

POLITECNICO DI TORINO

Collegio di Ingegneria Chimica e dei Materiali

**Corso di Laurea Magistrale
in Ingegneria Chimica e dei Processi Sostenibili**

Tesi di Laurea Magistrale

Modellazione e analisi di bioreattori per la conversione di syngas in poli-idrossibutirrato



Relatori

prof. Samir Bensaid
prof. Guido Saracco

Candidato

Andrea Famà

Marzo 2018

*A mio padre,
che dall'alto illumina e
guida il mio cammino.*

Indice

1- Introduzione	1
1.1 La CO ₂ come materia prima	1
1.2. I bioreattori	2
1.2.1 Definizione di bioreattore	2
1.2.2 Configurazioni più utilizzate e problemi da affrontare	3
1.2.3 Sfide e sviluppi futuri	6
1.3. Le bioplastiche	7
1.3.1 Plastiche tradizionali e relativi problemi	7
1.3.2 Bioplastiche e loro classificazione	7
1.3.3 Dati sulla produzione di bioplastiche	8
1.4 I PHA	8
1.4.1 Struttura e proprietà	8
1.4.2 Dati sulla produzione di PHA	10
1.4.3 Produzione di PHA da syngas	12
1.4.4 <i>Rhodospirillum Rubrum</i>	12
1.4.5 Applicazioni	13
1.5 Il concetto di “Economia Verde”	14
1.6 Obiettivi e struttura della tesi	14
2. Descrizione del bioreattore e procedura sperimentale	17
2.1 Descrizione del bioreattore	17
2.1.1 Pompe	17
2.1.2 Motore e girante	18
2.1.3 Sistema refrigerante/riscaldante	18
2.1.4 Porta per l’inoculo	18
2.1.5 Controllore di portata	18
2.1.6 Analizzatori gas	19
2.1.7 Rilevatore di schiuma	19
2.1.8 Sonde redox e pH	19
2.1.9 Condensatore	19
2.1.10 Filtri	20
2.1.11 Software di controllo	20
2.2 Procedura sperimentale	20
2.2.1 Specie del batterio e componenti del medium di coltura	20
2.2.2 Preparazione dell’inoculo per la fermentazione del syngas	21

2.2.3 Fermentazione del syngas.....	21
2.3 Risultati sperimentali.....	21
2.3.1 Quantificazione dei risultati	21
2.3.2 Risultati utilizzati per la modellazione	21
3. Teoria ed ipotesi del modello	25
3.1 Fluidodinamica.....	25
3.1.1 Bilancio locale di materia.....	25
3.1.2 Bilancio locale di quantità di moto.....	25
3.1.3 Flusso laminare e flusso turbolento.....	26
3.1.4 Ipotesi del modello	27
3.2 Trasporto di specie chimiche.....	29
3.2.1 Meccanismi del trasporto di specie	29
3.2.2 Bilancio di materia in sistema multicomponente	29
3.2.3 Ipotesi del modello	30
3.3 Trasporto di calore.....	30
3.3.1 Meccanismi di trasferimento del calore	30
3.3.2 Bilancio locale di energia	31
3.3.3 Bilancio entalpico.....	31
3.3.4 Ipotesi del modello	32
3.4 Cinetica batterica e reazioni chimiche.....	32
3.4.1 Cenni di crescita microbica	32
3.4.3 Assorbimento dei gas nel liquido	34
3.4.4 Reazioni chimiche	34
4. Implementazione del modello su COMSOL Multiphysics®	35
4.1 Introduzione al software COMSOL Multiphysics®	35
4.2 Descrizione generale dell'albero del modello	37
4.3 Definizione dei parametri	39
4.4 Definizioni del componente	40
4.4.1 Variabili.....	40
4.4.2 Funzioni gradino e rampa.....	41
4.4.4 Mesh mobile.....	41
4.5 Costruzione della geometria	42
4.5.1 Vessel	42
4.5.2 Sparger.....	43
4.5.3 Girante	43
4.6 Selezione dei materiali	44

4.7 Ingegneria delle reazioni chimiche.....	44
4.7.1 Stima dei parametri	45
4.7.2 Ottimizzazione.....	46
4.8 Modello di miscela, k- ϵ (mm).....	46
4.8.1 Proprietà della miscela	47
4.8.2 Valori iniziali.....	48
4.8.5 Parete 1	48
4.8.6 Parete 2	49
4.8.3 Ingresso	49
4.8.4 Uscita.....	50
4.8.7 Gravità.....	50
4.9 Trasferimento di calore nei fluidi (ht)	50
4.9.1 Fluido	51
4.9.2 Valori iniziali.....	52
4.9.3 Isolamento termico	52
4.9.4 Solido	52
4.9.5 Flusso entrante.....	52
4.9.6 Flusso uscente.....	52
4.9.7 Temperatura 1.....	52
4.9.8 Temperatura 2.....	52
4.10 Trasporto di specie diluite 1 (tds).....	53
4.10.1 Proprietà di trasporto	53
4.10.2 Nessun flusso.....	54
4.10.3 Valori iniziali.....	54
4.10.4 Reazioni 1	54
4.10.5 Reazioni 2.....	54
4.10.6 Flusso uscente.....	55
4.11 Trasporto di specie diluite 2 (tds2).....	55
4.11.1 Proprietà di trasporto	55
4.11.2 Nessun flusso.....	55
4.11.3 Valori iniziali.....	55
4.11.4 Reazioni 1	56
4.11.5 Flusso entrante.....	56
4.11.6 Flusso uscente.....	56
4.12 Chimica 2 (chem2)	56
4.13 Chimica 1 (chem)	58

4.13.1 Reazione 1	59
4.13.2 Reazione 2	60
4.14 Costruzione della mesh	60
4.15 Studi effettuati	63
5. Risultati	65
5.1 Validazione del modello.....	65
5.2. Analisi delle variabili nelle condizioni di validazione	65
5.2.1 Velocità	65
5.2.2 Frazione di fase dispersa	68
5.2.3 Pressione.....	69
5.2.4 Concentrazione delle specie	71
6. Analisi di sensibilità	73
6.1 Influenza della concentrazione di CO sulle prestazioni del bioreattore	73
6.2 Sistema di flussaggio.....	74
6.2.1 Sparger semicircolare	75
6.2.2 Sparger poroso.....	79
7. Conclusioni.....	85
8. Lista simboli.....	87
9. Bibliografia.....	91
10. Ringraziamenti	93

1- Introduzione

1.1 La CO₂ come materia prima

Il riscaldamento globale rappresenta sicuramente uno dei più grandi problemi del nostro tempo. I dati della NASA relativi agli ultimi 30 anni, attestano un incremento medio di temperatura di circa 0.2 °C ogni decennio (Perlmutter and Rothstein, 2010) . In base a tali dati, si ritiene che un aumento progressivo della temperatura su vaste aree geografiche possa portare a fenomeni quali la siccità, lo scioglimento dei ghiacciai e alla formazione di uragani nonché a flussi migratori di popolazione causati da carestie e peggioramento delle condizioni di vita (Anderson, Hawkins and Jones, 2016). Il fenomeno responsabile del riscaldamento globale è il cosiddetto “effetto serra”. Tra i gas serra vanno annoverati il vapore acqueo, il metano e il protossido di azoto ma l'attore principale nel riscaldamento globale è la CO₂ a causa del progressivo aumento della sua concentrazione atmosferica.

Una metodologia innovativa per la riduzione delle emissioni di CO₂ consiste nell'utilizzare l'anidride carbonica stessa come materia prima per la sintesi sostenibile di composti chimici, sostituendo quelli derivati da combustibili fossili (Aresta and Dibenedetto, 2007). Le fonti primarie di anidride carbonica sono legate ai processi di fermentazione e purificazione del biogas in biometano. Nonostante esse siano in continua crescita, contribuiscono attualmente solo per 15Mtons di CO₂ emessa a livello di UE e possono portare alla produzione del 15-20% delle olefine leggere europee o del 50% dei biocarburanti europei entro il 2020 (Transforming CO₂, 2015) . Risulta pertanto fondamentale che oltre all'utilizzo di queste risorse si sviluppino pratiche integrate con altre tecniche per aumentare la quantità di CO₂ disponibile da utilizzare come substrato. Soluzioni in via di sviluppo consistono nel sequestro dell'anidride carbonica a partire dalla combustione di fonti fossili. Esistono diverse tecnologie che sono generalmente costituite da tre step: cattura della CO₂ dalla sorgente, compressione e trasporto attraverso le tubazioni, stoccaggio in serbatoi. Per quanto riguarda la cattura le soluzioni più utilizzate sono quelle dell'oxy-fuel e quella dei trattamenti post-combustione (Ustadi, Mezher and Abu-Zahra, 2017). L'oxy-fuel consiste nel far avvenire la combustione con ossigeno puro, anziché con aria, in modo da evitare la formazione di composti indesiderati come gli ossidi di azoto. Il vapore acqueo viene poi condensato per separarlo dalla CO₂. La tecnologia più efficiente è probabilmente quella che riguarda la cattura post-combustione con la rimozione dell'anidride prima che il gas esausto venga scaricato in atmosfera (Ustadi, Mezher and Abu-Zahra, 2017). A causa della bassa pressione parziale della CO₂ nel gas, la tecnica migliore consiste nell'assorbimento chimico. Il solvente più utilizzato è la monoetanolammina (MEA) che presenta numerosi vantaggi: ha bassa viscosità e densità, reagisce velocemente, è molto adoperata nelle applicazioni industriali ed è relativamente economica (Ustadi, Mezher and Abu-Zahra, 2017). Tra gli svantaggi presenta una capacità di assorbimento (kg CO₂ assorbiti/kg solvente) non molto elevata, richiede energia per la rigenerazione e può causare corrosione in presenza di anidride solforosa ed ossigeno (Ustadi, Mezher and Abu-Zahra, 2017) .

L'anidride carbonica è una molecola che presenta una stabilità elevata ed è pertanto caratterizzata da una scarsa tendenza a subire reazioni di riduzione. Per utilizzarla come materia prima occorre fornire energia al sistema reattivo. Ciò comporta l'utilizzo di alte temperature, composti molto reattivi, elettricità o radiazione luminosa e di conseguenza un costo economico ingente. Il principale composto organico attualmente sintetizzato a partire da CO₂ è l'urea, (NH₂)₂CO, attraverso un processo che prevede l'utilizzo di ammoniaca e che si basa sulla formazione del carbammato di ammonio che poi si decompone in acqua e (NH₂)₂CO. Inoltre l'anidride carbonica è utilizzata per la produzione di acido salicilico, solventi, esteri e carbonati ciclici.

A partire da CO_2 e H_2 possono essere sintetizzati idrocarburi come etano ed etilene, monossido di carbonio nonché acidi carbossilici come quello formico, anche se i principali composti che vengono prodotti attraverso l'idrogenazione sono il metano e il metanolo (Arakawa, 1998). Considerando questi ultimi due, è preferibile la sintesi del metanolo a causa della maggiore densità energetica e dei costi di stoccaggio e trasporto decisamente inferiori a quelli del CH_4 . I catalizzatori impiegati in questi processi sono costituiti da metalli e ossidi metallici le cui proprietà di selettività e attività catalitica dipendono dal catalizzatore impiegato, dalle dimensioni, dal tipo di supporto, dalla presenza di additivi e da condizioni operative di reazione come temperature e pressioni (Arakawa, 1998).

L'utilizzo di fonti energetiche rinnovabili distribuite in natura, da integrare nei processi chimici che adoperano la CO_2 , porterà presumibilmente a una produzione delocalizzata su piccola scala. Per mantenere un'efficienza di processo adeguata e un costo competitivo risulta fondamentale l'accoppiamento di processi diversi, lo sfruttamento di cascami termici, l'adozione di processi flessibili ed elastici, adattabili a differenti località geografiche. E' altrettanto importante puntare alla produzione di prodotti con alto valore aggiunto, possibilmente più alto dei combustibili.

In questo contesto, una tecnologia che risulta particolarmente vantaggiosa è la riduzione della CO_2 a monossido di carbonio, in quanto la miscela di CO e H_2 costituisce un syngas che può essere impiegato per alimentare processi industriali innovativi come quello che porta alla sintesi di PHA a partire da colture batteriche e che sarà l'argomento principale di questa tesi.

1.2. I bioreattori

1.2.1 Definizione di bioreattore

I bioreattori sono delle apparecchiature utilizzate in ambito biotecnologico per la conversione di un substrato in un determinato prodotto tramite l'azione di cellule viventi, di microrganismi o di enzimi. Per l'importanza che rivestono nel contesto di un processo biochimico possono essere considerati come il cuore del processo stesso (Spier *et al.*, 2011). Si possono classificare in (Spier *et al.*, 2011):

- *colture di tessuti*- sono così denominati i processi che adoperano cellule animali o vegetali;
- *reattori microbici*- adoperano microrganismi come batteri, lieviti e funghi;
- *reattori enzimatici*- non utilizzano cellule viventi ma biocatalizzatori a base proteica (enzimi).

I bioreattori hanno spesso la forma di serbatoi (generalmente cilindrici) e dimensioni fino a diversi metri cubi ma differiscono per la configurazione geometrica e per il design ingegneristico, scelti in base al tipo di processo che devono ospitare. Le applicazioni sono molteplici e vanno dalla produzione di biomassa (lievito, cellule animali, microalghe), alla produzione di metaboliti (acidi organici, etanolo, farmaci) fino alla produzione di composti enzimatici (Spier *et al.*, 2011). Essendo spesso costituiti da un sistema complesso di tubazioni e richiedendo condizioni operative ben determinate, occorre prestare particolare attenzione nel controllo di processo che permette di individuare tempestivamente situazioni di mal funzionamento o problemi in fase di produzione. Sebbene siano più difficili da gestire rispetto ai classici reattori, presentano il vantaggio di poter contribuire alla sintesi sostenibile di composti chimici o prodotti ad alto valore aggiunto anche, e soprattutto, a partire da materie prime di scarto come i rifiuti organici. Permettono altresì la conversione di sottoprodotti indesiderati e spesso nocivi in composti più tollerati dall'ambiente e dagli organismi viventi. Ospitano sovente, inoltre, processi che avvengono a bassa temperatura permettendo quindi anche una sostanziale economicità energetica.

1.2.2 Configurazioni più utilizzate e problemi da affrontare

Il design di un bioreattore è fondamentale per un corretto funzionamento dell'apparecchiatura e per ottenere le condizioni di coltura e la produzione desiderata. In base alle esigenze del prodotto esistono differenti configurazioni reattoristiche che prevedono vantaggi e svantaggi diversi ma possono comunque essere individuati dei problemi comuni ai vari tipi di sistema. Un parametro da considerare nella progettazione di un bioreattore è sicuramente il tempo: occorre conoscere a fondo le velocità di crescita cellulare nonché quelle di trasferimento di materia ed energia (Mandenius, 2016). Questi ultimi risultano spesso essere fattori limitanti a causa della bassa solubilità di alcuni gas nei liquidi o alle dimensioni del sistema che possono rallentare lo scambio termico con l'ambiente. Uno step fondamentale consiste infatti nel passaggio di scala da un reattore da laboratorio a uno per la produzione industriale. E' importante, in questo caso, tenere conto anche delle dinamiche di riproduzione cellulare, regolate dal giusto apporto di nutrienti e fattori di crescita (Mandenius, 2016). Esistono poi fattori ambientali in senso più ampio come la temperatura e l'umidità che rivestono un ruolo determinante nel corretto sviluppo dei processi fisici e delle reazioni chimiche presenti nel sistema (Mandenius, 2016). Inoltre, nei processi biologici, occorre prestare particolare attenzione all'assenza di contaminanti e alle condizioni di sterilizzazione che possono avere un impatto enorme sulla produttività desiderata. In base al design si possono distinguere diversi sistemi bioreattoristici.

