paquete Design Modeler 12.0 (ANSYS Inc.; USA) con las principales dimensiones geométricas descritas anteriormente. Fue necesaria la división de la geometría original en dos cuerpos geométricos, considerando que el sistema a simular, tiene un elemento giratorio (impelentes). Así, fueron generados dos cuerpos con forma cilíndrica (uno formando la estructura del vaso y el otro envolviendo al impelente), para poder hacer la configuración de los

mismos como dominios independientes. Las mallas computacionales fueron generadas usando el paquete CFX-Mesh 12.0 (ANSYS Inc.; USA). Estas fueron de tipo no estructurada compuesta principalmente por elementos tetraédricos (383 442 elementos y 78 617 nodos), incrementando su densidad en zonas de mayor gradiente de velocidad (impelentes). En la Figura 2, pueden apreciarse la geometría construida y las mallas generadas de los dominios de cómputo. En la DFC, todos los términos en cada ecuación a resolver son discretizados en espacio y tiempo después de seleccionar el modelo matemático. El método de discretización empleado fue el de volumen finito.

La configuración común usada para todas las simulaciones fue la siguiente:

- Simulación bifásica: agua a 35°C como líquido y aire como fase dispersa gaseosa
- Diámetro de burbuja 3 mm a la salida del burbujaedor.
- Densidad del líquido 994 kg m⁻³ y densidad del aire variable con la altura del líquido considerando comportamiento gas ideal (Presión Fondo/Presión superficie > 1).
- Se aplicó una presión manométrica en la superficie del líquido de 2·10⁴ Pa (0.2 bar)
- Viscosidad del líquido 8.0 10⁻⁴ Pa·s

- Modelos de interacción (transferencia de movimiento entre fases: flotación y arrastre). El coeficiente de arrastre calculado tomando en cuenta la fracción volumétrica.
- Se empleó el modelo de grupos de múltiples tamaños (MUSIG) para modelar la ruptura y coalescencia de las burbujas.
- Simulaciones llevadas a cabo en modo estacionario empleando el modelo de referencias múltiples para modelar la interacción entre impelentes y deflectores.
- Simulaciones llevadas a cabo en modo transiente empleando el modelo de malla deslizante para modelar la interacción entre impelentes y deflectores.
- El modelo de turbulencia empleado fue el modelo estándar de dos ecuaciones $k - \epsilon$.

Las condiciones de velocidad de agitación y aireación a simular fueron establecidas según la Tabla 3. En todas las simulaciones se empleó un criterio de convergencia de Residuos Mínimos Cuadrados (RMS) de 10⁻⁴, factor por el cual, los residuos iniciales del flujo másico disminuyen a medida que avanza la simulación. Las simulaciones fueron ejecutadas en un ordenador Pentium P IV con 3.4 GHz de velocidad de procesamiento y 4 GB de memoria RAM.

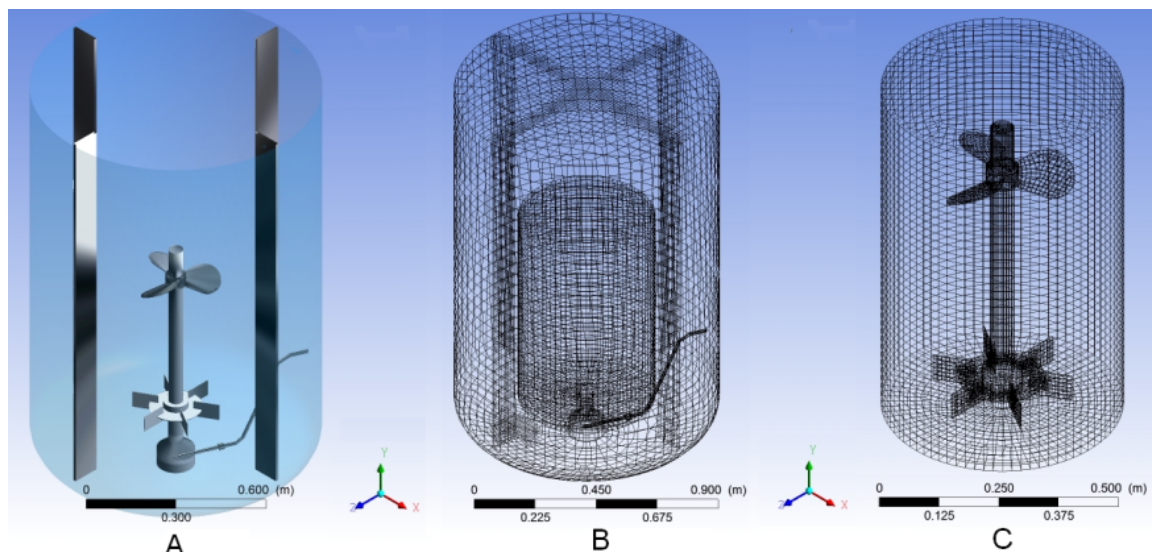


Fig. 2. Geometría y mallas computacionales usadas para la modelación DFC. (A) Vista isométrica de la geometría del biorreactor. (B) Vista isométrica de la malla del dominio estacionario. (C) Vista isométrica de la malla del dominio rotatorio.

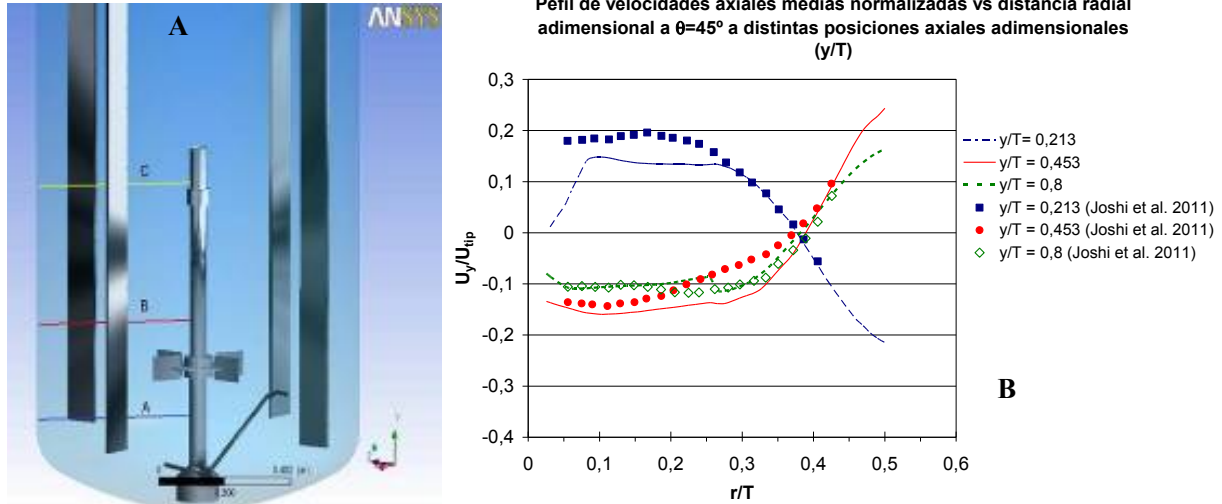


Figura 3A. Líneas fijadas en las geometrías del biorreactor simulado para la obtención de datos de velocidad axial ubicadas en un plano central entre los deflectores ($\theta = 45^\circ$). A) $r/T=0.213$; B) $r/T=0.453$; C) $r/T=0.8$. Figura 3B. Componente de la velocidad axial media normalizada vs distancia radial adimensional a 30 min^{-1} , empleando el modelo de turbulencia $k-\varepsilon$ y el método estacionario.

2.5.1 Cálculos adicionales

El k_{La} es calculado mediante DFC como el producto del coeficiente de transferencia de oxígeno (k_L) y el área interfacial específica (a). Basado en la teoría de penetración de Higbie (1935), el coeficiente de transferencia de oxígeno se puede plantear como:

$$k_L = 2 \sqrt{\frac{D_{OL}}{\pi}} \left(\frac{\varepsilon}{\nu}\right)^{1/4} \quad (9)$$

Donde: D_{OL} es el coeficiente de difusión del oxígeno en el líquido ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$), ν la viscosidad cinemática ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) y ε la velocidad de disipación de la energía cinética turbulenta ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-3}$).

El área interfacial específica (a) está dada por la relación de la fracción volumétrica de la fase gaseosa local (ε_g) y el diámetro de burbujas medio local (d_b):

$$a = \frac{6\varepsilon_g}{d_b} \quad (10)$$

El diámetro de burbujas medio local (d_b) es predicho usando ecuaciones del balance poblacional para cada grupo o clase de burbujas mediante el modelo de múltiples tamaños (MUSIG) y se determinó como:

$$d_b = \frac{\sum_i n_i d_i^3}{\sum_i n_i d_i^2} \quad (11)$$

Donde: n_i es la densidad del número de burbujas de clase i (m^{-3}) y d_i diámetro de burbujas de clase i (m).

Empleando las ecuaciones (9) y (10) y los valores de ε , ε_g y d_b obtenidos de las simulaciones en DFC se puede predecir el k_{La} local y promedio. El coeficiente de difusión del oxígeno en agua a 35°C empleado fue de $3.25 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ (Perry 1999).

La potencia consumida por la agitación y la potencia gaseada fueron calculadas por DFC partiendo de la ecuación:

$$P = 2\pi MN \quad (12)$$

El torque total (M) fue calculado a partir del torque que actúa sobre todas las paletas de los impelentes.

3 Resultados y discusión

3.1 Estudio del campo de velocidades

Para llevar a cabo el estudio del campo de velocidades, se modificó la geometría del dominio de los impelentes sustrayéndole la propela y aumentando la distancia de la turbina Rushton con respecto al fondo a 0.33 m con el objetivo de estandarizar la geometría y comparar el perfil de velocidades en la vecindad de la turbina con los resultados publicados (Joshi, Nere y col., 2011). Para garantizar una comparación adecuada con los datos publicados, fue impuesta una velocidad de giro del impelente de 30 min^{-1} en el modelo haciendo así que el número de Reynolds fuese de igual orden al de los datos publicados.

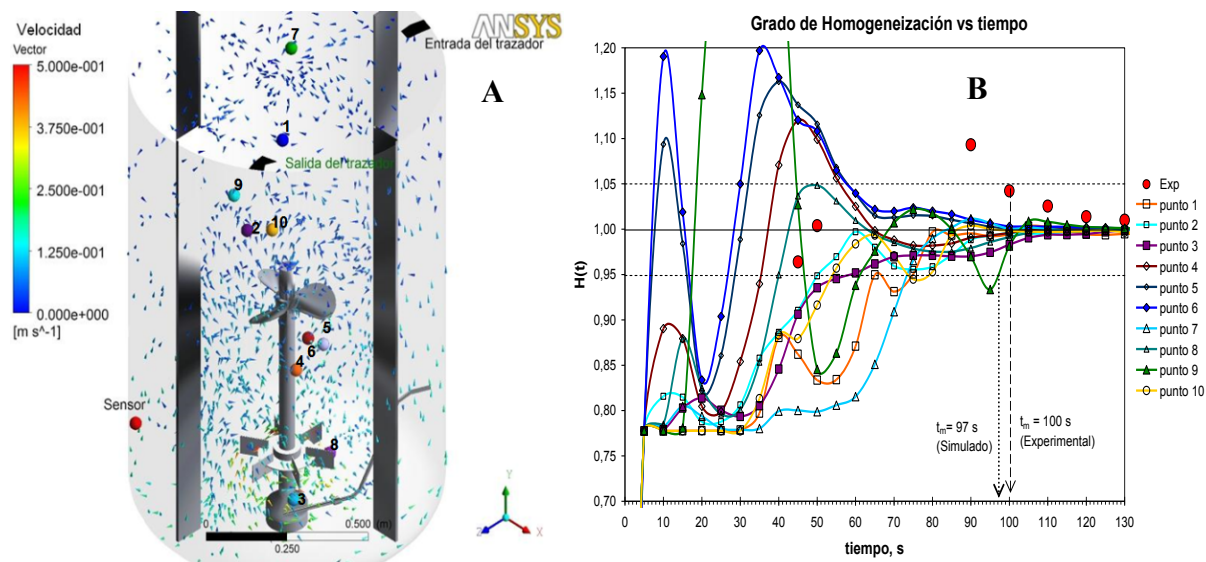


Figura 4A. Distribución aleatoria de los puntos en el vaso del biorreactor para mediciones del tiempo de mezclado. Figura 4B. Curvas respuestas de la concentración normalizada del trazador en los puntos de monitoreo obtenidos por simulación y experimental a una velocidad de agitación de 30 min^{-1} .

Esto garantizó condiciones de similitud dinámica. También se comprobó la similitud entre las relaciones geométricas. Se verificaron los resultados de la velocidad axial media normalizada (U_y/U_{tip}) para las distintas posiciones axiales (ver Figura 3A) con los resultados experimentales de Velocimetría por efecto Doppler Láser obtenidos por Joshi y col. (2011). La Figura 3B muestra las componentes axiales de la velocidad media normalizada en la coordenada axial normalizada vs la distancia radial adimensional a distintas posiciones axiales para la región de la turbina Rushton. Estos datos se comparan con la tendencia correspondiente a los datos de la literatura antes referenciados.