Il CSTR è probabilmente il tipo di bioreattore più comunemente diffuso nell'industria grazie alla sua versatilità e flessibilità (Mandenius, 2016). Questo reattore lavora in continuo e può essere idealmente modellato secondo le ipotesi di perfetta miscelazione (assenza di gradienti di proprietà quali temperatura, concentrazione, ecc...) e stazionarietà (il volume rimane costante perché il flusso in ingresso e quello in uscita si equivalgono). Come si nota dalla figura 1.1, esso è generalmente costituito da un serbatoio dotato di una girante che, tramite l'agitazione meccanica, permette un miglioramento dei fenomeni di trasporto di proprietà. Le dimensioni del recipiente possono variare da alcuni litri fino a diversi metri cubi per i reattori su larga scala e il rapporto altezza/diametro è in genere compreso tra 2:1 e 6:1 (Spier *et al.*, 2011). Generalmente il liquido occupa il 70-80% del volume del reattore e lo spazio di testa è occupato da gas o da eventuali schiume (Spier *et al.*, 2011). Il principale svantaggio di un CSTR consiste nella presenza di un agitatore che richiede consumi energetici elevati e che non sempre è in grado di garantire la corretta miscelazione del sistema.

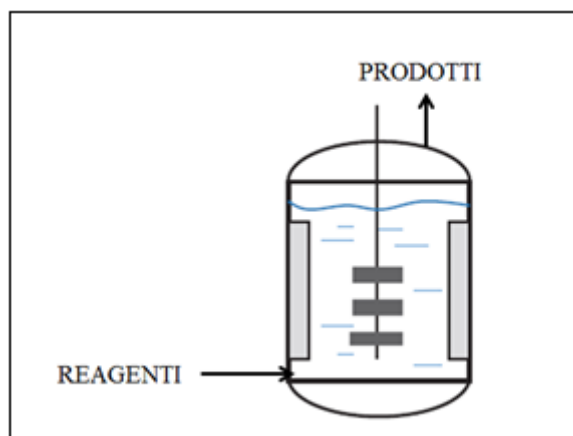


Figura 1.1: Schema di un bioreattore CSTR. Immagine tratta da (Mandenius, 2016) con modifiche.

Le colonne a bolle (BCR) sono reattori in cui la miscelazione non avviene tramite un mezzo meccanico ma con l'utilizzo di bolle disperse di gas che risalgono il reattore scambiando materia con la fase continua. In figura 1.2 è presente lo schema classico di un BCR: esso è generalmente costituito da un serbatoio cilindrico, dotato sul fondo di alcuni sparger dai quali fuoriesce il gas; talvolta il diametro del cilindro è più grande in testa al reattore per facilitare la rottura delle bolle e prevenire la formazione di schiume (Spier *et al.*, 2011). Il tipo di sparger influenza la forma e la dimensione delle bolle andando a modificare la quantità di gas rilasciato; le configurazioni più frequentemente adoperate prevedono piatti forati o porosi, membrane e distributori ad anello (Spier *et al.*, 2011). Questo tipo di reattori sono spesso presenti nell'industria chimica, petrolchimica e biotecnologica e vengono adoperati anche per la produzione di prodotti di alto valore come enzimi, proteine ed antibiotici (Spier *et al.*, 2011). Il principale limite di questi sistemi consiste nella bassa velocità di trasferimento del gas che può rappresentare un problema per i microrganismi con una crescita particolarmente veloce (Mandenius, 2016). La tecnologia delle colonne a bolle è già notevolmente avanzata ma miglioramenti nel campo della fluidodinamica possono contribuire a risolvere tale inconveniente.

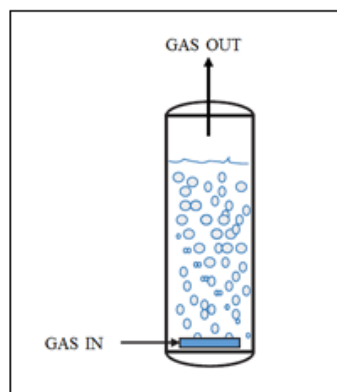


Figura 1.2: Schema di un bioreattore BCR. Immagine tratta da (Mandenius, 2016) con modifiche.

I bioreattori *Airlift* (ARL) hanno una configurazione simile ai BCR ma la miscelazione avviene tramite un tubo centrale o canali laterali che consentono un movimento ciclico dei fluidi. Il ricircolo può essere interno o esterno: nel primo caso la circolazione dei due fluidi avviene in canali distinti mentre nel secondo caso avviene in un unico serbatoio in cui è posizionata una barriera che regola la direzione dei vari flussi (Spier *et al.*, 2011). Le strutture degli ARL possono essere diverse tra loro e miglioramenti nella fluidodinamica possono portare alla progettazione di sistemi più efficienti. Un esempio di ARL è rappresentato in figura 1.3.

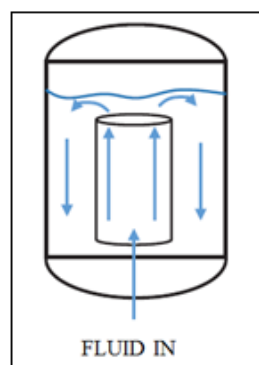


Figura 1.3: Schema di un bioreattore *Airlift*. Immagine tratta da (Mandenius, 2016) con modifiche.

Come si evince dalla figura 1.4, i bioreattori a letto fluidizzato sono costituiti da recipienti con elevato rapporto altezza/diametro, solitamente superiore a 10:1 (Spier *et al.*, 2011). Sfruttano la differenza di densità tra un fluido (gas, liquido o miscela di entrambi) e particelle solide, per ottenere la fluidizzazione del letto. Vengono utilizzati nel campo del trattamento delle acque reflue e nelle fermentazioni di colture per la produzione di metaboliti microbici o biomassa (Spier *et al.*, 2011). Questi bioreattori presentano gli stessi limiti delle colonne a bolle: permettono la miscelazione del sistema anche in assenza di un mezzo meccanico ma consentono un basso trasferimento di materia (Mandenius, 2016).

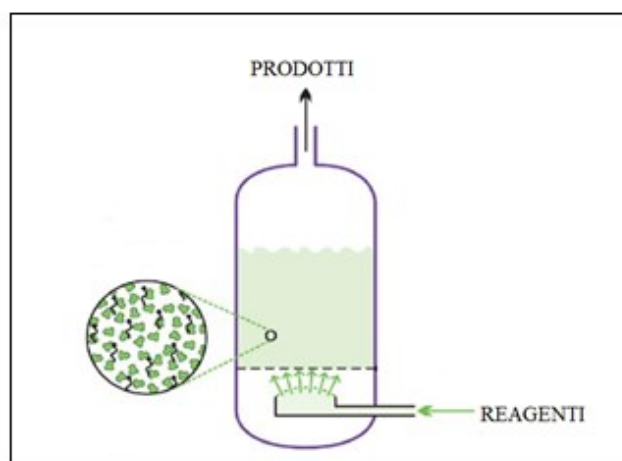


Figura 1.4: Schema di un bioreattore a letto fluidizzato. Immagine tratta da (Chemical reactors, 2013) con modifiche.

I bioreattori a letto impaccato (PBR) sono costituiti da un letto fisso nel quale sono presenti le cellule, fissate tramite l'azione di supporto di un carrier, e da un serbatoio che viene utilizzato per ricircolare il medium attraverso il letto. Le configurazioni possibili sono due, con il letto posizionato internamente o esternamente al serbatoio di liquido (Spier *et al.*, 2011). Nella modellazione di un reattore PBR è importante individuare un tipo di impaccamento adeguato che permetta la corretta crescita cellulare e l'ottimizzazione di parametri operativi quali altezza del letto e velocità di scambio di materia. Vengono attualmente adoperati materiali di riempimento con porosità elevata come dischi di poliestere o barriere di polipropilene, sfere ceramiche, fibre di vetro, poliuretano o resine poliviniliche (Spier *et al.*, 2011). I principali vantaggi di questi bioreattori sono rappresentati dall'elevata conversione e dai bassi costi operativi. Lo schema di un reattore PBR è rappresentato in figura 1.5.

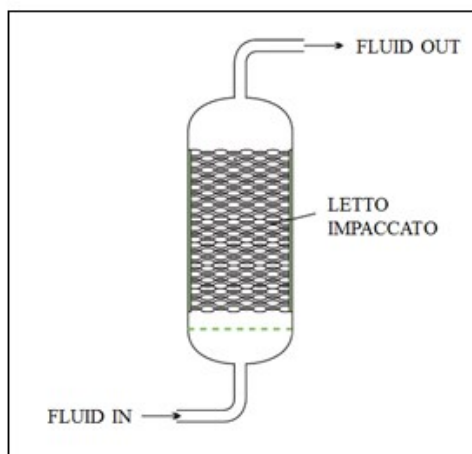


Figura 1.5: Schema di un bioreattore PBR. Immagine tratta da (Chemical reactors, 2013) con modifiche.

I reattori a membrane (MBR) si sono diffusi a partire dagli anni '90 e rappresentano una tecnologia in rapida espansione sia nel campo della ricerca che in quello commerciale (Spier *et al.*, 2011). Attualmente vengono adoperati per il trattamento delle acque reflue industriali e domestiche, processi nei quali sono richiesti limiti stringenti sulla presenza di inquinanti (Spier *et al.*, 2011). In questo contesto, i bioreattori MBR operano una depurazione biologica combinando lo smaltimento dei fanghi attivi con un sistema di filtrazione a membrana che sostituisce la sedimentazione secondaria. Un esempio schematico di MBR è presente in figura 1.6. La dimensione dei pori delle membrane è generalmente inferiore a 0.1 μm permettendo così la produzione di un effluente chiarificato e sostanzialmente disinfettato (Spier *et al.*, 2011). Un altro vantaggio è rappresentato dalla concentrazione della biomassa che riduce le dimensioni necessarie per il serbatoio e incrementa l'efficienza del processo (Spier *et al.*, 2011). Gli svantaggi invece consistono nella possibile occlusione del mezzo filtrante e nel costo ancora elevato per la fabbricazione delle membrane.

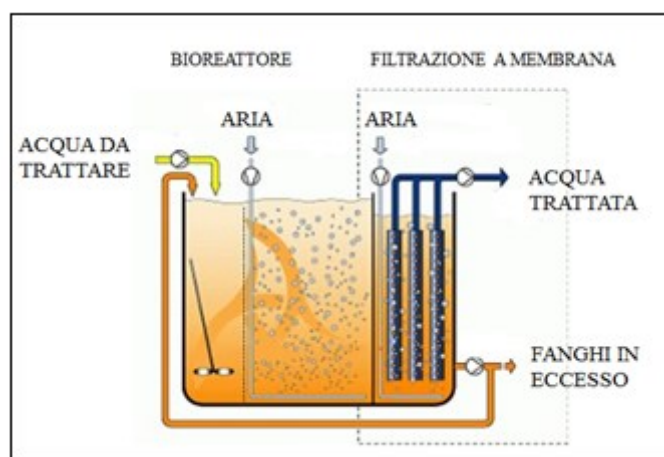


Figura 1.6: schema di un MBR. Immagine tratta da (Submerged membrane bioreactor,2015) con modifiche.

1.2.3 Sfide e sviluppi futuri

Le sfide da affrontare nel campo della bioreattoristica sono numerose e possono portare in un futuro prossimo a un netto miglioramento nella capacità di gestione dei sistemi e, di conseguenza, a un incremento della capacità produttiva e della qualità dei prodotti ottenuti. Per quanto riguarda i processi biologici, la scoperta di nuove informazioni sui microrganismi e del loro comportamento in condizioni particolari potrà portare all'ottimizzazione delle colture cellulari e al design di processi non ancora esistenti. La diffusione di strumenti più sofisticati di analisi biologica può, infatti, facilitare la progettazione di nuovi bioreattori per il miglioramento delle performance e della stabilità (Mandenius, 2016). Sviluppi nell'ambito del controllo potranno invece consentire il mantenimento delle condizioni ottimali per ogni situazione specifica. L'utilizzo di software informatici per la creazione di modelli fisici e la simulazione sono e saranno fondamentali per fare ipotesi preliminari da valutare poi su impianti pilota o su microreattori (Mandenius, 2016). E' importante poi considerare il bioreattore non come singola unità ma come parte di un intero processo, valutandone l'accoppiamento con altre unità operative o l'utilizzo in più processi per minimizzare le sostanze di scarto e ottimizzare la spesa energetica. La chiave del successo di questa strategia risiede nella sinergia tra le ricerche in campo biologico e lo sviluppo di nuove soluzioni ingegneristiche promosse da una cooperazione tra biologi, biotecnologi e ingegneri (Mandenius, 2016). Numerosi passi in avanti possono essere compiuti in particolare nel campo della produzione di cellule staminali, nella sintesi di metaboliti e proteine nonché nella produzione di polimeri. I polioidrossialcanoati rappresentano un'opportunità interessante perché possono anche essere prodotti a partire da syngas, permettendo così lo sfruttamento della CO_2 come materia prima e contribuendo all'abbattimento dell'emissione di gas serra.

1.3. Le bioplastiche

1.3.1 Plastiche tradizionali e relativi problemi

La plastica è un materiale importantissimo e molto comune perché viene utilizzata per una moltitudine di prodotti. La richiesta sul mercato è tale che la produzione di polimeri è continuamente aumentata da 50 anni a questa parte fino a quasi 300 milioni di tonnellate (Dietrich *et al.*, 2017). I polimeri tradizionali però, che sono basati su fonti fossili, presentano dei problemi che si ripercuotono sull'ambiente e sugli organismi che lo abitano. Il principale difetto della plastica è infatti quello della biodegradabilità. Una semplice bottiglia può rimanere nell'ambiente migliaia di anni prima di subire degradazione chimica, con danni particolarmente rilevanti soprattutto per gli ecosistemi acquatici. Attualmente viene destinata allo smaltimento in discarica una percentuale tra il 22% e il 43% della plastica già utilizzata, contribuendo all'inquinamento di acqua e suolo a causa degli additivi tossici contenuti (Dietrich *et al.*, 2017). Le percentuali di plastica riciclata si attestano, invece, sul 9% per gli USA e sul 26% per l'Europa anche se il trattamento di questi polimeri avviene spesso in Paesi con regole ambientali meno rigide, con processi tecnologicamente arretrati e con scarsi sistemi di controllo degli inquinanti (Dietrich *et al.*, 2017). In Europa viene destinato all'incenerimento il 36% dei rifiuti plastici, attraverso un trattamento che consente di ottenere energia termica tramite combustione ma che porta alla formazione di composti tossici come diossine, idrocarburi policiclici aromatici e metalli pesanti. Inoltre, l'incenerimento della plastica mette in circolo nell'ambiente una percentuale di carbonio, sotto forma di CO₂, che era stata fissata milioni di anni fa in composti fossili e non faceva più parte del ciclo naturale del carbonio (Koller *et al.*, 2010). L'aumento della concentrazione atmosferica di anidride carbonica dovuto a questo fenomeno contribuisce in maniera importante ai cambiamenti climatici legati all'effetto serra. La sostituzione dei polimeri tradizionali con le bioplastiche ha il potenziale di decuplicare la crescita economica, sopperire alla mancanza di risorse e ridurre notevolmente l'impatto ambientale (European bioplastics, 2018). I biopolimeri rappresentano pertanto uno strumento importante nel quadro della bioeconomia per continuare ad utilizzare materiali con determinate caratteristiche tecnologiche ma che possano essere sintetizzati e smaltiti senza conseguenze per l'ambiente.

1.3.2 Bioplastiche e loro classificazione

Le bioplastiche sono costituite da famiglie diverse di polimeri con proprietà e caratteristiche ben differenti. Possono essere divise in tre gruppi principali (European bioplastics, 2018):

- Plastiche bio-based (o parzialmente bio-based) non biodegradabili. Fanno parte di questo gruppo quei polimeri che vengono prodotti a partire da composti naturali ma che non presentano caratteristiche di degradabilità nell'ambiente. I principali sono il bio-PE, il bio-PP e il bio-PET.
- Plastiche che sono sia bio-based che biodegradabili come il PLA, i PHA e il PBS.
- Plastiche basate su risorse fossili ma biodegradabili come il PBAT.

I biopolimeri del primo gruppo presentano caratteristiche pressoché identiche a quelle delle loro versioni convenzionali; sono, cioè, tecnicamente equivalenti a quelle ottenute da fonti fossili ma seguono un'altra filiera per il riciclo. La proprietà di biodegradabilità invece non dipende dalla fonte del materiale (fossile o naturale) ma è una caratteristica direttamente collegata alla struttura chimica del polimero. Le plastiche biodegradabili offrono nuove vie di recupero e riciclo che prevedono anche il compostaggio in impianti industriali se sono incluse nella certificazione EN 13432 (European bioplastics, 2018).

1.3.3 Dati sulla produzione di bioplastiche

Attualmente le bioplastiche rappresentano circa l'1 % delle 300 milioni di tonnellate di plastica prodotte ogni anno ma la domanda cresce annualmente di una percentuale compresa tra il 20% e il 100% (European bioplastics, 2018). Questa espansione del mercato è guidata dalla sintesi di materiali con proprietà sempre migliori, dall'aumento delle applicazioni e dall'individuazione di prodotti nuovi e più competitivi con i polimeri tradizionali. I dati attuali fanno pensare che la produzione di bioplastica possa aumentare, nel medio termine, da circa 4.2 milioni di tonnellate del 2016 a oltre 6 milioni nel 2021 (European bioplastics, 2018). Nonostante il mercato sia oggi guidato dai polimeri bio-based (bio-PE, bio-PUR, bio-PET) che non presentano adeguate caratteristiche di biodegradabilità, la capacità di produzione di plastiche più facilmente decomponibili nell'ambiente come il PLA e i PHA dovrebbe crescere da circa 0.9 milioni di tonnellate del 2016 fino a quasi 1.3 milioni nel 2021 (European bioplastics, 2018). In particolare, la sintesi di PHA dovrebbe quadruplicare entro il 2021, rispetto ai valori di produzione del 2016 grazie all'espansione su nuovi mercati come quello asiatico e al consolidamento in quello americano ed europeo. Il settore di applicazione che gioca un ruolo chiave è quello del packaging nel quale viene impiegato il 40% delle bioplastiche prodotte, seguono poi i beni di consumo (22%), l'automotive (14%) e il settore delle costruzioni (13%) (European bioplastics, 2018).

1.4 I PHA

I poli-idrossialcanoati (PHA) sono un gruppo di poliesteri sintetizzati come materiale di riserva da una vasta gamma di microrganismi sotto condizioni nutrizionali sbilanciate (Jiang *et al.*, 2016). Grazie alle loro proprietà flessibili, i PHA possono potenzialmente sostituire il polipropilene, il polietilene e il polistirene che sono i tre principali polimeri presenti sul mercato (Dietrich *et al.*, 2017). Sono inoltre gli unici polimeri degradabili al 100%: dalla loro decomposizione si ottiene anidride carbonica e acqua in condizioni aerobiche, con l'aggiunta di metano in condizioni anaerobiche. Altre bioplastiche presenti sul mercato, infatti, non presentano questa caratteristica e possono rimanere nell'ambiente per migliaia di anni (DiGregorio, 2009). Si ritiene che sostituire i polimeri sintetizzati a partire da fonti fossili con i PHA possa ridurre le emissioni di gas serra del 200% e l'uso di energia fossile del 95% (DiGregorio, 2009).

1.4.1 Struttura e proprietà

I PHA sono polimeri semicristallini con grado di cristallinità variabile e proprietà che spaziano da quelle termoplastiche fino a quelle delle gomme elastomeriche. Le caratteristiche di queste bioplastiche possono essere controllate tramite la scelta dei substrati, dei batteri che le sintetizzano, delle condizioni di fermentazione (Dietrich *et al.*, 2017) ma soprattutto attraverso la composizione dei copolimeri (Doi, 1995). Il PHA più noto è il poli-3-idrossibutirrato P(3HB) che, in forma di omopolimero, rappresenta un classico materiale termoplastico. La sua formula chimica di struttura è rappresentata in figura 1.7. Le sue proprietà meccaniche come modulo elastico e resistenza a trazione, infatti, sono simili a quelle del polipropilene isotattico anche se l'allungamento a rottura è notevolmente inferiore (Doi, 1995). La temperatura di fusione si attesta sui 180 °C, ciò permette la lavorazione tramite filatura con la quale si ottengono le fibre del polimero. Può essere adoperato per applicazioni che richiedono un range di temperatura compreso tra i -30°C e i +120°C anche se la sua velocità di cristallizzazione particolarmente lenta ne restringe l'utilizzo alla produzione di oggetti poco massicci (Shen, Haufe and Patel, 2009). Il P(3HB) è caratterizzato da una bassa solubilità in acqua e da alta resistenza alla degradazione idrolitica, ai raggi UV e alla penetrazione di ossigeno (Shen, Haufe and Patel, 2009). I principali svantaggi di questo polimero sono invece costituiti dall'elevata

degradazione causata da acidi e basi e, soprattutto, dalle sue caratteristiche di rigidità e fragilità che ne limitano l'impiego (Doi, 1995).

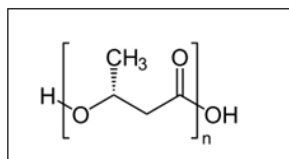


Figura 1.7: formula chimica di struttura del P(3HB).

Un metodo per migliorare le proprietà meccaniche del P(3HB) consiste nella formazione di copolimeri utilizzando monomeri di altri idrossialcanoati (Doi, 1995) in tal senso, i più utilizzati sono il 3-idrossivalerato (3HV) e il 3-idrossiesanoato (3HHx). Il copolimero P(3HB-co-3HV) ha cristallinità più bassa dell'omopolimero ma viscosità di fusione più elevata e biodegradabilità simile. Aumentando la percentuale di 3HHx si ottiene una diminuzione della resistenza a trazione e, di conseguenza, un materiale più soffice e flessibile (Shen, Haufe and Patel, 2009). I PHA a media catena si comportano da elastomeri con punto di fusione e temperatura di transizione vetrosa molto più bassi. Incrementando le dimensioni delle ramificazioni, il modulo di Young e la tensione di snervamento diminuiscono, a causa di difetti che causano la rottura dei cristalli e aumentano il disordine molecolare (Shen, Haufe and Patel, 2009). Un altro metodo per migliorare le proprietà meccaniche consiste nell'utilizzare un omopolimero di P(3HB) con peso molecolare ultra elevato (compreso tra $3 \cdot 10^6$ e $1.1 \cdot 10^7$), ottenibile da E.coli ricombinante (Shen, Haufe and Patel, 2009). Questa tecnologia non è ancora molto diffusa e si pensa possa trovare nuove applicazioni in futuro. In tabella 1.1 sono riassunte le principali proprietà meccaniche dei PHA più utilizzati in ambito tecnologico.

Tabella 1.1. Proprietà caratteristiche dei principali poliidrossialcanoati. Tabella tratta da (Shen, Haufe and Patel, 2009) con modifiche.

	Temperatura di fusione [°C]	Temperatura di transizione vetrosa [°C]	Resistenza a trazione [MPa]	Modulo di Young [GPa]	Allungamento a rottura [%]
PHB	177	4	40	3.5	6
Poli (3HB-co-3% 3HV)	170	—	38	2.9	—
Poli (3HB-co-20% 3HV)	145	-1	32	1.2	50
Poli (4HB)	60	-50	104	149	1000
Poli (3HB-co-3% 4HB)	166	—	28	—	45
Poli (3HB-co-16% 4HB)	152	-8	26	—	444
Poli (3HB-co-64% 4HB)	50	—	17	30	591

1.4.2 Dati sulla produzione di PHA

Il PHA è stato prodotto commercialmente fin dagli anni '80 ma le sue applicazioni sono rimaste limitate a causa dell'alto costo di produzione. Il principale ostacolo all'inizio di una produzione su larga scala era rappresentato dal basso costo del petrolio anche a causa dello sfruttamento dell'olio di scisto (Dietrich *et al.*, 2017). All'inizio del 2003, l'aumento del prezzo del greggio sopra i 100\$ al barile ha portato a un rivivo interesse industriale per queste bioplastiche anche se allora il prezzo era 15-17 volte più elevato di quello dei principali polimeri tradizionali (Dietrich *et al.*, 2017). La *Tianan Biological Material Co. Ltd* (Cina) è attualmente il principale produttore su larga scala di PHBV al mondo. La prima linea di produzione, che aveva la capacità di 1000 t/a, è stata installata a dicembre 2003 e include 3 fermentatori da 50 metri cubi (Shen, Haufe and Patel, 2009). Nel novembre 2007, l'azienda ha incrementato la capacità annuale a 2000 t/a e la produzione è in continuo aumento (Shen, Haufe and Patel, 2009). Nel 2008, la *Telles* formata da *Metabolix Inc.* e *Archer Daniels Midland Co* (USA) ha intrapreso la costruzione di un impianto di PHA in Iowa che ha iniziato la produzione nel 2009 (Dietrich *et al.*, 2017). La *Kaneka Corp.* (Giappone) produce attualmente P(3HB-co-HHx) da olio vegetale su piccola scala. L'azienda pensa di incrementare la produzione fino a 50000 t/a nel 2020 (Shen, Haufe and Patel, 2009). La *Tianjin Green BioSciences Ltd. Co* (Cina) produce P(3HB-co-4HB) dal 2004 con una produzione di 10000 t/a (Dietrich *et al.*, 2017). La *Meridian Inc* (USA) ha acquistato la tecnologia di *P&G* nel 2007 e ha realizzato il primo impianto in USA e ha pianificato di produrre 270 000 t/a (Shen, Haufe and Patel, 2009). In Italia, partendo da zucchero da barbabietola, *Bio-on* ha sviluppato un tipo di PHA con punto di fusione tra i 40°C e i 180°C mentre in Brasile la produzione industriale è stata integrata negli stabilimenti che lavorano lo zucchero di canna (Dietrich *et al.*, 2017). Attualmente, infatti, la maggior parte del PHA è prodotto sfruttando colture alimentari, zucchero di canna e oli vegetali. Ciò si riflette direttamente sul costo di produzione che è influenzato per il 50% dal costo delle materie prime (Mozumder *et al.*, 2014). Inoltre i processi di fermentazione hanno generalmente spese energetiche più alte e rese più basse in confronto ai processi chimici tradizionali. Ulteriori ostacoli includono difficoltà nel controllare la struttura e le proprietà dei polimeri, difficoltà nell'estrazione con tecnologie esistenti e mancanza di applicazioni di alto valore (Dietrich *et al.*, 2017). Pertanto, la maggior parte della ricerca sul PHA è finalizzata alla riduzione dei costi. I fattori principali che contribuiscono al prezzo finale sono la produttività, la resa, il costo delle materie prime e i sistemi di recupero del prodotto (Dietrich *et al.*, 2017). I miglioramenti nella produzione hanno portato al raggiungimento del prezzo di 5\$ al kg nel 2009, tre volte superiore a quello del polipropilene (Dietrich *et al.*, 2017). Pertanto i PHA hanno ancora un mercato limitato, nonostante il loro potenziale di sostituire il 33% dei polimeri commerciali (Dietrich *et al.*, 2017). La *Tianan* ritiene di poter arrivare a 3.52 \$/kg nel 2020 mentre la *Kaneka* a 3.4 \$/kg (Shen, Haufe and Patel, 2009). La produzione di PHA è incrementata notevolmente durante l'ultimo decennio, le previsioni stimano un aumento progressivo dalle 32000 tonnellate nell'anno 2013 a oltre 72000 tonnellate per il 2018 (Criddle, Billington and Frank, 2014). La tabella 1.2 riassume i principali produttori globali di PHA.

Gli incentivi da parte dei governi nazionali possono promuovere cambiamenti verso pratiche più sostenibili, portando a una maggior diffusione di aziende interessate alla sintesi dei PHA. L'uso potenziale di prodotti di scarto come materia prima apre le porte a nuovi metodi di produzione che non si basano su colture alimentari ed energia importata permettendo una diminuzione del prezzo e contemporaneamente la valorizzazione e il reimpiego di sottoprodotti.

Tabella 1.2: Principali produttori di PHA. Tabella tratta da (Shen, Haufe and Patel, 2009) con modifiche.

Azienda	Location	Materie prime	PHA	Nome commerciale	Scala di produzione
<i>Tianan</i>	Cina	Zuccheri del mais	P(3HB- <i>co</i> -3HV)	Enmat	Industriale
<i>Telles</i>	USA	Zuccheri del mais	Copolimeri di PHB	Mirel	Industriale (preannunciato)
<i>Kaneka</i>	Giappone	Olio vegetale	P(3HB- <i>co</i> -3HHx)	Kaneka	Pilota e industriale (preannunciato)
<i>Green Bio/DSM</i>	Cina	Zuccheri (non specificati)	P(3HB- <i>co</i> -4HB)	Green Bio	Pilota e industriale (preannunciato)
<i>PHB Industrial</i>	Brasile	Zucchero di canna	P(3HB) P(3HB- <i>co</i> -3HV)	Biocycle	R&D, pilota e industriale (preannunciato)
<i>Biomer</i>	Germania	Zucchero (saccarosio)	P(3HB)	Biomer	R&D, pilota
<i>Mitsubishi Gas Chemical</i>	Giappone	Metanolo (da gas naturale)	P(3HB)	Biogreen	R&D, pilota
<i>Biomatera</i>	Canada	Zuccheri (non specificati)	P(3HB- <i>co</i> -3HV)	Biomatera	R&D, pilota
<i>Meredian</i>	USA	Zuccheri del mais	n. d		industriale (preannunciato)
<i>Tepha</i>	USA	n. d	n. d	TephaFlex, TephElast	R&D, pilota
<i>Tianzhu</i>	Cina	n. d	P(3HB- <i>co</i> -3HHx)	Tianzhu	R&D, pilota
<i>P&G</i>	USA	—	P(3HB- <i>co</i> -3HO) P(3HB- <i>co</i> -3Hod)	Nodax Nodax	Fermata nel 2006
<i>Mosanto</i>	Giappone	—	P(3HB- <i>co</i> -3HV)	Biopol	Fermata nel 1998
<i>Zeneca</i>	Regno Unito	—	P(3HB- <i>co</i> -3HV)	Biopol	Fermata nel 1996

1.4.3 Produzione di PHA da syngas

Recentemente sono state studiate delle soluzioni che permettono di produrre PHA valorizzando miscele gassose denominate syngas. I processi di sintesi di poliidrossialcanoati che utilizzano questa metodologia sono generalmente costituiti da due step:

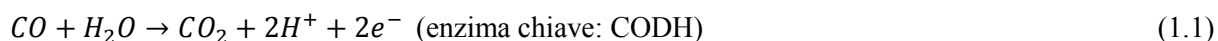
1. Inizialmente la crescita dei batteri avviene tramite una fonte di carbonio “tradizionale”, ossia attraverso lo sfruttamento di zuccheri (glucosio, fruttosio) o acetato. Questa fase viene denominata crescita eterotrofa.
2. Successivamente si alimenta il syngas come fonte di nutrimento per i microrganismi e per stimolare la produzione dei composti desiderati. Questa fase costituisce invece la crescita autotrofa.