En la Figura 3B se observa como el perfil de velocidad axial calculado sigue una tendencia similar al experimental. En las posiciones axiales adimensionales $y/T = 0.213$ y $y/T = 0.453$ ubicadas en la parte inferior y superior respectivamente de la turbina Rushton el comportamiento se aleja ligeramente del experimental en algunas zonas de la curva subestimando su valor. Sin embargo, en la posición axial adimensional $y/T = 0.8$ ubicada en la parte superior más alejada de la turbina Rushton el comportamiento fue el de mayor similitud con el experimental. Estas diferencias pueden deberse a la interferencia que produce la geometría del burbujeador, además que no está contemplada su influencia en los datos experimentales obtenidos por

los autores mencionados.

3.2 Análisis del tiempo de mezclado y la distribución de tiempos de residencia

La desviación de la idealidad del campo de flujo en un reactor de tanque agitado se puede determinar mediante métodos experimentales como el estímulo-respuesta. El tiempo de mezclado es un importante parámetro que caracteriza la rapidez del mezclado en el equipo. Fueron simulados en DFC experimentos estímulo-respuesta. En este caso fue introducido en la simulación un pulso de NaOH (trazador). El tiempo de mezclado se determinó como aquel para el cual la concentración en varios puntos fuese prácticamente igual (95 %) respecto a un valor estacionario. Fueron colocados varios puntos de monitoreo de concentración dentro del dominio computacional de forma aleatoria en diferentes zonas de velocidades que pueden ser observados en la Figura 4A. En la Figura 4B se muestra el comportamiento temporal del grado de homogeneización ($H(t)$) de la concentración del trazador, en los distintos puntos de monitoreo dentro del biorreactor. Además se incluyen los resultados experimentales obtenidos para esa condición de velocidad de agitación.

Se observa que el tiempo requerido para alcanzar un grado homogeneización de 95 % en todos los puntos de monitoreo fue de 97 s, mientras que

el experimental fue de 100 s. El error relativo entre los tiempos de mezclado obtenidos mediante la simulación y la experimentación fue de 3 %, lo que constituye una buena aproximación en la estimación de esa variable. Los tiempos para alcanzar la homogeneidad en la concentración de trazador son mayores en los puntos ubicados en las regiones cercanas a la pared y la superficie del líquido (puntos 1, 7, 9 y 10). Esto es debido a las menores velocidades del fluido en esa región. Por lo tanto, en los puntos de monitoreo ubicados a la altura del impelente y cercanos a este, donde existen las mayores velocidades, se logra alcanzar en menor tiempo el grado de homogeneización requerido. También se observa determinado comportamiento oscilatorio sinusoidal al inicio el cual se va atenuando en el tiempo. De acuerdo con los análisis de curvas de DTR informados en la literatura (Patwardhan 2001; Levenspiel and Barreiro 2002) este comportamiento puede relacionarse con la existencia de recirculaciones internas.

Con la finalidad de estudiar la distribución de tiempos de residencias se obtuvo la curva C_θ experimentalmente, para la condición de operación de 30 min^{-1} sin aireación y flujo volumétrico de agua a través del vaso de $20 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$ (Flujo másico de $5.52\cdot 10^{-3} \text{ kg}\cdot\text{s}^{-1}$). El comportamiento de la misma puede verse en la Figura 5 para un tiempo total de 250 h.

En la Figura 5 se observa la forma tipo exponencial descendente de la curva C_θ típica de una zona de flujo ideal o mezcla completa. Con el objetivo de

verificar si existen desviaciones del flujo de mezcla completa las Figuras 5 y 6 muestran los modelos más usados para este fin. En la Figura 5 se observa que el intercepto del modelo ajustado con el eje de las ordenadas es ligeramente superior a 1 (1.0404) indicando la posible existencia de una zona muerta o un volumen muerto de aproximadamente 40L. Dicho volumen se puede despreciar si se compara con el total de 1100 L. Por otra parte según el modelo exponencial ajustado no parece indicar la presencia de una corriente de cortocircuito. Además ya que el tiempo de mezclado es mucho más pequeño que el tiempo medio de residencia (55 h) puede pensarse que ocurre un buen mezclado de todos los elementos de fluido antes de salir del reactor.

En la Figura 6 se observa la correlación lineal que existe entre las variables experimentales E_θ vs θ en las coordenadas $\ln E_\theta$ vs θ , esto significa que los datos experimentales no son descritos por otros modelos combinados informados en la literatura de mayor complejidad (de dos parámetros con transporte entre las regiones activas y las estancadas), que el ajustado en este trabajo (Levenspiel and Barreiro 2002). A partir de los elementos anteriores se considera que el patrón de flujo en la condición de operación estudiada es de mezcla completa. Es importante destacar que a pesar de existir regiones de baja velocidad (inferior en un 25% del valor de velocidad máxima) en el vaso del biorreactor (ver Figura 4A) esto no constituye una desviación del patrón de flujo de mezcla completa.

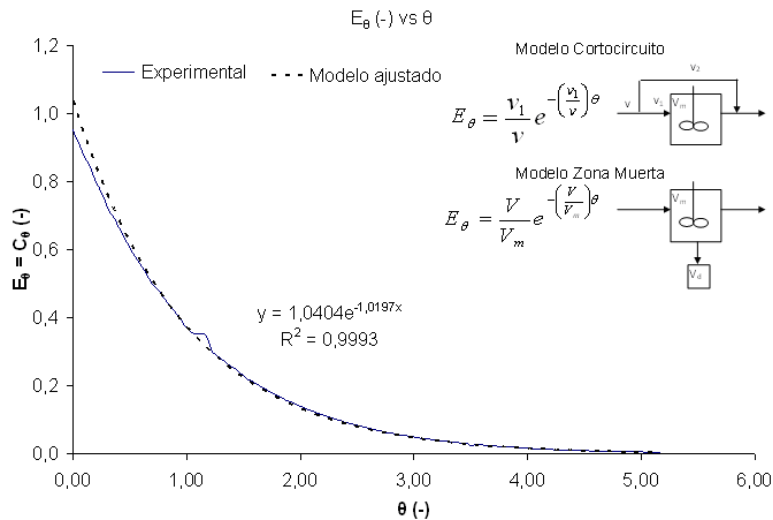


Fig. 5. Curva de respuesta adimensional obtenida experimentalmente en la condición de agitación de 30 min^{-1} sin aireación y flujo volumétrico de agua de $20 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$.