Esistono diversi tipi di syngas, ognuno dei quali caratterizzato dalla propria composizione e sfruttabile da differenti specie microbiche. Il *Cupriavidus necator*, ad esempio, è una specie batterica in grado di utilizzare una miscela gassosa composta da idrogeno, ossigeno e anidride carbonica come substrato per la sintesi di PHB ed è caratterizzato da un tasso di crescita molto elevato. A questo microrganismo viene generalmente flussato un syngas con H₂, O₂ e CO₂ rispettivamente in rapporto 7:1:1 (Ishizaki and Tanaka, 1990). La composizione della miscela è un parametro di fondamentale importanza in questi sistemi sia perché una corretta ripartizione tra i composti permette una crescita microbica adeguata sia perché la miscela potrebbe rientrare nel suo range di infiammabilità con il potenziale pericolo di scoppio. Un limite attuale della crescita batterica in fase autotrofa è rappresentato dalla bassa solubilità di gas come idrogeno e ossigeno nel medium di coltura. Questo problema ha spinto i ricercatori a valutare condizioni operative caratterizzate da pressione elevata dei bioreattori per favorire tale solubilità.

Un altro batterio in grado di produrre PHB a partire da syngas è il *Rhodospirillum rubrum* che, diversamente dal *Cupriavidus Necator*, utilizza una miscela costituita da monossido di carbonio, anidride carbonica, idrogeno ed azoto. Nel seguito di questa tesi si farà riferimento a questo batterio.

1.4.4 *Rhodospirillum Rubrum*

Il *Rhodospirillum rubrum* è un batterio viola, Gram-negativo, fotosintetico facoltativo che grazie al suo metabolismo versatile è molto utilizzato nell'industria per la produzione di una vasta gamma di composti. Esso, infatti, è in grado di crescere autotrofamente o eterotrofamente, in presenza o in assenza di ossigeno, ed è uno dei microrganismi più studiati per la conversione del syngas in prodotti ad alto valore aggiunto come i poliidrossialcanoati (Revelles *et al.*, 2016). *R. rubrum* è capace di utilizzare il CO, in condizioni anaerobiche, come fonte di carbonio ed energia per crescere, sia in presenza che in assenza di luce. Sfruttando altri nutrienti come l'acetato, il malato, l'estratto di lievito e l'ammonio questo microrganismo riesce a sintetizzare e accumulare, nel citoplasma delle cellule batteriche, PHA nella forma di poli(3-idrossibutirrato) (PHB) (Karmann *et al.*, 2017). Inoltre presenta il più alto tasso di assorbimento specifico di monossido di carbonio e la più alta conversione tra i batteri studiati (Subianto *et al.*, 2014). In presenza di CO sono innescate una deidrogenasi (CODH) e un'idrogenasi insensibile al monossido, questi due enzimi promuovono le seguenti reazioni:



Il flusso di elettroni risultanti è consegnato all'idrogenasi che produce H₂. Parte della CO₂ prodotta è assimilata nel materiale cellulare mentre quella residua è rilasciata nell'ambiente insieme all'idrogeno (Do *et al.*, 2006). *R. rubrum* può fissare la CO₂ nel materiale cellulare attraverso il ciclo di fissazione Calvin-Benson-Bassgam (CBB). Il ruolo principale del ciclo CBB è quello di fissare la CO₂ in composti organici in condizioni fotoautotrofe dove la CO₂ funge da sola fonte di carbonio (Revelles *et al.*, 2016). Studi dettagliati sul metabolismo del *R. rubrum* usando un substrato contenente carbonio 13

hanno mostrato una significativa assimilazione della CO₂ prodotta a partire dal syngas nel materiale cellulare e nel PHB, mentre il ciclo CBB rivestiva un ruolo minore (Revelles *et al.*, 2015). L'analisi dell'espressione genica offre una strategia preziosa per la bioconversione sostenibile del syngas in PHA. Per sviluppare tool molecolari per studiare e ingegnerizzare *R. rubrum*, il batterio è stato soggetto a un elevato numero di studi di fisiologia e analisi genetiche. Ciò ha reso possibile modificarlo geneticamente per più di 20 anni e anche scoprire recentemente la sequenza del suo genoma. L'ingegnerizzazione della specie può essere applicata per raggiungere la produzione desiderata e spingere il processo di fermentazione del syngas (Latif *et al.*, 2014). La produzione di PHA da *R. rubrum* ingegnerizzato è stata recentemente studiata (Jin and Nikolau, 2014). L'effetto della sovraespressione sistematica del gene biosintetico del PHA controllato da un promotore CO-indotto sulla produzione e sul tasso di crescita del PHA è stato studiato nel *R. rubrum* facendolo crescere anaerobicamente su un medium con N₂ limitante e una fonte di carbonio composta da CO, CO₂ e acetato. I risultati mostrano un aumento della capacità delle specie ricombinanti di produrre fino al 30% di PHA del CDW e hanno stabilito che i geni più significativi per la produzione di PHA per via biosintetica sono phaC2 e phaB (Do *et al.*, 2006). La figura 1.8 mostra le vie metaboliche del batterio che portano alla sintesi di PHB.

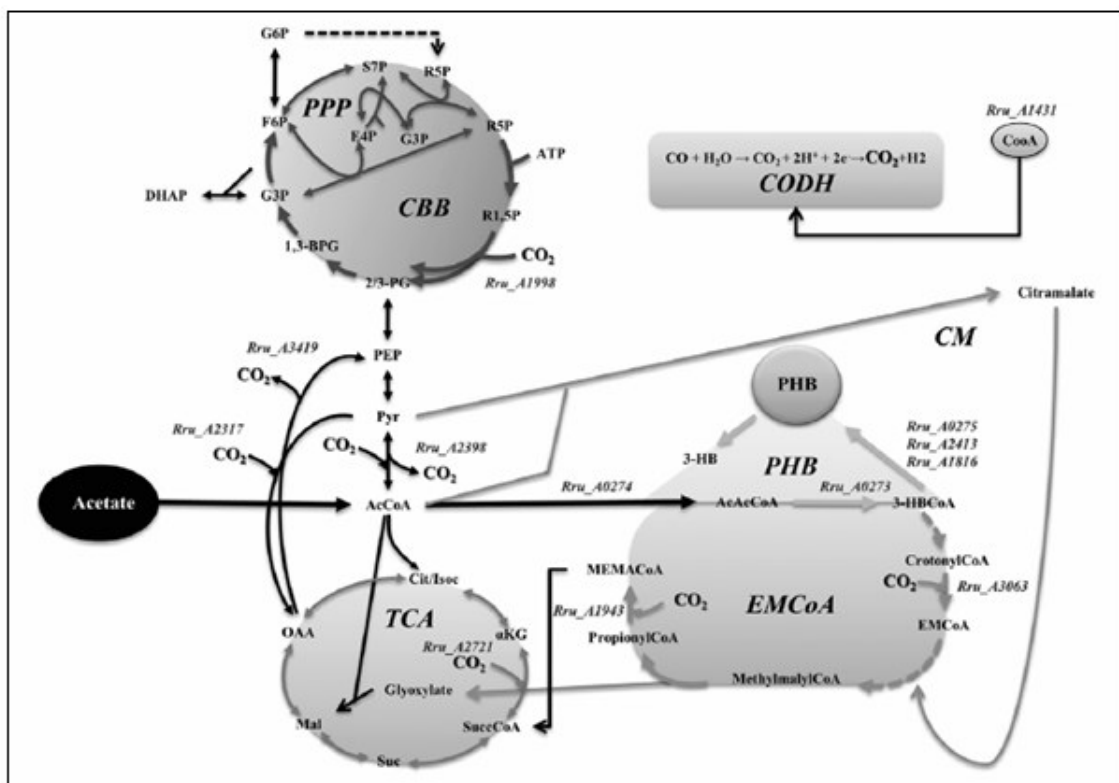


Figura 1.8: Via metaboliche per la sintesi di PHA da R.Rubrum. Figura tratta da (Revelles *et al.*, 2016) con modifiche

1.4.5 Applicazioni

Le applicazioni principali dei PHA riguardano il settore del packaging con particolare riferimento alla produzione di pellicole e contenitori in P(HB-HV) con caratteristiche simili alle plastiche tradizionali. Importante in questo senso è l'utilizzo nel campo alimentare: la buona resistenza ai raggi UV e la scarsa permeabilità all'ossigeno di queste bioplastiche permettono di proteggere gli alimenti dal deterioramento (Shen, Haufe and Patel, 2009). Altri oggetti di uso quotidiano possono essere borse di plastica, rasoi e prodotti per l'igiene personale come micropolveri per i cosmetici. Le industrie che

vendono PHA come materia prima per ulteriori trasformazioni producono le bioplastiche in forma di pellet o polvere permettendo una successiva lavorazione per estrusione convenzionale, stampaggio a iniezione, termoformatura e soffiatura (Dietrich *et al.*, 2017). Altre aziende si sono invece concentrate su applicazioni particolari e sintetizzano composti da utilizzare come additivi per PVC e PLA o agenti denitrificanti per gli acquari. Si stanno anche effettuando ricerche per l'utilizzo nel campo dei biocombustibili. In ambito medico-chirurgico è diffuso l'utilizzo del PHB per applicazioni in chirurgia ricostruttiva, ingegneria tessutale e come carrier nella formulazione di farmaci (Dietrich *et al.*, 2017). Questi biopolimeri, infatti, non sono tossici e possono essere assunti senza problemi in quanto la loro degradazione porta alla formazione di acido 3-idrossibutirrico che è naturalmente presente nel sangue e nelle membrane cellulari. Proprio queste proprietà stimolano la ricerca nello sviluppo di ulteriori applicazioni in ambito medico.

1.5 Il concetto di “Economia Verde”

Per “Economia Verde” si intende una serie di strategie economiche che permettono uno sviluppo produttivo affiancato a un'attenzione particolare per l'impatto ambientale. La sostenibilità della crescita economica deve essere basata su politiche che permettano di ridurre il consumo energetico, di rifiuti e di risorse naturali favorendo il riciclo e il reimpiego dei prodotti di scarto. L'adozione di soluzioni che riescano a migliorare l'efficienza energetica, l'abbattimento delle emissioni di inquinanti e creazione di un'economia in grado di sostenersi basandosi su fonti rinnovabili rappresentano i principali obiettivi da raggiungere in ambito bioeconomico. Risulta evidente quindi l'importanza dell'operato dei governi nazionali e delle istituzioni sovranazionali nell'individuare piani di azione che portino a una transizione dalle risorse fossili a quelle rinnovabili, attuando un cambiamento sistematico per l'intera industria energetica e chimica (Dietrich *et al.*, 2017). L'iniziativa dei privati è però altrettanto fondamentale perché in seguito alle politiche attuate a livello istituzionale, lo sviluppo dell'imprenditoria favorisce la creazione di nuovi posti di lavoro. Diversi studiosi, infatti, ritengono che l'“Economia Verde” possa portare effetti benefici anche sull'occupazione. Ad esempio, dagli studi effettuati si ritiene che l'espansione negli USA del settore delle “energia pulite” possa portare alla creazione di 1.7 milioni di posti di lavoro (Ge and Zhi, 2016).

1.6 Obiettivi e struttura della tesi

L'obiettivo di questa tesi si inquadra nel contesto sopra descritto di utilizzo della CO₂ come materia prima per la sintesi di composti chimici di alto valore. In particolare, è stata effettuata la modellazione e l'analisi di un bioreattore per la produzione di PHB a partire da un syngas contenente CO, H₂, CO₂ ed N₂ utilizzando colture di *Rhodospirillum rubrum*.

La modellazione di sistemi bioreattoristici, tramite l'utilizzo di software appositi, costituisce una valida base di partenza per comprenderne a pieno il funzionamento sperimentale, spesso caratterizzato da elevata complessità. Sovente la presenza di microrganismi con numerose vie metaboliche, sensibili specialmente a fattori ambientali e alla variazione delle condizioni operative, rende difficile ottenere risultati immediati da attività di laboratorio. Pertanto risulta particolarmente utile riprodurre virtualmente il sistema da studiare, creando un modello sul quale operare analisi di sensibilità per il miglioramento dei parametri desiderati.

Il capitolo 2 di questa tesi fa riferimento al bioreattore e alle apparecchiature ausiliarie. Esse vengono descritte dettagliatamente nei loro componenti per consentire una maggiore comprensione del funzionamento complessivo del sistema. Viene successivamente presentata la procedura sperimentale adoperata nell'articolo (Karmann *et al.*, 2017) per la preparazione del medium di coltura e dell'inoculo del batterio e vengono fornite le condizioni operative relative alla fermentazione del syngas. Infine,

sono mostrati i risultati ottenuti sul consumo di reagenti e la produzione di PHB, attraverso i grafici presenti nell'articolo. I dati raccolti sono stati utilizzati per riprodurre il funzionamento del reattore.

Il capitolo 3 è incentrato sulla teoria e sulle ipotesi che stanno alla base del modello fisico-matematico che descrive l'apparecchiatura. Nel corso della trattazione vengono approfonditi aspetti riguardanti la fluidodinamica, il trasporto di specie e il trasferimento del calore, ricavando le equazioni implementate dal software e riportando le ipotesi effettuate per la scelta delle stesse. Una parte del capitolo è dedicata alla crescita microbica, alla spiegazione del modello di Monod e alle reazioni chimiche che avvengono nel sistema.

Il capitolo 4, che descrive l'implementazione del modello su COMSOL Multiphysics®, si apre con un'introduzione generale sul software e sul suo funzionamento. Successivamente viene presentato l'albero del modello e la sua struttura e vengono analizzate in dettaglio tutte le "fisiche" che permettono di modellizzare i vari aspetti del trasporto di proprietà e le reazioni chimiche. Infine, viene presentata la tipologia di mesh adoperata per il calcolo degli elementi finiti e vengono mostrati gli studi che sono stati effettuati sul sistema.

Il capitolo 5 è dedicato alla presentazione dei risultati ottenuti dalle simulazioni. Viene inizialmente presentata la validazione del modello che conferma la riproduzione del funzionamento bioreattoristico. In seguito, vengono utilizzati i grafici forniti dal software per presentare i dati relativi alle variabili più importanti, giustificandone l'andamento.

Nel capitolo 6 vengono forniti i risultati delle analisi di sensibilità effettuate sul sistema. In particolare, è stata modificata la composizione del syngas in ingresso per valutarne l'influenza sulla produzione di PHB ed idrogeno e sono state effettuate modifiche nello sparger per apportare migliorie nella fluidodinamica e favorire la distribuzione della fase dispersa.

Nel capitolo 7 vengono presentate le conclusioni relative agli studi effettuati e vengono elencate le possibili sfide future riguardanti questo tipo di sistemi.

I capitoli successivi sono dedicati alla lista dei simboli, ai riferimenti bibliografici e ai ringraziamenti finali.

2. Descrizione del bioreattore e procedura sperimentale

2.1 Descrizione del bioreattore

Il bioreattore è costituito da un vessel di forma cilindrica del volume operativo di 2l, mostrato in figura 2.1. Le dimensioni di massima sono fornite nel capitolo 4, nella sezione riguardante la costruzione geometrica. Il sistema lavora in continuo grazie all'alimentazione che avviene attraverso uno sparger con tubo a forma di L mentre il syngas che non reagisce fuoriesce dal sistema attraverso un condotto installato sulla parte superiore del coperchio del reattore. Il sistema può essere considerato un CSTR in cui l'alimentazione avviene sotto forma di bolle, create dallo sparger.