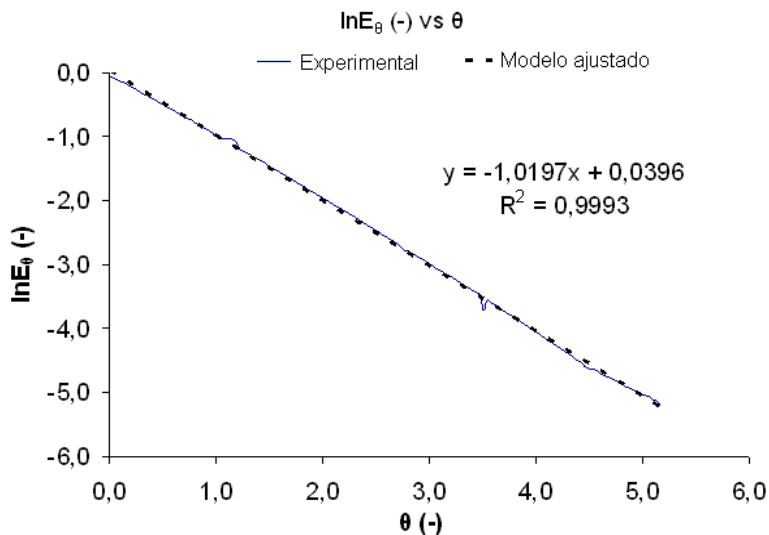


Fig. 6. Relación $\ln E_{\theta}$ vs θ para los datos experimentales en la condición de agitación de 30 min^{-1} y flujo volumétrico de agua de $20 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$.

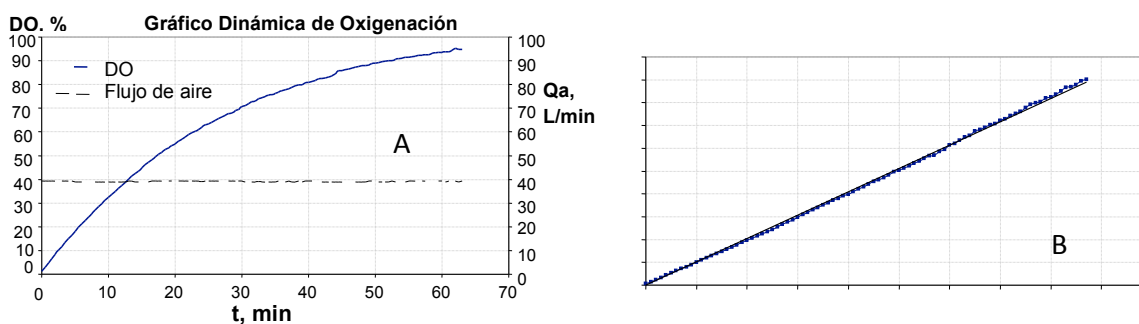


Fig. 7. A-Curva de reoxigenación. B- Curva $\ln(1/(1-\text{DO}/100))$ vs t para determinar el k_{La} a 35°C en la condición de agitación de 40 min^{-1} y aireación de $40 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ en el medio de cultivo.

3.3 Determinación experimental del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno (k_{La})

Para determinar la capacidad de oxigenación del biorreactor es necesario determinar el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno. Con esta finalidad se hicieron una serie de determinaciones usando el método estático en las condiciones experimentales de la Tabla 1. De manera ilustrativa, la Figura 7 muestra la curva de reoxigenación (A), y los datos transformados según la ecuación (8), en la curva $\ln(1/(1-\text{DO}/100))$ vs t (B), obtenida para una de las condiciones experimentales de la Tabla 1 (aireación de $40 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ y velocidad de agitación de 40 min^{-1}).

En la Figura 7B se incluye también la recta resultante del ajuste lineal a los valores junto con la expresión matemática del modelo ajustado, el coeficiente de correlación (R^2) y el valor de k_{La} .

En la Figura 7B se observa como el coeficiente de correlación (R^2) se aproxima notablemente a “1”, lo que indica que existe una buena correlación lineal entre los puntos. El valor de k_{La} es obtenido a partir de la pendiente de la recta y es igual a 0.0405 min^{-1} ($2,43 \text{ h}^{-1}$). El mismo procedimiento fue aplicado para el resto de las condiciones experimentales del diseño factorial y los resultados se muestran en la Tabla 4.

Se observa que al aumentar la velocidad de agitación para un flujo de gas constante aumenta el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno.

Tabla 4. Coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno para las distintas condiciones de agitación (N) y aireación (Qa) según el diseño factorial 3^2 en medio de cultivo.

N (min^{-1})	Qa ($\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$)	k_{La} (h^{-1})
30	20	0.996
30	30	1.458
30	40	2.016
40	20	1.494
40	30	1.914
40	40	2.43
50	20	2.178
50	30	2.922
50	40	3.588

Este comportamiento es lógico, ya que al girar el impelente a mayor velocidad la energía disipada es mayor y aumenta la ruptura de burbujas. Esto último provoca un aumento del área interfacial gas-líquido y un aumento de la fracción de gas retenido. También se observa que al aumentar el flujo de gas a velocidad de agitación constante aumenta el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno debido a un incremento de la frecuencia del número de burbujas que se genera en el burbujeador y un aumento de la velocidad superficial. En la literatura hay informes de valores de k_{La} obtenidos en el intervalo de 1 a 15 h^{-1} para cultivos de células animales en biorreactores de hasta 8000 L de volumen (Varley and Birch 1999; Nienow 2006). Como se observa en la Tabla 4 los valores de k_{La} se encuentran en el extremo inferior del intervalo publicado.

Con el objetivo de investigar cuál variable de operación (velocidad de agitación o flujo de aire) tiene mayor influencia sobre el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno se realizó un análisis estadístico. La Figura 8 representa el diagrama de Pareto y se observan los efectos significativos sobre la variable respuesta k_{La} .

El diagrama de Pareto de la Figura 8 muestra cada uno de los efectos estimados en orden decreciente de magnitud. La línea vertical indica cuales efectos son estadísticamente significativos. Puede verse que los dos efectos individuales y sus interacciones tienen un impacto positivo sobre el k_{La} . Cualquier barra que se extienda más allá de la línea, corresponde a efectos que son estadísticamente significativos. En este caso, 3 efectos

son significativos N, Qa y la interacción N-N (N^2).