Figura 2.1: Rappresentazione del bioreattore e dell'apparecchiatura di monitoraggio.

2.1.1 Pompe

Il bioreattore è dotato di tre sistemi diversi di pompaggio, ognuno dei quali è particolarmente indicato per una determinata funzione. Le caratteristiche di ciascuna pompa sono descritte nella tabella 2.1:

Tabella 2. 1. Caratteristiche delle pompe

Modello 1	Low Flow Liquid End	High Flow Liquid End
Portate tra 0.002 e 20 ml/min Prestazioni ottimali a bassi flussi	Portate tra 0.002 e 2.5 ml/min Pressione fissata a 6000 psi	Portate tra 0.01 e 20 ml/min Pressione fissata a 3000 psi
Alimentazione liquida	Anti-schiuma, acidi, basi, metalli disciolti	Medium di coltura

2.1.2 Motore e girante

L'agitazione del bioreattore è ottenuta tramite una girante, costituita da un albero sul quale sono calettate due turbine Rushton. Ogni turbina è costituita da 6 pale equidistanti come mostrato in figura 2.2. Il controllo della rotazione dell'albero avviene elettronicamente. Il motore del sistema ha una coppia massima di 100 N·cm e permette una velocità variabile tra 10 e 2000 rpm.



Figura 2.2: Turbina Rushton a 6 palette utilizzata per l'agitazione del liquido nel reattore.

2.1.3 Sistema refrigerante/riscaldante

Il potente sistema di pompaggio e circolazione permette elevate prestazioni per il riscaldamento e la refrigerazione consentendo il raggiungimento della temperatura desiderata in tempi rapidi. Il range di temperature di lavoro varia tra i -35 °C e +200°C. Per il raffreddamento viene di norma utilizzato etanolo. Il volume totale della vasca è di 8 litri.

2.1.4 Porta per l'inoculo

Durante il processo, la porta per l'inoculo può essere forata nel setto in PTFE/Silicone per inoculare i reagenti/microrganismi che non sono stati introdotti all'inizio del processo. Essa è rappresentata in figura 2.3. Questo sistema è stato preventivamente testato con acqua in pressione e sopporta pressioni superiori ai 10 bar.



Figura 2.3: Porta dotata di setto in PTFE/Silicone per l'inoculo sterile di reagenti e microrganismi.

2.1.5 Controllore di portata

Il bioreattore si avvale di un sistema di controllo della portata inviata che permette di effettuare prove sperimentali accurate. Le sue principali caratteristiche sono riassunte in tabella 2.2.

Tabella 2. 2. Caratteristiche principali del controllore di portata

	N₂	H₂	CO	CO₂
Portata [l _N /min]	0.005-0.5	0.05-5	0.02-1	0.025-2.5
Turndown ratio	1:100	1:100	1:50	1:100
Pressione in ingresso [bar a]	10.5	10.5	10.5	10.5
Pressione in uscita [bar a]	10	10	10	10

2.1.6 Analizzatori gas

L'apparato è dotato di due analizzatori gas per la CO₂ e per l'O₂. Entrambi i sistemi lavorano in un range di temperature di 0-45 °C. La percentuale massima di anidride carbonica misurabile è del 5% e la misura è basata sull'assorbimento della radiazione infrarossa. Per quanto riguarda l'ossigeno, esso è rilevabile fino al 2% e la percentuale viene determinata per via elettrochimica.

2.1.7 Rilevatore di schiuma

La sonda per la rilevazione della schiuma è posizionata sul coperchio ad alta pressione e controlla il livello di liquido e la formazione di schiuma. Essa è realizzata in acciaio inossidabile ed è dotata di sensori PT100 sensibili ai cambiamenti di temperatura. Quando il processo di formazione ha inizio, infatti, si assiste a un processo di raffreddamento all'interno del reattore. I sensori sono in grado di rilevare tale raffreddamento e permettono il rilascio automatico di un anti-schiuma all'interno del sistema.

2.1.8 Sonde redox e pH

La sonda per il potenziale redox permette di misurare da 0 a 2000 mV mentre quella per il pH misura valore compresi tra 0 e 14. Entrambi gli strumenti lavorano nel range di temperatura 0-135°C, sopportano una pressione massima di 10 bar e sono costruiti in vetro.

2.1.9 Condensatore

Il sistema utilizza un condensatore Peltier, mostrato in figura 2.4. Sia esso che il tubo per il campionamento sono connessi al sistema del vapore. Dopo la fine del campionamento, il vapore può essere connesso al tubo per la sterilizzazione e la pulizia del sistema. Il riflusso può essere evitato poiché il condensatore è connesso con un condotto principale che non permette al gas in uscita di ritornare nel sistema.



Figura 2.4: Condensatore Peltier connesso al sistema del vapore.

2.1.10 Filtri

I filtri del gas sono connessi al condensatore attraverso una giunzione e sono realizzati in acciaio inossidabile. I filtri del liquido sono inclusi nelle linee di alimentazione. Entrambi i tipi di filtro possono essere sterilizzati in luogo permettendo così l'avanzamento del processo senza dover fermare il reattore. In caso di intasamento, che avviene in genere dopo un lungo utilizzo, possono essere puliti/sostituiti.

2.1.11 Software di controllo

Il sistema può essere controllato utilizzando WinISO software. Questo strumento permette di regolare il setup sperimentale e di monitorare i dati di processo. In particolare, tramite l'utilizzo di un'apposita interfaccia grafica, è possibile controllare parametri quali temperatura, velocità di rotazione, pH, livello di ossigeno, livello di liquido, pressione e portate di alimentazione. I dati vengono visualizzati in tempo reale in forma grafica e numerica e sono esportabili su fogli di calcolo. E' inoltre possibile pianificare profili di alimentazione complessi variando la portata con numerose funzioni quali step, rampa o esponenziale. Il software garantisce un elevato standard di sicurezza grazie a un'ampia serie di rilevatori e allarmi personalizzabili dall'utente.

2.2 Procedura sperimentale

I dati utilizzati per la modellazione sono stati reperiti in letteratura, in particolare sono state utilizzate delle prove sperimentali presenti nell'articolo (Karmann *et al.*, 2017). Di seguito vengono descritte le caratteristiche della prova presa in esame.

2.2.1 Specie del batterio e componenti del medium di coltura

Per la prova sperimentale è stato utilizzato il batterio *Rhodospirillum rubrum* S1(ATCC 11170), stoccato in 15 ml di soluzione al 16% di glicerolo (OD 600=3.33) alla temperatura di -80°C. I componenti del medium di coltura e le rispettive concentrazioni sono presenti in tabella 2.3. Il medium è stato sterilizzato, filtrato e posto in autoclave eccetto la biotina e l'acetato in quanto già sterilizzati.

Tabella 2.3. Elenco dei componenti del medium di coltura

Componente	Concentrazione
Acetato	820.3 [mg/l]
MgSO ₄ · 7H ₂ O	250 [mg/l]
CaCl ₂ · 2H ₂ O	132 [mg/l]
NH ₄ Cl	1 [g/l]
MOPS tampone	2.1 [g/l]
Estratto di lievito	1 [g/l]
NiSO ₄	3.1 [mg/l]
H ₃ BO ₃	2.8 [mg/l]
Na ₂ EDTA	20 [mg/l]
FeSO ₄	4 [mg/l]
Na ₂ MoO ₄	1 [mg/l]
K ₃ PO ₄	0.41 [mg/l]
Biotina	2 [μg/l]

2.2.2 Preparazione dell'inoculo per la fermentazione del syngas

Le precolture sono state fatte crescere in una bottiglia con tappo a vite del volume di 1 litro contenente 500 ml di medium filtrato e sterilizzato a pH 7 e 15 mM di fruttosio. Le precolture sono poi state inoculate con 12 ml di glicerolo per raggiungere un OD₆₀₀ di 0.08 e incubate a 30°C in un agitatore orbitale, a 180 min⁻¹ per 46-48 h. Durante questa fase è stato impedito lo scambio di gas con l'ambiente per il raggiungimento delle condizioni anaerobiche, dovute all'esaurimento dell'ossigeno in seguito alla crescita cellulare.

2.2.3 Fermentazione del syngas

Il syngas (25% CO, 25% H₂, 5% CO₂ e 45% N₂) è stato alimentato al reattore con una portata di 0.2 l/min, a pressione atmosferica. Il pH è stato mantenuto a 7.0 ± 0.05 tramite l'aggiunta di KOH 4 M o H₂SO₄ 3M. La temperatura è stata mantenuta costante a 30°C mentre la corretta miscelazione è stata assicurata tramite la rotazione delle pale Rushton a 600 rpm. Questa fase della prova è stata interrotta dopo 43 h, da quel momento in poi anche il medium è stato alimentato in continuo. Nel seguito della tesi non si farà riferimento ai dati ottenuti dopo le 43 h di prova perché non sono stati tenuti in considerazione per la modellazione del bioreattore.

2.3 Risultati sperimentali

2.3.1 Quantificazione dei risultati

La quantificazione ottica della biomassa è stata effettuata spettrofotometricamente a 600 nm. Per le misure di CDW (*Cell Dry Weight*), sono stati centrifugati in tubi Eppendorf (30.670 g, 4°C, 5 min) tre campioni di 2 ml di cellule di coltura (o sospensione), lavati una volta con 1 ml di soluzione acquosa allo 0.9% di NaCl e successivamente essiccati per 24 h in forno a 100°C. I tubi sono stati poi raffreddati a temperatura ambiente e il CDW è stato determinato sottraendo la tara calcolata in precedenza. Per quanto riguarda il PHB e il TCC (*Total Cell Count*) è stato utilizzato un citometro a flusso BD Accuri C6 (FCM). La concentrazione di acetato nella coltura surnatante è stata invece determinata tramite un'apparecchiatura HPLC dotata di una colonna a scambio ionico. L'acetato è stato determinato con un rilevatore dell'indice di rifrazione. La DCO (Dissolved CO Concentration) è stata quantificata con test di assorbanza basati sulla mioglobina. La concentrazione di gas in uscita, invece, è stata rilevata tramite spettroscopia di massa.

2.3.2 Risultati utilizzati per la modellazione

I risultati sperimentali utilizzati per la modellazione sono raffigurati nelle figure 2.5, 2.6 e 2.7. I valori presi in esame sono quelli a sinistra della linea tratteggiata, cioè quelli che vanno dall'inizio della prova fino a 43 h.

In figura 2.5 sono mostrati i risultati relativi al CDW, alla concentrazione di acetato e alla biomassa in funzione della densità ottica a 600 nm (OD₆₀₀). Si nota una diminuzione della concentrazione di acetato dovuta al consumo da parte del batterio di questo substrato, sia per il metabolismo primario che per quello secondario, che porta all'accumulo di PHB. Questo trend è confermato dall'aumento della biomassa, in particolare tra le 20 e le 43 h di prova, e dall'aumento del peso secco delle cellule.

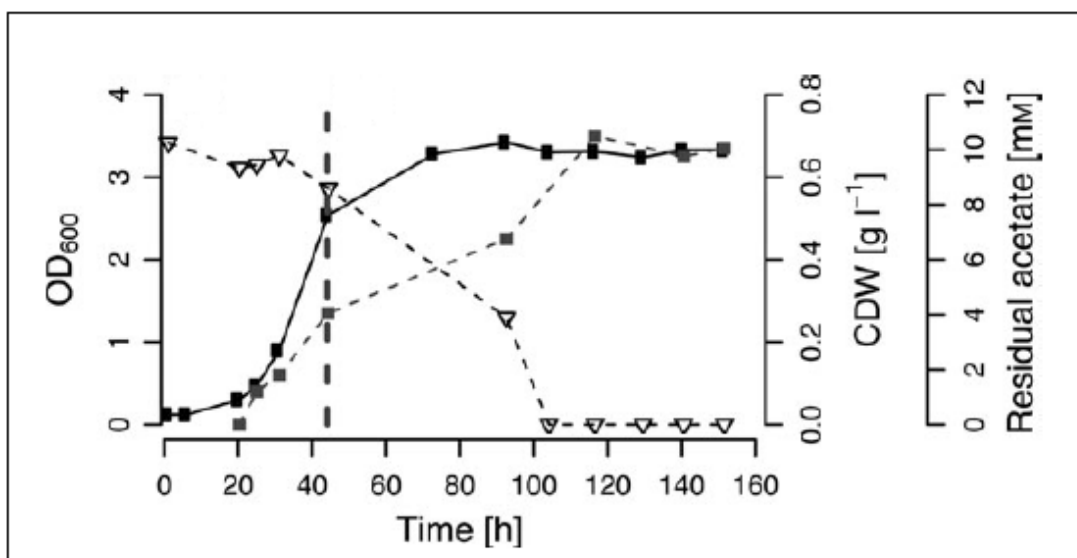


Figura 2.5: Dati relativi al CDW (■), alla concentrazione di acetato nella coltura surnatante (▽) e alla biomassa (●). Grafico proveniente da (Karmann *et al.*, 2017).

In figura 2.6 sono rappresentati i dati relativi al potenziale redox, al contenuto di PHB e al TCC. Il contenuto di PHB, in particolare, è espresso attraverso misure di fluorescenza ed è stato convertito in concentrazione molare utilizzando i dati sul peso della biomassa a determinati istanti temporali.

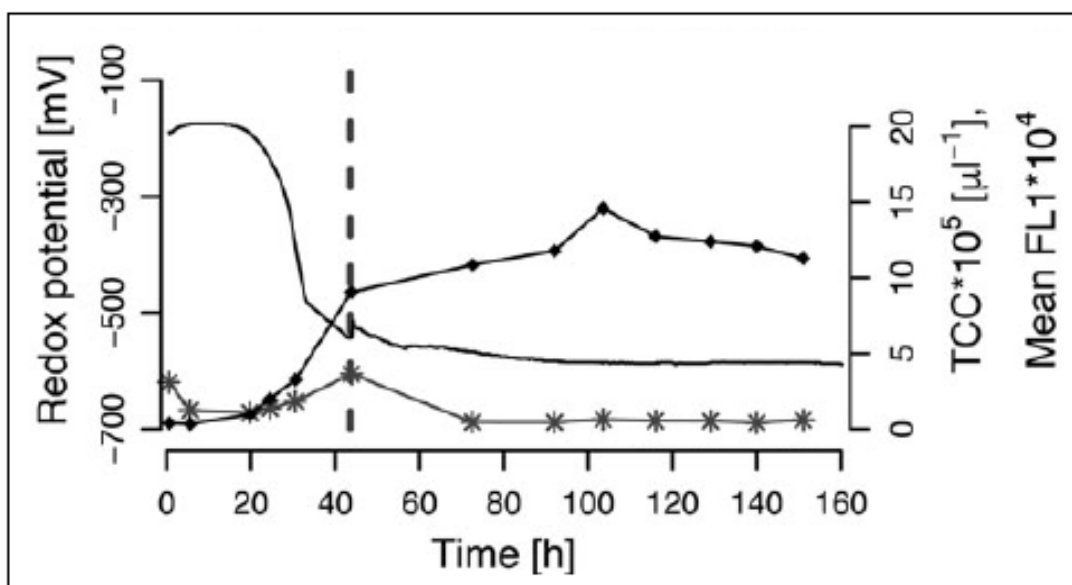


Figura 2.6: Dati relativi al potenziale redox (—), al contenuto di PHB (*) e al TCC (◆). Grafico proveniente da (Karmann *et al.*, 2017).

La figura 2.7 mostra invece i dati relativi alla concentrazione di CO disciolto e alla variazione della concentrazione dei componenti del syngas nel liquido. Si può notare come il contenuto di monossido di carbonio vada a diminuire in seguito alla reazione batterica di *Water Gas Shift*, nella quale il CO è un reagente. Al contrario, le concentrazioni di idrogeno e anidride carbonica aumentano nel tempo proprio perché fanno parte dei prodotti della reazione sopra indicata.

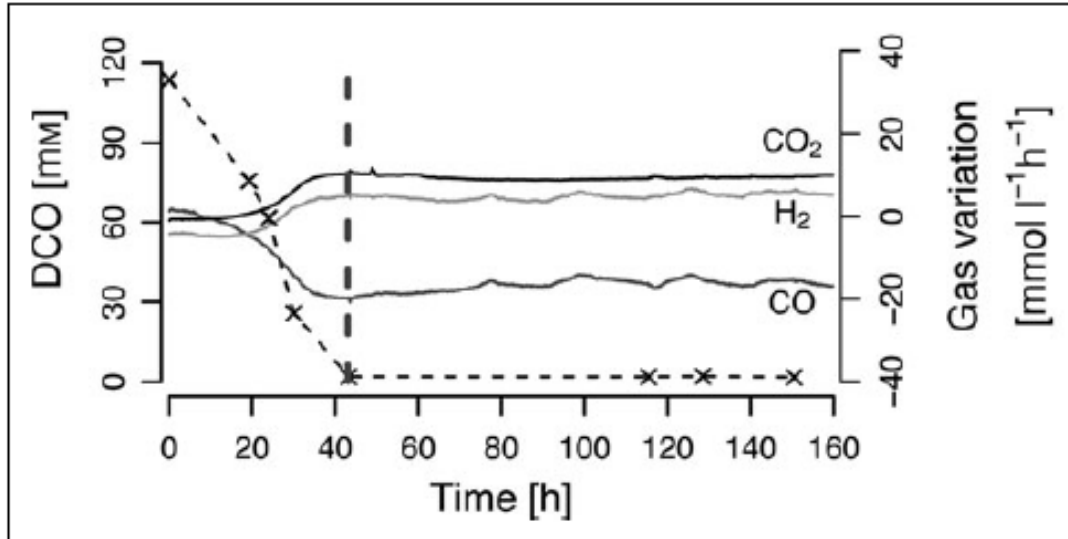


Figura 2.7: Dati relativi alla concentrazione di CO disciolto (x) e alla concentrazioni di CO, CO₂ e H₂. Grafico proveniente da (Karmann *et al.*, 2017).

3. Teoria ed ipotesi del modello

Nel ricavare le equazioni che permettono di descrivere il comportamento del bioreattore preso in esame si assume che il fluido sia un continuo, trascurando così la natura discreta della materia. Un parametro che consente di valutare tale ipotesi è il *numero di Knudsen* (Kn), definito come il rapporto tra il cammino libero medio molecolare e una lunghezza caratteristica del sistema. L'ipotesi del continuo è particolarmente valida per un sistema come quello descritto in cui il $Kn \ll 1$. Per la derivazione delle equazioni è stato fatto riferimento al libro *Transport Phenomena* (Bird, Stewart and Lighfoot, 2002) e al manuale di Comsol Multiphysics®.

3.1 Fluidodinamica

La fluidodinamica permette di studiare il moto dei fluidi e mette in relazione tra loro proprietà importanti quali la densità ρ e la viscosità μ con variabili fisiche come la pressione p e la velocità \mathbf{u} .

3.1.1 Bilancio locale di materia

Per un continuo di fluido il bilancio totale di materia locale è rappresentato dall'equazione 3.1, detta equazione di continuità:

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho \mathbf{u}) = 0 \quad (3.1)$$

La 3.1 descrive il cambiamento nel tempo della densità del fluido in un punto fissato dello spazio. In particolare, il vettore $\rho \mathbf{u}$ rappresenta il flusso di massa mentre la sua divergenza, $\nabla \cdot (\rho \mathbf{u})$, corrisponde alla velocità del flusso di massa per unità di volume. L'equazione può essere riscritta nel modo seguente, ottenendo la 3.2:

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \rho \nabla \cdot \mathbf{u} + \mathbf{u} \cdot \nabla \rho = 0 \rightarrow \left[\frac{\partial}{\partial t} + \mathbf{u} \cdot \nabla \right] \rho = -\rho \nabla \cdot \mathbf{u} \quad (3.2)$$

Il termine tra parentesi quadre nella 3.2 è denominato *derivata sostanziale* e descrive il tasso di variazione di una proprietà dal punto di vista di un osservatore che si muove con il fluido; si può indicare con $\frac{D}{Dt}$. Pertanto possiamo ottenere l'equazione 3.3:

$$\frac{D\rho}{Dt} = -\rho \nabla \cdot \mathbf{u} \quad (3.3)$$

3.1.2 Bilancio locale di quantità di moto

Prendiamo come sistema di riferimento un elemento di fluido di volume V , racchiuso da una superficie S avente \mathbf{n} come vettore normale ad essa. Nell'equazione di bilancio di quantità di moto a tale sistema sono presenti i seguenti termini:

- | | |
|-----------------------------|---|
| • accumulo | $\frac{\partial}{\partial t} \int_V \rho \mathbf{u} \, dV = \int_V \frac{\partial}{\partial t} (\rho \mathbf{u}) \, dV$ |
| • portata netta convettiva | $-\int_S (\rho \mathbf{u} \mathbf{u}) \cdot \mathbf{n} \, dS = -\int_V \nabla \cdot (\rho \mathbf{u} \mathbf{u}) \, dV$ |
| • forze di volume (gravità) | $\int_V \rho \mathbf{g} \, dV$ |
| • forze di pressione | $\int_S -p \cdot \mathbf{n} \, dS = \int_V -\nabla p \, dV$ |
| • sforzi di taglio | $\int_S \mathbf{D} \cdot \mathbf{n} \, dS = \int_V \nabla \cdot \mathbf{D} \, dV$ |

Nel termine $\rho \mathbf{u} \mathbf{u}$ il prodotto tra le due velocità viene chiamato prodotto diadico e porta alla formazione di un tensore del secondo ordine le cui componenti, in coordinate cartesiane, sono:

$$\rho \mathbf{u} \mathbf{u} = \begin{bmatrix} \rho u_x u_x & \rho u_x u_y & \rho u_x u_z \\ \rho u_y u_x & \rho u_y u_y & \rho u_y u_z \\ \rho u_z u_x & \rho u_z u_y & \rho u_z u_z \end{bmatrix}$$

Gli sforzi di taglio rappresentano le forze di attrito che il fluido esterno esercita sulle superfici del volume di controllo. Tali sforzi sono strettamente legati alla viscosità del fluido e al gradiente di velocità di quest'ultimo. In base alla loro risposta alle sollecitazioni di taglio, i fluidi vengono divisi in diversi gruppi, denominati classi reologiche. Il contributo di questi sforzi nel bilancio di quantità di moto è tenuto in considerazione tramite il tensore D , detto *tensore degli sforzi*. Un'espressione di carattere generale per definirlo è presente nell'equazione 3.4:

$$D = \mu[\nabla \mathbf{u} + (\nabla \mathbf{u})^T] - \left(\frac{2\mu}{3} - k\right)(\nabla \cdot \mathbf{u})\mathbf{I} \quad (3.4)$$

Nella 3.4 compaiono i seguenti termini:

- μ è la viscosità del fluido,
- $\nabla \mathbf{u}$ è il gradiente di velocità,
- $(\nabla \mathbf{u})^T$ rappresenta la matrice trasposta del gradiente di velocità,
- k è detta viscosità di volume e tiene conto della compressibilità del fluido,
- \mathbf{I} costituisce la matrice identità.

Tornando al bilancio di quantità di moto, esso si può scrivere come nella 3.5:

$$\int_V \left[\frac{\partial}{\partial t}(\rho \mathbf{u}) + \nabla \cdot (\rho \mathbf{u} \mathbf{u}) - \rho \mathbf{g} + \nabla p - \nabla \cdot D \right] dV = 0 \quad (3.5)$$

Poiché il volume V è stato scelto arbitrariamente, la funzione integranda deve essere necessariamente nulla, ottenendo pertanto la 3.6:

$$\frac{\partial}{\partial t}(\rho \mathbf{u}) + \nabla \cdot (\rho \mathbf{u} \mathbf{u}) = \rho \mathbf{g} - \nabla p + \nabla \cdot D \quad (3.6)$$

Ricordando la definizione di derivata sostanziale, possiamo riformulare la 3.6 ricavando l'equazione 3.7:

$$\rho \frac{D\mathbf{u}}{Dt} = \rho \mathbf{g} - \nabla p + \nabla \cdot D \quad (3.7)$$

Si noti che la 3.7 è un'equazione di validità generale, in quanto non è stata effettuata finora alcuna ipotesi sul comportamento reologico del fluido. Nel caso di fluido Newtoniano, caratterizzato da densità e viscosità costanti, l'equazione di continuità e il bilancio di quantità di moto si semplificano rispettivamente come nella 3.8 e nella 3.9:

$$\nabla \cdot \mathbf{u} = 0 \quad (3.8)$$

$$\frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t} + \mathbf{u} \cdot \nabla \mathbf{u} = \mathbf{g} - \frac{1}{\rho} \nabla p + \frac{\mu}{\rho} \nabla^2 \mathbf{u} \quad (3.9)$$

La 3.8 e la 3.9 sono comunemente denominate *equazioni di Navier-Stokes* per un fluido newtoniano.

3.1.3 Flusso laminare e flusso turbolento

L'equazione 3.7 è valida per qualunque fluido ma soltanto sotto determinate condizioni che definiscono il cosiddetto *flusso laminare*. Esse si basano sul fatto che i filetti fluidi scorrano gli uni sugli altri senza rimescolarsi, neanche microscopicamente. Tali considerazioni non sono più valide quando la velocità diventa elevata, in quanto si osserva la formazione di strutture vorticosi di diversa grandezza e velocità che non permettono più di descrivere il flusso in modo deterministico. Tale regime è noto come *flusso turbolento*. Osservando la 3.7 possiamo identificare il termine $\mathbf{u} \cdot \nabla \mathbf{u}$ come *termine inerziale* e $\frac{\mu}{\rho} \nabla^2 \mathbf{u}$ come *termine viscoso*. Nel moto laminare le forze viscosi prevalgono su quelle inerziali e le perturbazioni non sono in grado di propagarsi nel fluido. Nel moto turbolento, viceversa, sono le forze inerziali a prevalere, generando un moto di natura caotica e casuale. La

transizione da un tipo di flusso all'altro è regolata da un parametro adimensionale detto *numero di Reynolds*, definito come segue:

$$Re = \frac{\rho u L}{\mu},$$

dove u è il modulo della velocità ed L una lunghezza caratteristica del sistema.

In presenza di moto turbolento l'equazione 3.7 si modifica facendo riferimento non più a grandezze istantanee ma mediate su un certo periodo di tempo, piccolo rispetto ai fenomeni in gioco, ma sufficientemente grande rispetto ai disturbi della turbolenza. La derivazione di tale equazione è particolarmente complessa ed esula dagli scopi di questa tesi. Una delle conseguenze del moto turbolento sarà tenuta in conto dalla presenza di un termine aggiuntivo di viscosità μ_T , non più legato alle caratteristiche reologiche del fluido ma unicamente all'intensità delle perturbazioni del flusso.

3.1.4 Ipotesi del modello

Il fluido presente nel reattore è costituito da due fasi: una fase continua liquida e una fase dispersa costituita dalle bolle di gas disciolte ed è in moto turbolento. Si suppone che:

- la densità di ciascuna fase sia approssimativamente costante,
- ciascuna fase sia soggetta allo stesso campo di pressione,
- la velocità relativa tra le due fasi sia essenzialmente determinata da un bilancio tra il gradiente di pressione e la forza di attrito viscoso.

Sotto queste ipotesi, l'equazione di bilancio di quantità di moto per la miscela è la 3.10,

$$\rho \frac{D\mathbf{u}}{Dt} = -\nabla p + \nabla \cdot D_{Gm} + \rho \mathbf{g} - \nabla \cdot \left[\rho c_d (1 - c_d) \left(\mathbf{u}_{SLIP} - \frac{D_{md}}{(1-c_d)\varphi_d} \nabla \varphi_d \right) \left(\mathbf{u}_{SLIP} - \frac{D_{md}}{(1-c_d)\varphi_d} \nabla \varphi_d \right)^T \right] \quad (3.10)$$

dove:

- c_d è la frazione in massa della fase dispersa,
- \mathbf{u}_{SLIP} è il vettore che rappresenta la velocità relativa fra le due fasi,
- D_{Gm} è il tensore somma degli sforzi viscosi e turbolenti.

La velocità \mathbf{u} che compare nella 3.10 è una media pesata delle velocità delle due fasi ed è

$$\mathbf{u} = \frac{\varphi_c \rho_c \mathbf{u}_c + \varphi_d \rho_d \mathbf{u}_d}{\rho},$$

nella quale:

- φ_c e φ_d sono le frazioni in volume rispettivamente della fase continua e della fase dispersa;
- \mathbf{u}_c e \mathbf{u}_d le rispettive velocità,
- ρ_c e ρ_d le rispettive densità,
- ρ la densità della miscela, definita come $\rho_c \varphi_c + \rho_d \varphi_d$.

La relazione tra le velocità delle due fasi è data dalla 3.11:

$$\mathbf{u}_d - \mathbf{u}_c = \mathbf{u}_{SLIP} - \frac{D_{md}}{(1-c_d)\varphi_d} \nabla \varphi_d \quad (3.11)$$

Nella 3.11 il termine D_{md} rappresenta un coefficiente di dispersione turbolenta che sarà definito in seguito, il termine c_d è invece:

$$c_d = \frac{\varphi_d \rho_d}{\rho}.$$

L'espressione utilizzata per D_{Gm} è la seguente:

$$D_{Gm} = (\mu + \mu_T) \left[(\nabla \mathbf{u} + \nabla \mathbf{u}^T) - \frac{2}{3} (\nabla \cdot \mathbf{u}) \mathbf{I} \right]$$

Il termine μ_T è la viscosità turbolenta e anch'essa verrà definita successivamente.