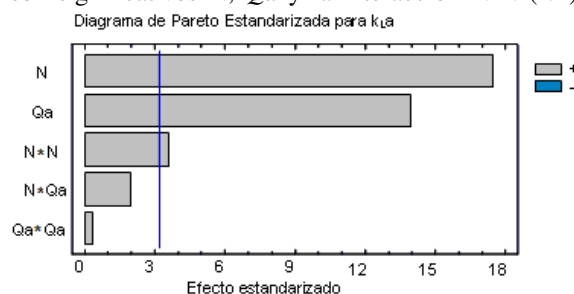


Fig. 8. Diagrama de Pareto de los efectos individuales y sus interacciones sobre la variable respuesta k_{La} .

El estadístico de Durbin-Watson igual a 2.28 (valor-P = $0.560 > 0.05$) prueba la aleatoriedad de los residuos con un 95.0% de nivel de confianza. De todo este análisis puede concluirse que la velocidad de agitación es la variable que más significativamente influye sobre el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno. Por lo tanto un incremento en la velocidad de agitación tiene mayor impacto sobre el k_{La} en comparación con el flujo de aire. Esto es de vital importancia para la transferencia de masa durante el cultivo de células ya que, un mayor coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno producto de un incremento en la velocidad de agitación posibilita una mayor velocidad de transferencia de oxígeno al cultivo.

La ecuación que predice el valor del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno (k_{La}) en función de las variables independientes que resultaron significativas es:

$$k_{La} = 1.403 - 0.1273N + 0.0561Qa + 0.00247N^2 \quad (13)$$

Dicha ecuación presenta un coeficiente de correlación (R^2) de 98.6 % y un error estándar de estimación para los valores de k_{La} de 0.117. Mientras que el error medio absoluto es de 0.074.

Una visión en el espacio de la dependencia del k_{La} con respecto a N y Qa puede ser apreciado un gráfico tridimensional. En la Figura 9 se muestra la superficie respuesta, así como los contornos de la superficie de respuesta estimada.

La gráfica de contornos de la superficie de respuesta muestra los contornos para k_{La} en función de N y Qa . Cada línea de contorno representa combinaciones de N y Qa las cuales determinan un valor de k_{La} . Esta gráfica es de gran utilidad ya que brinda la posibilidad de emplear combinaciones de los niveles de las variables velocidad de agitación y aireación que satisfacen un valor determinado del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno.

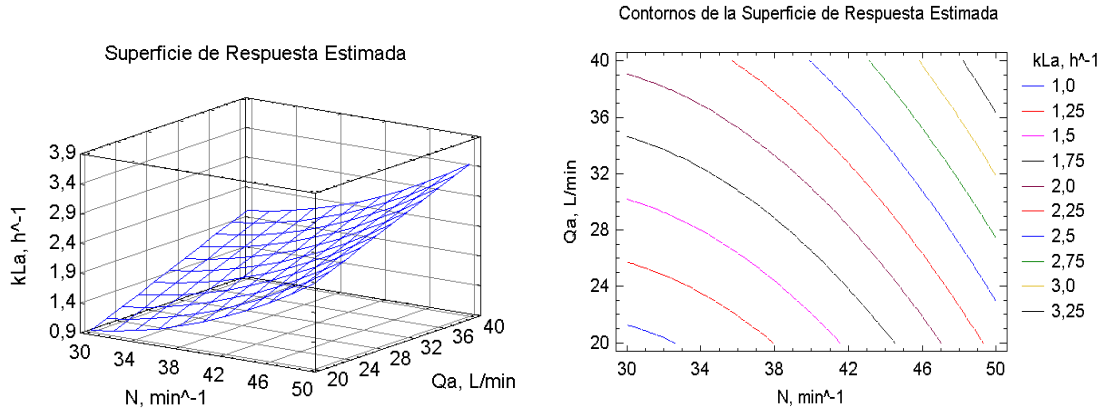


Fig. 9. Superficie de respuesta y contornos de la superficie de respuesta estimada.

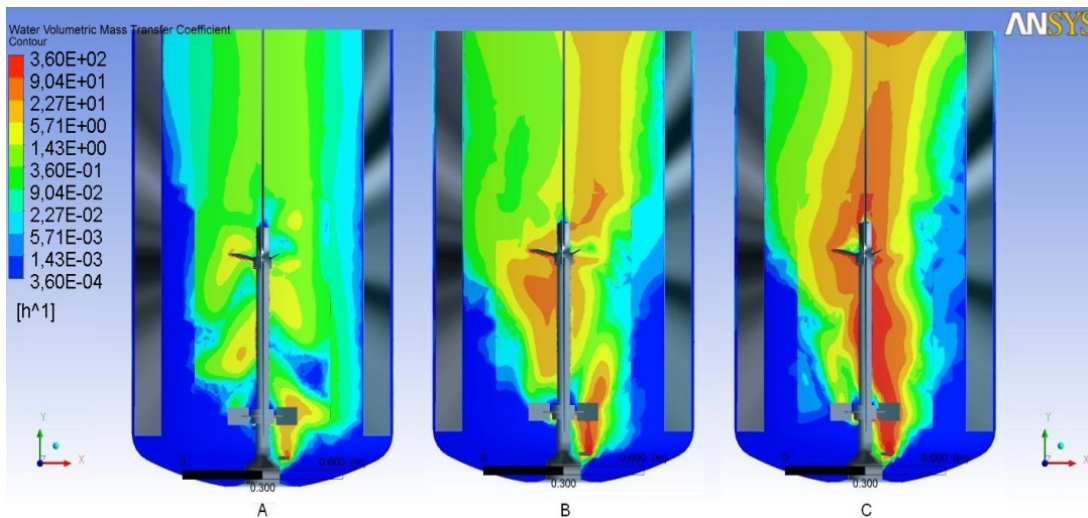


Fig. 10. Gráfico de contorno para el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno obtenido por la modelación en DFC a 30 min^{-1} (fluido líquido agua). (A) $Qa = 1 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$. (B) $Qa = 10 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$. (C) $Qa = 20 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$.

Así, por ejemplo de ser necesario un k_{La} de 2 h^{-1} se puede escoger una velocidad de agitación y un flujo de aire de 47 min^{-1} y $20 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ respectivamente. Es importante destacar que la correlación de k_{La} determinada solo es válida para los niveles de las variables N y Qa estudiados experimentalmente.

3.4 Determinación del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno por simulación

En la Figura 10 se muestra un gráfico de contorno de la distribución axial del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno en el biorreactor modelado,

sobre un plano longitudinal, a una velocidad de agitación de 30 min^{-1} y diferentes flujos de aire de 1, 10 y $20 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$.