L'equazione di trasporto per la frazione volumica della fase dispersa φ_d è data dalla 3.12:

$$\frac{\partial \varphi_d}{\partial t} + \nabla \cdot (\varphi_d \mathbf{u}_d) = \frac{-m_{dc}}{\rho_d} \quad (3.12)$$

La 3.12 è valida se si considera costante la densità della fase dispersa ρ_d . Il termine m_{dc} rappresenta la velocità di trasferimento di massa dalla fase dispersa a quella continua. L'ipotesi di costanza delle densità delle due fasi permette inoltre di esprimere l'equazione di continuità come nella 3.13:

$$(\rho_c - \rho_d) \left\{ \nabla \cdot [\varphi_d (1 - c_d) \mathbf{u}_{SLIP} - D_{md} \nabla \varphi_d] + \frac{m_{dc}}{\rho_d} \right\} + \rho_c (\nabla \cdot \mathbf{u}) = 0 \quad (3.13)$$

Il fluido presente nel reattore è in moto turbolento. La viscosità turbolenta μ_T è già presente nella 3.10 tramite il termine $\nabla \cdot D_{Gm}$. Esistono diversi modelli di turbolenza che permettono di esprimere tale viscosità in maniera diversa. In questa tesi si utilizzerà il modello k - \mathcal{E} che è uno dei più impiegati nel campo delle applicazioni industriali. Il modello introduce due equazioni di trasporto addizionali e due variabili dipendenti: l'energia cinetica turbolenta k e la velocità di dissipazione della turbolenza \mathcal{E} . La viscosità turbolenta è così definita:

$$\mu_T = \rho c_\mu \frac{k^2}{\mathcal{E}}$$

L'equazione del trasporto per k è la 3.14:

$$\rho \frac{\partial k}{\partial t} + \rho \mathbf{u} \cdot \nabla k = \nabla \cdot \left[\left(\mu + \frac{\mu_T}{\sigma_k} \right) \nabla k \right] + P_k - \rho \mathcal{E} \quad (3.14)$$

Il termine di produzione P_k della 3.14 è così espresso:

$$P_k = \mu_T \left[\nabla \mathbf{u} : (\nabla \mathbf{u} + (\nabla \mathbf{u})^T) - \frac{2}{3} (\nabla \cdot \mathbf{u})^2 \right] - \frac{2}{3} \rho k \nabla \cdot \mathbf{u}$$

L'equazione di trasporto per \mathcal{E} è invece la 3.15:

$$\rho \frac{\partial \mathcal{E}}{\partial t} + \rho \mathbf{u} \cdot \nabla \mathcal{E} = \nabla \cdot \left[\left(\mu + \frac{\mu_T}{\sigma_\mathcal{E}} \right) \nabla \mathcal{E} \right] + c_{\mathcal{E}1} \frac{\mathcal{E}}{k} P_k - c_{\mathcal{E}2} \rho \frac{\mathcal{E}^2}{k} \quad (3.15)$$

Possiamo ora fornire un'espressione per il coefficiente di dispersione turbolenta D_{md} :

$$D_{md} = \frac{\mu_T}{\rho \sigma_T}$$

Si noti inoltre che nelle definizioni e nelle equazioni di trasporto fornite compaiono le costanti c_μ , σ_k , $\sigma_\mathcal{E}$, $c_{\mathcal{E}1}$ e $c_{\mathcal{E}2}$. Il loro valore è stato determinato a partire da dati sperimentali ed è presente nella seguente tabella 3.1.

Tabella 3.1. Valore delle costanti del modello

Costante	valore
c_μ	0.09
σ_k	1.0
$\sigma_\mathcal{E}$	1.3
$c_{\mathcal{E}1}$	1.44
$c_{\mathcal{E}2}$	1.92

3.2 Trasporto di specie chimiche

3.2.1 Meccanismi del trasporto di specie

Lo studio del trasporto di materia permette di seguire l'evoluzione delle specie chimiche presenti nel sistema. I due principali meccanismi agenti sono la:

- *diffusione*, dovuta al moto atomico o molecolare;
- *convezione*, relativa al moto d'insieme del fluido.

I fenomeni da descrivere sono spesso complessi in quanto la presenza di numerosi componenti porta, nella maggior parte dei casi, ad elevati gradienti spaziali di proprietà. La contemporanea coesistenza di diffusione e convezione, inoltre, non permette un approccio di risoluzione che consente di separare in due problemi a causa dell'influenza che hanno a vicenda i due meccanismi di trasporto.

Considerando un sistema multicomponente e prendendo in esame la specie generica i , definiamo con C_i la concentrazione di tale specie nel sistema e con \mathbf{u}_i la sua velocità. Allora la *concentrazione totale* delle specie sarà data da: $\sum_{\forall i} C_i = C$ mentre la *velocità media molare del fluido* sarà rappresentata da:

$$\frac{\sum_{\forall i} C_i \mathbf{u}_i}{C} = \mathbf{u}.$$

Il *flusso complessivo molare* di ogni specie i è definito dalla 3.16:

$$\mathbf{N}_i = C_i \mathbf{u}_i = \mathbf{u} C_i + \mathbf{j}_i \quad (3.16)$$

Il termine $\mathbf{u} C_i$ della 3.16 rappresenta il contributo convettivo, dovuto alla velocità media d'insieme, mentre \mathbf{j}_i costituisce il contributo diffusivo legato alla differenza tra \mathbf{u}_i e \mathbf{u} . Quest'ultimo si può esprimere tramite la *prima legge di Fick* costituita dall'equazione 3.17:

$$\mathbf{j}_i = -D_i \nabla C_i \quad (3.17)$$

dove D_i rappresenta la diffusività della specie i nel sistema.

Poiché i flussi diffusivi sono legati al moto della singola molecola e non a quello d'insieme, risulta che la sommatoria di tutti i flussi diffusivi è nulla come si evince dalla 3.18:

$$\sum_{\forall i} \mathbf{j}_i = 0 \quad (3.18)$$

3.2.2 Bilancio di materia in sistema multicomponente

Consideriamo un sistema multicomponente costituito da un elemento di volume V , fissato nello spazio e attraverso il quale scorre il fluido, e prendiamo in esame la generica specie i . Nell'equazione di bilancio di materia a tale volume di controllo compaiono i seguenti termini:

- | | |
|----------------------------|---|
| • accumulo | $\frac{\partial}{\partial t} \int_V C_i dV = \int_V \frac{\partial}{\partial t} C_i dV$ |
| • portata netta convettiva | $-\int_S (\mathbf{u} C_i) \cdot \mathbf{n} dS = -\int_V \nabla \cdot (\mathbf{u} C_i) dV$ |
| • portata netta diffusiva | $-\int_S \mathbf{j}_i \cdot \mathbf{n} dS = -\int_V \nabla \cdot \mathbf{j}_i dV$ |
| • portata di generazione | $\int_V R_i dV$ |

dove R_i rappresenta la velocità di reazione della specie i nel sistema. Il bilancio di materia è costituito dalla 3.19:

$$\int_V \left[\frac{\partial C_i}{\partial t} + \nabla \cdot (\mathbf{u} C_i) + \nabla \cdot \mathbf{j}_i - R_i \right] dV = 0 \quad (3.19)$$

L'equazione 3.19 deve essere valida per qualunque volume di controllo, ciò equivale alla nullità della funzione integranda, pertanto si ottiene la 3.20:

$$\frac{\partial}{\partial t} C_i + \nabla \cdot (\mathbf{u} C_i) + \nabla \cdot \mathbf{j}_i - R_i = 0 \quad , \quad (3.20)$$

sostituendo la 3.17 nella 3.20 ricaviamo la 3.21:

$$\frac{\partial}{\partial t} C_i + \nabla \cdot (\mathbf{u} C_i) = \nabla \cdot (D_i \nabla C_i) + R_i \quad . \quad (3.21)$$

La 3.21 è un'equazione utilizzata per modellizzare il trasporto di specie chimiche che ben si adatta alla risoluzione dei principali problemi riguardanti l'ingegneria chimica. Effettuando la sommatoria per tutte le specie presenti nel sistema e ricordando la 3.18 otteniamo *l'equazione di continuità* in termini molari, ovvero la 3.22 :

$$\frac{\partial C}{\partial t} + \nabla \cdot (\mathbf{u} C) = R \quad (3.22)$$

3.2.3 Ipotesi del modello

Per quanto riguarda il trasporto di specie è stata fatta l'ipotesi di sistema diluito che prevede che la concentrazione dei componenti del sistema sia piccola in confronto a quella del solvente. Il modello può essere considerato valido quando la concentrazione del solvente è superiore al 90%. La diluizione del sistema permette inoltre di approssimare determinate proprietà della miscela, quali la densità e la viscosità, con quelle del solvente. Partendo dalla 3.21 e sviluppando il termine $\nabla \cdot (\mathbf{u} C_i)$ otteniamo i due termini $\mathbf{u} \cdot \nabla C_i$ e $C_i \nabla \cdot \mathbf{u}$. Il secondo termine è nullo in quanto la divergenza della velocità è zero per un sistema a densità costante (fluido incomprimibile). L'equazione che descrive il trasporto di ogni singola specie i nel modello è pertanto la 3.23:

$$\frac{\partial}{\partial t} C_i + \mathbf{u} \cdot \nabla C_i = \nabla \cdot (D_i \nabla C_i) + R_i \quad (3.23)$$

3.3 Trasporto di calore

3.3.1 Meccanismi di trasferimento del calore

Il trasferimento del calore è rappresentato dal flusso di energia che si instaura tra due corpi a diverse temperature ed è regolato da tre diversi meccanismi:

- Conduzione - la conduzione di calore avviene tramite contatto ed è caratterizzata da fenomeni diversi a seconda che il corpo sia un gas, un liquido o un solido. Mentre nei gas è caratterizzata da collisioni tra molecole, nei liquidi essa avviene per l'oscillazione di ogni molecola in una "gabbia" formata dalle molecole vicine. Nei metalli, invece, è principalmente dovuta al movimento degli elettroni. Il flusso conduttivo di calore è tipicamente proporzionale al gradiente di temperatura.
- Convezione - la convezione si presenta nel caso di correnti fluide in movimento. Ogni elemento di fluido trasporta un quantitativo di energia sotto forma di calore. In presenza di turbolenza, essa è dovuta anche al rimescolamento delle porzioni di fluido.
- Irraggiamento - L'irraggiamento consiste nel trasferimento di calore tra due corpi sotto forma di onde elettromagnetiche. E' il fenomeno predominante ad alte temperature e , a differenza degli altri due meccanismi, non necessita di un mezzo per propagarsi.

Nel seguito della trattazione non si farà più riferimento all'irraggiamento, in quanto non è stato tenuto in considerazione per la modellazione del bioreattore.

Il flusso conduttivo di calore viene espresso attraverso la *legge di Fourier*, ovvero nella 3.24:

$$\mathbf{J}_q = -k \nabla T \quad (3.24)$$

dove k indica la conducibilità termica e ∇T il gradiente di temperatura. Per quanto riguarda la convezione, data la complessità del fenomeno, si ricorre spesso ad espressioni di carattere empirico costituite generalmente da un coefficiente di scambio termico e da una “forza spingente” rappresentata da un gradiente termico.

3.3.2 Bilancio locale di energia

Consideriamo l'energia massica \hat{E} , costituita dall'energia interna \hat{U} e dall'energia cinetica \hat{K} , e prendiamo come volume di controllo un volume V attraverso il quale scorre un fluido. Nell'equazione di bilancio di energia \hat{E} a tale sistema compaiono i seguenti termini:

- accumulo $\int_V \frac{\partial}{\partial t} (\rho \hat{E}) dV$
- portata netta convettiva $-\int_S (\rho \mathbf{u} \hat{E}) \cdot \mathbf{n} dS = -\int_V \nabla \cdot (\rho \mathbf{u} \hat{E}) dV$
- portata netta non convettiva $-\int_S \mathbf{J}_q \cdot \mathbf{n} dS = -\int_V \nabla \cdot \mathbf{J}_q dV$
- potenza delle forze di pressione $\int_S -p \cdot \mathbf{n} \cdot \mathbf{u} dS = \int_V -\nabla \cdot (p \cdot \mathbf{u}) dV$
- potenza delle forze di volume $\int_V \rho \cdot \mathbf{g} \cdot \mathbf{u} dV$
- potenza degli sforzi di taglio $\int_S (\mathbf{n} \cdot \mathbf{D}) \cdot \mathbf{u} dV = \int_V \nabla \cdot (\mathbf{u} \cdot \mathbf{D}) dV$

Il bilancio di energia è costituito dall'equazione 3.25:

$$\int_V \left[\frac{\partial}{\partial t} (\rho \hat{E}) + \nabla \cdot (\rho \mathbf{u} \hat{E}) + \nabla \cdot \mathbf{J}_q + \nabla \cdot (p \cdot \mathbf{u}) - \rho \cdot \mathbf{g} \cdot \mathbf{u} - \nabla \cdot (\mathbf{u} \cdot \mathbf{D}) \right] dV = 0 \quad (3.25)$$

La 3.25 deve essere valida per qualunque volume di controllo, pertanto otteniamo la 3.26:

$$\frac{\partial}{\partial t} (\rho \hat{E}) + \nabla \cdot (\rho \mathbf{u} \hat{E}) + \nabla \cdot \mathbf{J}_q = \rho \cdot \mathbf{g} \cdot \mathbf{u} - \nabla \cdot (p \cdot \mathbf{u}) + \nabla \cdot (\mathbf{u} \cdot \mathbf{D}) \quad (3.26)$$

Ricordando l'equazione di continuità ed espandendo i primi due termini dell'equazione si ricava la 3.27:

$$\rho \frac{\partial}{\partial t} \hat{E} + \rho \mathbf{u} \cdot \nabla \hat{E} + \nabla \cdot \mathbf{J}_q = \rho \mathbf{g} \cdot \mathbf{u} - \nabla \cdot (p \mathbf{u}) + \nabla \cdot (\mathbf{u} \cdot \mathbf{D}) \quad (3.27)$$

La 3.27 rappresenta l'equazione di bilancio totale locale di energia per un continuo di fluido. Possiamo ricavare inoltre un'equazione per l'energia cinetica K , la 3.28. Per ottenerla, partiamo dalla 3.7 e la moltiplichiamo scalarmente per la velocità del fluido \mathbf{u} :

$$\left\{ \rho \frac{D\mathbf{u}}{Dt} + \nabla p - \rho \mathbf{g} - \nabla \cdot \mathbf{D} \right\} \cdot \mathbf{u} = 0 \rightarrow \rho \frac{D\hat{K}}{Dt} = -\mathbf{u} \cdot \nabla p + \rho \mathbf{g} \cdot \mathbf{u} + \mathbf{u} \cdot (\nabla \cdot \mathbf{D}) \quad (3.28)$$

La 3.28 può essere riformulata nel modo seguente, ottenendo la 3.29:

$$\rho \frac{D\hat{K}}{Dt} = -\nabla \cdot (p \mathbf{u}) + p \nabla \cdot \mathbf{u} + \rho \mathbf{g} \cdot \mathbf{u} + \nabla \cdot (\mathbf{u} \cdot \mathbf{D}) - \mathbf{D} : \nabla \mathbf{u} \quad (3.29)$$

Sottraendo alla 3.27 la 3.29 si ottiene l'equazione di bilancio locale di energia interna, cioè l'equazione 3.30:

$$\rho \frac{D\hat{U}}{Dt} = -\nabla \cdot \mathbf{J}_q - p \nabla \cdot \mathbf{u} + \mathbf{D} : \nabla \mathbf{u} \quad (3.30)$$

dove il termine $\mathbf{D} : \nabla \mathbf{u}$ rappresenta la generazione di energia interna dovuta agli sforzi di taglio.