Se observa que la distribución del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno no es homogénea en el todo el volumen del biorreactor con variaciones locales. Las zonas de mayor k_{La} se encuentran alrededor del impelente y en la zona de ascenso del gas desde el burbujeador hasta la superficie, siendo mayor su valor a mayor aireación. Este resultado es consistente con lo informado en la literatura (Dhanasekharan, Sanyal y col., 2005; Moilanen, Laakkonen y col., 2008) por el hecho de que en dichas zonas se encuentra la mayor turbulencia y fracción volumétrica de aire.

Tabla 5. Coeficientes volumétricos de transferencia de oxígeno obtenidos por DFC (valores promedios) y la experimentación en agua a 35°C y a velocidad de agitación de 30 min⁻¹.

Qa (L/min)	DFC k_{La} (h ⁻¹)	Exp k_{La} (h ⁻¹)	Error relativo (%)
1	0.15	0.13	15.4%
10	1.22	1.06	14.9%
20	2.19	1.76	24.9%

Según la teoría de penetración de Higbie (Higbie 1935) una mayor turbulencia provoca un incremento del coeficiente de transferencia de oxígeno (k_L) según la ecuación (9). En la parte inferior y cercana a las paredes del biorreactor la transferencia es despreciable. Este valor bajo de k_{La} es diferente en varios órdenes de magnitud del obtenido experimentalmente en la zona de la pared donde se sitúa el sensor de oxígeno (Figura 1). Esto es debido a que la predicción del k_{La} está limitada por la precisión de la determinación de la distribución de densidad del número de burbujas la cual determina el valor del área interfacial (a) calculada por la ecuación (10) en dicha zona. La precisión puede ser aumentada por un refinamiento de la discretización de las ecuaciones de balance poblacional para la distribución de densidad del número de burbujas, trayendo consigo un incremento del esfuerzo computacional. En la Tabla 5 se muestran los valores de las diferencias relativas entre los k_{La} obtenidos por la modelación y la experimentación.

Puede notarse que el error relativo del valor promedio calculado respecto al experimental está alrededor del 20 %. Según la literatura (Dhanasekharan, Sanyal et al. 2005; Moilanen, Laakkonen et al. 2008) dicho error suele ser común y es aceptado por la comunidad científica.

Se observa en la Figura 12 que la potencia del sistema gaseado disminuye a medida que aumenta el flujo de aire (aumento del número de aireación) debido a la acumulación de gas en la parte posterior de las paletas de la turbina y a la disminución de la densidad que provoca dicho aire en el sistema. Esta observación es consecuente con resultados publicados (Nienow 1990; Vrabel, van der Lans et al. 2000) para reactores con turbinas Rushton. Un incremento en el número de aireación por encima de un punto crítico produce una reducción brusca de la potencia del

sistema gaseado. De acuerdo con Nienow (Nienow, Wisdom et al. 1978), el mínimo en la curva P_g/P vs Fl_G también corresponde con el punto de inundación. Esto indica que por encima del número de aireación crítico el impelente está inundado. Se pudiera inferir a partir de la Figura 12 que los puntos críticos (valor a partir del cual se produce una reducción brusca de la P_g/P) se encuentran entre 1 L/min y 10 L·min⁻¹ para una velocidad de agitación de 30 min⁻¹ ($1.2 \cdot 10^{-1} < Fl_G < 1.2 \cdot 10^{-2}$), en 10 L·min⁻¹ para una velocidad de agitación de 40 min⁻¹ ($Fl_G = 9.3 \cdot 10^{-3}$) y en 20 L·min⁻¹ para una velocidad de agitación de 50 min⁻¹ ($Fl_G = 1.5 \cdot 10^{-2}$). Estos puntos críticos están en correspondencia con los puntos ubicados sobre las líneas de la Figura 11 en donde ocurre la transición a la inundación.

3.5 Estudio del fenómeno de inundación del impelente

Determinar si las condiciones de operación que se fijan en un biorreactor conllevan al fenómeno de inundación del impelente es clave para saber si la oxigenación ocurre eficientemente. La Figura 11 muestra la región típica de la operación (N, Qa) del biorreactor bajo estudio. Adicionalmente se incluyen algunos puntos (N, Qa) seleccionados por su relevancia de acuerdo a los patrones generalmente usados en el cultivo de células animales. Se han incluido además curvas empíricas obtenidas para condiciones de inundación obtenidas por otros investigadores para otras configuraciones de biorreactores.

De la Figura 11, se verifica que la mayor parte de las condiciones impuestas en la operación del biorreactor están debajo de las curvas tomadas de la literatura para representar la frontera entre las condiciones de inundación y de dispersión. Si se asume que dichas curvas dan una idea del comportamiento en la configuración del biorreactor bajo estudio, lo anterior implica que el biorreactor es operado por lo general con el impelente inferior inundado de gas. Como se puede apreciar en la Figura 11 solo cuatro condiciones se encuentran fuera de la zona de inundación del impelente. Estas condiciones corresponden a un flujo de aire 1 L·min⁻¹ ($9.1 \cdot 10^{-4}$ vvm) y velocidades de agitación 30 min⁻¹ ($U_{tip} = 0.471$ m·s⁻¹), 40 min⁻¹ ($U_{tip} = 0.628$ m·s⁻¹) y 50 min⁻¹ ($U_{tip} = 0.785$ m·s⁻¹), además de la condición con flujo de aire de 10 L·min⁻¹ ($9.1 \cdot 10^{-3}$ vvm) y velocidad de agitación 50 min⁻¹.

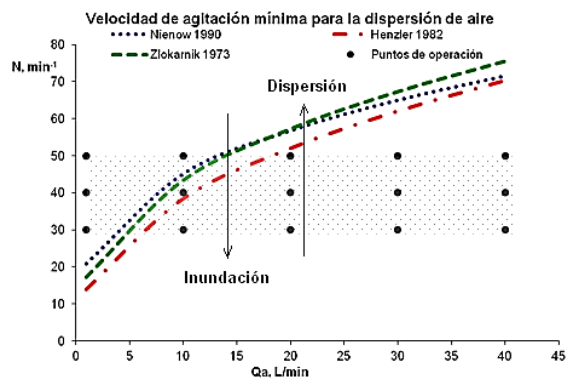


Fig. 11. Velocidad de agitación mínima para lograr la dispersión del aire en función del flujo de aire.

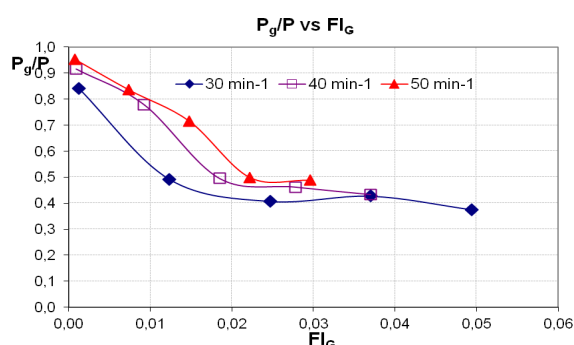


Fig. 12. Variación de la potencia del sistema gaseado/potencia en sistema no gaseado (P_g/P) en función del número de aireación (Fl_G) a diferentes valores de velocidad de agitación calculada a partir de resultados de simulación con la DFC.

Estas condiciones cumplen con los criterios informados en la literatura (Varley and Birch 1999; Nienow 2006) para el cultivo de células de animales tanto en velocidad de agitación como en flujo de

aire, mientras que el resto de los puntos de operación ubicados en las zonas de inundación no cumplen con el criterio de flujo de aire, siendo estos mayores a 0.01 vvm.

La condición de inundación que consiste en un exceso de aire mayor que la capacidad de manejo del impelente provoca una disminución brusca en la potencia del sistema gaseado. La Figura 12 muestra el comportamiento de la relación entre la potencia del sistema gaseado y en sistema no gaseado al variar el flujo de gas, representado a través del número de aireación.

En la Figura 13 (dirección de rotación del impelente a contrarreloj) se muestra el isovolumen de la fracción volumétrica del aire mayor e igual que 0.01 para la condición de flujo de aire de 10 L·min⁻¹ y las velocidades de agitación 30, 40 y 50 min⁻¹.

Se observa que a medida que disminuye la velocidad de agitación el aire es dispersado débilmente y el volumen de aire se concentra sobre los impelentes inundando los mismos. Se aprecia que a una velocidad de agitación de 30 min⁻¹ (Figura 13C) el aire domina el flujo del sistema y es dispersado ineficientemente (Nienow 1990; Doran 1995). Como muestra la Figura 11 para la velocidad de agitación de 30 min⁻¹ y flujo de aire de 10 L·min⁻¹ se encuentra en la zona de inundación del impelente. A una velocidad de agitación de 40 min⁻¹ (Figura 13B) se observa una mejoría en la dispersión de aire ya que este no se encuentra totalmente concentrado sobre los impelentes y se puede inferir que se encuentra en un etapa de transición hacia el fenómeno de inundación en correspondencia con lo observado en la Figura 11 en ese punto de operación. En la condición de agitación de 50 min⁻¹ el aire es dispersado más eficientemente como se observa en la Figura 13A.

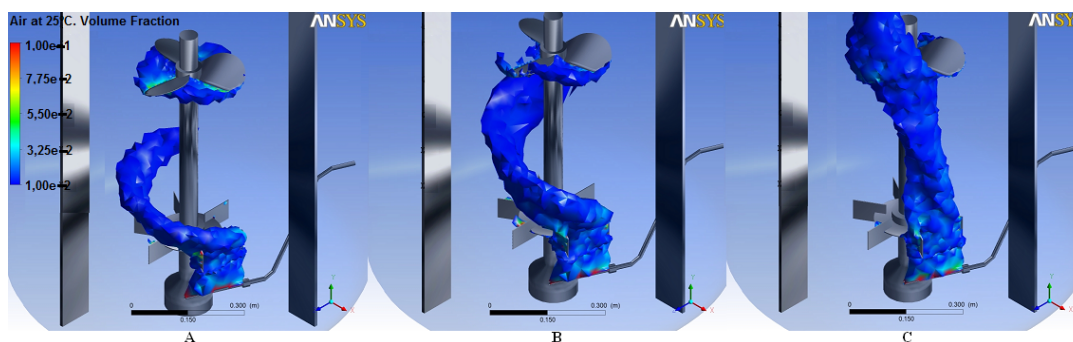


Fig. 13. Isovolumen de la fracción volumétrica del aire (≥ 0.01) a un flujo de aire de 10 L·min⁻¹ y a diferentes velocidades de agitación: A (50 min⁻¹); B (40 min⁻¹) y C (30 min⁻¹).

El análisis alcanzado hasta el momento demuestra que para lograr un mejor desempeño del biorreactor desde el punto de vista hidrodinámico, es más conveniente aumentar la velocidad de agitación en lugar del flujo de aire ya que la mayor muerte celular está relacionada con la aireación y es causada por la explosión de las burbujas en la superficie (Wu 1995; Varley and Birch 1999; Hu, Berdugo y col., 2011). Con el aumento de la velocidad de agitación se logra también evitar el fenómeno de inundación del impelente y una mayor dispersión del aire, lo que posibilita una mayor velocidad de transferencia de oxígeno al cultivo. El nivel máximo de agitación evaluado de 50 min^{-1} genera una potencia promedio de agitación igual a 4.63 W para el sistema no gaseado según la ecuación (12). La potencia por unidad de volumen de líquido (1.1 m^3) para este caso sería igual a 4.21 W/m^3 la cual es inferior a 250 W/m^3 , valor informado en la literatura a partir del cual empieza a ocurrir el daño celular (Nienow 2006). Por lo tanto existen reservas de mejoras hidrodinámicas que pudieran ser explotadas adecuadamente y lograr un mejor desempeño del biorreactor sin causar daño mecánico mediante una agitación más vigorosa.

Conclusiones

Los resultados del modelo matemático obtenido por la Dinámica de Fluidos Computacional para predecir el campo de velocidades en un sistema monofásico (fase líquida) fueron comparados con otros informados en la literatura observándose el mismo comportamiento para ambos casos.

El modelo matemático propuesto predice un tiempo de mezclado para la condición de operación sin aireación analizada igual al determinado experimentalmente.

Se obtiene a través de la modelación matemática y el uso de correlaciones informadas en la literatura que el patrón de flujo del sistema bifásico en las condiciones de operación del biorreactor industrial para el cultivo de células animales está caracterizado por la inundación del impelente.

El modelo matemático propuesto predice el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno promedio con un 20% de diferencia respecto a los valores determinados experimentalmente. A través del modelo matemático se predicen zonas del biorreactor con una pobre transferencia de oxígeno que es consecuente con el fenómeno de inundación detectado con los otros estudios realizados. Se obtiene por la

vía experimental que el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno (k_{La}) depende de las variables velocidad de agitación y flujo de aire siendo más importante la influencia de la velocidad de agitación. Un aumento de las dos variables provoca un aumento del valor de k_{La} .

La hidrodinámica del biorreactor industrial para el cultivo de células animales en las condiciones de operación se caracteriza por presentar el fenómeno de inundación del impelente, valores del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno bajos en comparación con los informados en la literatura para el cultivo de células de animales. Para las condiciones de operación sin aireación el patrón de flujo de la fase líquida en el biorreactor es de mezcla perfecta.

Nomenclatura

a	área interfacial específica (m^{-1})
c	distancia del impelente inferior con respecto al fondo (m)
C_L	concentración de oxígeno en la fase líquida ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)
C^*	concentración de oxígeno en la fase líquida en el equilibrio ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)
C_θ	parámetro para graficar la curva C_θ (-)
D	diámetro del impelente (m)
d_b	diámetro de burbujas medio local (m)
d_i	diámetro de burbujas de clase i (m)
D_{OL}	coeficiente de difusión del oxígeno en el líquido ($\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$)
DO	oxígeno disuelto (%)
Fl_G	número de aireación (-)
Fr	número de Froude (-)
$H(t)$	índice de homogeneidad en el tiempo t (-)
k_L	coeficiente de transferencia de oxígeno ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$)
k_{La}	coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno (s^{-1})
M	torque del agitador ($\text{N}\cdot\text{m}$)
N	velocidad de agitación (min^{-1})
n_i	densidad del número de burbujas de clase i (m^{-3})
OTR	velocidad de transferencia de oxígeno ($\text{mmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$)
P	potencia no gaseada del agitador (W)
P_g	potencia gaseada del agitador (W)
Q_a	flujo volumétrico de aire ($\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$)
r	coordenada radial (m)
Re	número de Reynolds (-)

\bar{t}	tiempo medio de residencia (h)
T	diámetro del tanque (m)
U_{tip}	velocidad en la punta del impelente (m·s ⁻¹)
U_y	componente axial de la velocidad (m·s ⁻¹)
V_L	volumen de agua en el vaso del reactor (L)
v_0	flujo volumétrico de agua a la entrada del vaso (L·h ⁻¹)
y	coordenada axial (m)
<i>Símbolos griegos</i>	
ε	velocidad de disipación de la energía cinética turbulenta (m ² ·s ⁻³)
ε_g	fracción volumétrica local de la fase gaseosa (-)
θ	tiempo adimensional (-)
ν	viscosidad cinemática (m ² ·s ⁻¹)
τ	tiempo espacial (h)
$\Omega(t)$	conductividad en el tiempo t (S·m ⁻¹)
Ω_i	conductividad inicial (t = 0 s) (S·m ⁻¹)
Ω_f	conductividad final (t = ∞) (S·m ⁻¹)

Referencias

- Calderbank, P. H. (1958). Physical rate processes in industrial fermentation. Part 1. The interfacial area in gas-liquid contacting with mechanical agitation. *Transactions of IChemE* 36, 443-463.
- Dhanasekharan, K. M., J. Sanyal, et al. (2005). A generalized approach to model oxygen transfer in bioreactors using population balances and computational fluid dynamics. *Chemical Engineering Science* 60, 213-218.
- Doran, P. (1995). *Bioprocess Engineering*. Sydney, Elsevier Science & Technology Books.
- García Ochoa, F. and E. Gómez (2004). Theoretical prediction of gas-liquid mass transfer coefficient, specific area and hold-up in sparged stirred tanks. *Chemical Engineering Science* 59, 2489-2501.
- Henzler, H. J. (1982). Verfaarentechnische Auslegungsunterlagen für Ruhrbehälter als Fermenter. *Chemie Ingenieur Technik* 52, 461.
- Higbie, R. (1935). The rate of absorption of a pure gas into a still liquid during short periods of exposure. *Institution of Chemical Engineers* 35, 36-60.
- Hsuan, L. W.-M. a. C. (1986). Flooding and critical impeller speed for gas dispersion in aerated turbine agitated vessels. *Chemical Engineering Journal* 33, 57-62.
- Hu, W., C. Berdugo, et al. (2011). The potential of hydrodynamic damage to animal cells of industrial relevance: current understanding. *Cytotechnology* 63, 445-460.
- Joshi, J. B., N. K. Nere, et al. (2011). CFD simulation of stirred tanks: Comparison of turbulence models. Part I: Radial Flow Impellers *The Canadian Journal of Chemical Engineering* 89, 23-82.
- Levenspiel, O. and G. T. Barreiro (2002). *Ingeniería de las Reacciones Químicas*. Ed. Reverté.
- Middleton, J. C. (1992). Gas-liquid dispersion and mixing. *Mixing in the Process Industries*. Butterworth-Heinemann. Oxford, UK, 322-363.
- Moilanen, P., M. Laakkonen, et al. (2008). Modelling mass transfer in an aerated 0.2 m³ vessel agitated by Rushton, Phasejet and Combijet impellers. *Chemical Engineering Journal* 142, 95-108.
- Nienow, A. W. (1990). Gas Dispersion Performance in Fermenter Operation. *Chemical Engineering Progress*, 61-71.
- Nienow, A. W. (1998). Hydrodynamics of stirred bioreactors. *Applied Mechanics Review* 51, 3-32.
- Nienow, A. W. (2006). Reactor engineering in large scale animal cell culture. *Cytotechnology* 50, 9-33.
- Nienow, A. W., D. J. Wisdom, et al. (1978). The Effect of Scale and Geometry in Flooding, Recirculation, and Power in Gassed Stirred Vessel. *2nd European Conference on Mixing (BHRA, Camfield*. Cambridge, England, 1-16.
- Patwardhan, A. W. (2001). Prediction of Residence Time Distribution of Stirred Reactors. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 40, 5686-5695.
- Perry, R. H. (1999). *Perry's Chemical Engineer's Handbook* (7th ed.). D. W. Green. New York, McGraw-Hill.

- van't Riet, K. and J. M. Smith (1973). The behaviour of gas-liquid mixtures near Rushton turbine blades. *Chemical Engineering Science* 28, 1031-1037.
- Varley, J. and J. Birch (1999). Reactor design for large scale suspension animal cell culture. *Cytotechnology* 29, 177-205.
- Versteeg, H. K. and W. Malalasekera (2007). *An introduction to computational fluid dynamics: the finite volume method*, Pearson Education Ltd.
- Vrábel, P., R. G. J. M. van der Lans, et al. (2000). Mixing in large-scale vessels stirred with multiple radial or radial and axial up-pumping impellers: modelling and measurements. *Chemical Engineering Science* 55, 5881-5896.
- Wu, J. (1995). Mechanisms of animal cell damage associated with gas bubbles and cell protection by medium additives. *Journal of Biotechnology* 43, 81-94.
- Xing, Z., B. M. Kenty, et al. (2009). Scale-up analysis for a CHO cell culture process in large-scale bioreactors. *Biotechnology and Bioengineering* 103, 733-746.
- Zlokarnik, M. (1973). Ruhrleistung in begasten flüssigkeiten. *Chemie Ingenieur Technik* 45, 689.