3.3.3 Bilancio entalpico

L'entalpia è una funzione di stato definita come:

$$H = U + pV$$

Ricavando l'energia interna U e sostituendola nella 3.30 otteniamo la 3.31:

$$\rho \frac{D}{Dt} (\hat{H} - p\hat{V}) = -\nabla \cdot \mathbf{J}_q - p\nabla \cdot \mathbf{u} + D : \nabla \mathbf{u} . \quad (3.31)$$

Il volume massico rappresenta il reciproco della densità mentre dalla 3.3 si può ricavare che $\nabla \cdot \mathbf{u} = -\frac{D\rho}{Dt} \cdot \frac{1}{\rho}$. Sostituendo queste due espressioni nella 3.31 possiamo riformularla come nella 3.32:

$$\rho \frac{D}{Dt} \hat{H} = -\nabla \cdot \mathbf{J}_q + \frac{D\rho}{Dt} + D : \nabla \mathbf{u} . \quad (3.32)$$

Espandendo la derivata totale dell'entalpia come mostrato nell'equazione 3.33:

$$\frac{D}{Dt} \hat{H} = \frac{\partial}{\partial t} \hat{H} \cdot \frac{DT}{Dt} + \frac{\partial}{\partial p} \hat{H} \cdot \frac{Dp}{Dt} = \hat{c}_p \frac{DT}{Dt} + \left[1 + \left(\frac{\partial \ln p}{\partial \ln T} \right) \right] \frac{Dp}{Dt} \quad (3.33)$$

e sostituendo la 3.33 nella 3.32 otteniamo il *bilancio entalpico locale per un elemento di fluido*, equazione 3.34:

$$\frac{\rho \hat{c}_p DT}{Dt} = -\nabla \cdot \mathbf{J}_q - \left[\left(\frac{\partial \ln \rho}{\partial \ln T} \right) |p \right] \frac{Dp}{Dt} + D : \nabla \mathbf{u} . \quad (3.34)$$

3.3.4 Ipotesi del modello

Per quanto riguarda il trasferimento di calore nel fluido il modello prevede l'utilizzo dell'equazione 3.34 con l'aggiunta di un termine di generazione di calore dovuto alle reazioni chimiche. L'equazione finale è la 3.35:

$$\frac{\rho \hat{c}_p DT}{Dt} = -\nabla \cdot \mathbf{J}_q - \left[\left(\frac{\partial \ln \rho}{\partial \ln T} \right) |p \right] \frac{Dp}{Dt} + D : \nabla \mathbf{u} + Q \quad (3.35)$$

3.4 Cinetica batterica e reazioni chimiche

3.4.1 Cenni di crescita microbica

La crescita microbica è costituita da una serie di reazioni cataboliche e anaboliche. Attraverso le reazioni cataboliche le cellule batteriche sono in grado di scindere i nutrienti in sostanze più semplici e assicurarsi l'energia necessaria per i loro processi vitali. Attraverso le reazioni anaboliche, invece, esse sintetizzano le sostanze necessarie per la generazione di nuovi individui. La riproduzione batterica può essere misurata attraverso una curva di crescita, ossia una grafico che riporta l'incremento della concentrazione microbica in funzione del tempo. In una curva di crescita si possono osservare diverse fasi distinte ciascuna delle quali è associata a cambiamenti fisiologici della coltura cellulare.

In un sistema *batch* si osservano quattro fasi di crescita dei microrganismi: *fase lag*, *fase esponenziale*, *fase stazionaria* e *fase di decadimento* (Pepper et al., 2008) .

- La *fase lag* dura solitamente da alcuni minuti a diverse ore ed è quella in cui i batteri devono adattarsi alle condizioni di crescita del medium e sintetizzare gli enzimi per degradare le sostanze nutritive. La sua durata dipende generalmente dalla composizione del mezzo di coltura e dalle dimensioni dell'inoculo.
- La *fase esponenziale* è caratterizzata da un incremento esponenziale delle cellule ed è caratterizzata dal tasso di crescita più rapido tra tutti quelli che avvengono in condizioni *batch*. La velocità di aumento dei microrganismi è proporzionale al numero di cellule presenti all'inizio della fase.
- La terza fase è quella *stazionaria* che può essere definita come quella fase in cui la crescita netta è nulla. Alcune cellule continuano comunque a moltiplicarsi ma sono bilanciate da un uguale numero di cellule che vanno incontro a morte. Questa fase può essere innescata dall'esaurimento delle fonti di carbonio ed energia ma anche dall'eccessivo accumulo di scarti metabolici che porta all'inibizione della crescita microbica.

- La *fase di decadimento* è caratterizzata da una diminuzione del numero di cellule della coltura e può assumere un andamento esponenziale. In un sistema chiuso si conclude con la morte di tutte le cellule microbiche.

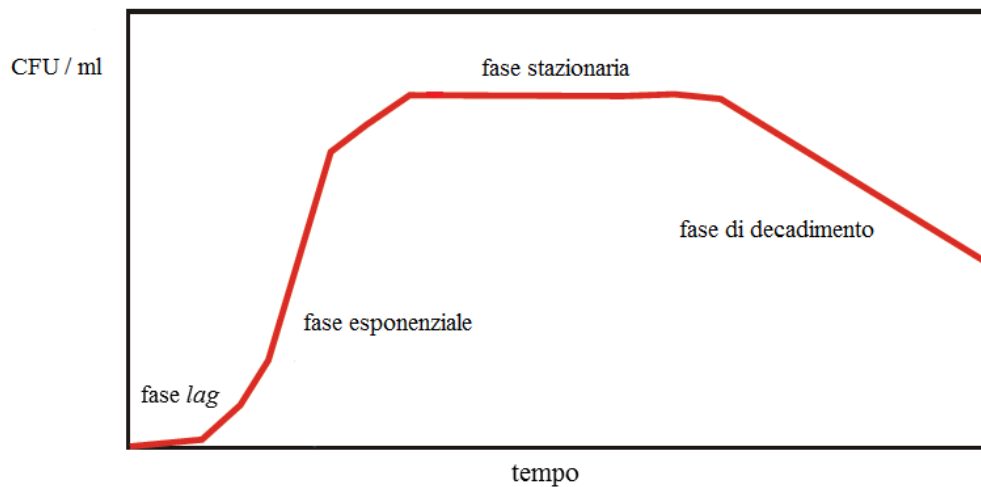


Figura 3.1: Tipica curva di crescita batterica ottenuta in un sistema batch. Immagine tratta da (Pepper *et al.*, 2008) con modifiche.

Un sistema in continuo, invece, è progettato per operare su periodi più lunghi e consente di mantenere le colture batteriche in fase esponenziale per gran parte del tempo di processo; risulta pertanto più efficiente per la produzione di prodotti microbici rispetto alle fermentazioni batch (Pepper *et al.*, 2008). Ciò avviene poiché è possibile regolare in maniera migliore i parametri che concorrono alla crescita dei microrganismi. Il controllo della portata in ingresso, della concentrazione di substrato e di grandezze fisiche come pH, pressione e temperatura, nonché delle caratteristiche dell'effluente, consente di ottimizzare il tasso di crescita e la produzione dei metaboliti desiderati. I due parametri principali da monitorare, in tal senso, sono il tasso di diluizione e la concentrazione di nutrienti nel flusso in entrata (Pepper *et al.*, 2008). Il primo, infatti, influenza il tasso di crescita cellulare mentre il secondo controlla il numero di cellule prodotte (tale numero è direttamente proporzionale alla quantità di substrato fornita).

3.4.2 Equazione di Monod

Nella costruzione di un modello che riproduca la crescita batterica è necessario disporre di equazioni che correlino tale crescita con parametri dipendenti dalle condizioni di coltura. Una delle equazioni più semplici e che verrà usata per la modellazione del bioreattore è quella sviluppata dal biologo francese Jacques Monod, la 3.36:

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{S + K_M} \quad (3.36)$$

dove:

- μ è il tasso specifico di crescita,
- μ_{max} è il tasso specifico di crescita massimo,
- S è la concentrazione del substrato,
- K_M è la costante di metà-saturazione.

L'equazione 3.36 è stata elaborata sulla base di prove sperimentali. Le costanti μ_{max} e K_M differiscono da un microrganismo all'altro, in quanto funzione delle proprietà fisiologiche, ma cambiano anche in base al substrato utilizzato e alla temperatura di crescita. Si noti che la 3.36 considera come fattore di inibizione soltanto il substrato e non altri nutrienti. Esistono in letteratura numerose versioni modificate dell'equazione di Monod che tengono conto anche dell'azione inibente

dei prodotti o di metaboliti secondari tossici per i microrganismi. La figura 3.2 mostra l'andamento di μ in funzione della concentrazione di substrato S . Si può notare che ad alte concentrazioni di substrato $\mu_{max} \frac{S}{S+K_M} \sim \mu_{max}$ e la cinetica tende ad essere quella di una reazione di ordine zero con il tasso di crescita indipendente dalla reazione. A bassi valori di S , invece, $\mu_{max} \frac{S}{S+K_M} \sim \mu_{max} \frac{S}{K_M}$ e la cinetica tende ad essere del primo ordine.

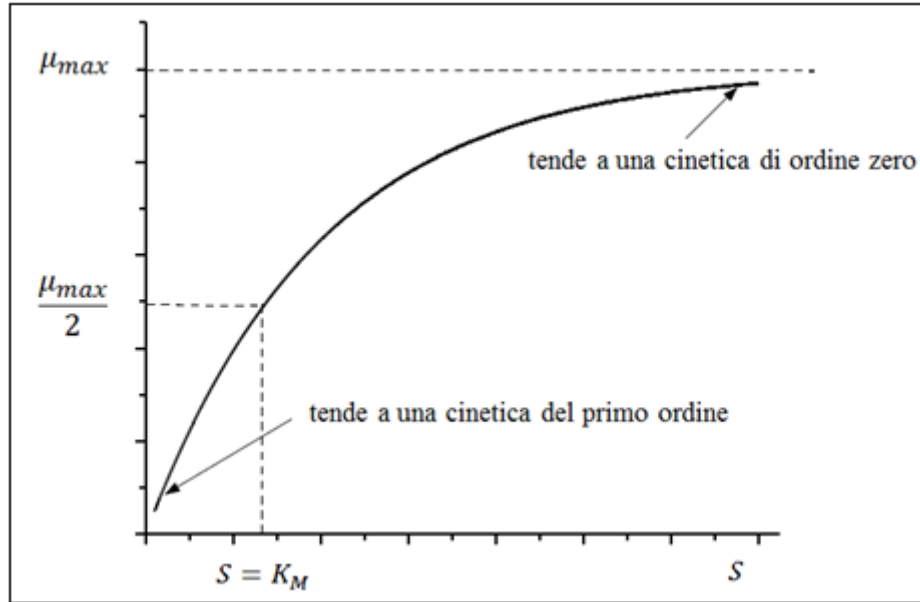


Figura 3.2: andamento del tasso specifico di crescita in funzione della concentrazione di substrato

3.4.3 Assorbimento dei gas nel liquido

Le reazioni chimiche caratteristiche del sistema avvengono in fase liquida. Il syngas alimentato tramite lo sparger deve assorbirsi nel liquido per poter reagire. Tale assorbimento è stato modellizzato utilizzando la legge di Henry, come mostrato nell'equazione 3.37:

$$p_i = H_i \cdot x_i \quad (3.37)$$

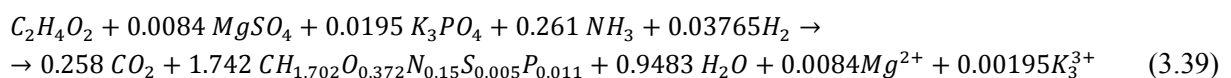
Il termine p_i nella 3.37 rappresenta la pressione parziale nel gas del componente preso in esame, x_i corrisponde alla frazione molare dello stesso componente nel liquido mentre H_i è la costante di Henry.

3.4.4 Reazioni chimiche

La principale reazione chimica operata dal *Rhodospirillum Rubrum* è quella di *Water Gas Shift*, che permette di produrre idrogeno e anidride carbonica a partire da monossido di carbonio e acqua come mostrato dall'equazione 3.38:



La reazione di crescita del batterio è modellizzata con l'equazione 3.39:



La specie batterica nella 3.39 è espressa contenendo al suo interno anche gli elementi corrispondenti al PHB prodotto, utilizzando una versione modificata della reazione presente in (Favier-Teodorescu, Cornet and Dussap, 2003).

4. Implementazione del modello su COMSOL Multiphysics®

4.1 Introduzione al software COMSOL Multiphysics®

COMSOL Multiphysics® è una piattaforma interattiva che permette la modellazione e la soluzione di tutti i generi di problemi scientifici ed ingegneristici siano essi stazionari, transitori o riguardanti l'analisi in frequenza. Il software ha, infatti, la capacità di risolvere modelli multifisici complessi in cui differenti fenomeni sono accoppiati e si influenzano a vicenda. Inoltre per utilizzare le sue capacità di calcolo non è necessaria una conoscenza approfondita dell'analisi matematica e dei metodi numerici, in quanto il programma applica automaticamente le equazioni che descrivono le fisiche del sistema. L'accesso a COMSOL Multiphysics® può avvenire attraverso un'interfaccia grafica flessibile oppure attraverso script in Java o nel linguaggio MATLAB®. Nella realizzazione di questa tesi è stato utilizzato il primo approccio, adoperando la versione 5.3a del software. Un'immagine rappresentativa della schermata introduttiva è presente in figura 4.1.

Tramite l'interfaccia è stato possibile costruire il modello del bioreattore definendo le grandezze fisiche rilevanti, le proprietà del materiale, le reazioni chimiche, i flussi di materia e calore e le condizioni al contorno. L'albero del modello consente di avere una visione complessiva del problema in tutti i suoi aspetti e permette anche un quadro generale delle funzionalità del software: geometria, mesh, impostazioni della fisica, studi, solutori, postprocessing e visualizzazioni.

La costruzione della geometria del sistema rappresenta il primo passo dell'impostazione del problema. COMSOL Multiphysics® mette a disposizione dell'utente strumenti per la creazione di figure in 1D, 2D o 3D anche attraverso l'utilizzo di diversi oggetti primitivi. Tecniche come l'estrusione di superfici per la generazione di volumi o le operazioni booleane come unione, differenza ed intersezione consentono di dar vita a forme complesse tramite la combinazione di solidi, superfici, curve e punti. Si possono anche adoperare superfici e curve parametriche nonché curve di interpolazione per la definizione della corretta configurazione geometrica. Nei casi in cui la struttura sia particolarmente complicata da descrivere si può fare ricorso a moduli particolari che permettono di accedere a funzionalità CAD più avanzate.

Il programma permette la modellazione di numerose fisiche con strumenti dedicati per particolari problemi e ne consente l'accoppiamento per la risoluzione di problemi complessi riguardanti la multifisica. Il software utilizza equazioni differenziali alle derivate parziali (PDE) per descrivere i fenomeni in gioco: oltre a quelle dei singoli modelli sono disponibili un set di equazioni differenziali classiche come l'equazione di Laplace e quella di Poisson, l'equazione delle onde e quelle che regolano il trasferimento di calore e la convezione-diffusione. COMSOL Multiphysics® può essere utilizzato in molti campi di applicazione, ad esempio:

- Acustica
- Bioscienza
- Componenti in radio-frequenza
- Corrosione e protezione dalla corrosione
- Dispositivi semiconduttori
- Elettrochimica
- Elettromagnetismo
- Fenomeni di trasporto

- Fisica del plasma
- Fotonica
- Fluidodinamica
- Flusso in mezzi porosi
- Fuel cells ed elettrochimica
- Geofisica
- Ingegneria delle microonde
- Meccanica strutturale
- Microfluidica
- Propagazione di onde
- Reazioni chimiche
- Sistemi microelettromeccanici (MEMS)
- Tracciatura di particelle
- Trasferimento di calore

Nella soluzione del modello, COMSOL Multiphysics utilizza il metodo degli elementi finiti (FEM). Il software implementa questo metodo a partire da una mesh che può essere generata automaticamente oppure in base alle esigenze dell'utente. L'algoritmo preimpostato porta alla creazione di una mesh tetraedrica per la fisica definita nei solidi e una combinazione di mesh tetraedrica e di strato limite per i fluidi. Questa configurazione può comunque essere modificata combinando i vari elementi nel modo più opportuno. Molti tipi di fisica utilizzano elementi finiti di Lagrange; per la fluidodinamica computazionale vengono utilizzati elementi particolari e schemi di stabilizzazione numerica. Altre fisiche possono fare uso anche di elementi ricurvi. Nella ricerca della soluzione possono anche essere adoperati multiprocessori o cluster computazionali, soprattutto per i sistemi che richiedono maggiore potenza di calcolo.

Infine è possibile utilizzare i dati ottenuti dai calcoli per il plottaggio di grafici in 1D, 2D o 3D di un elevato numero di variabili.

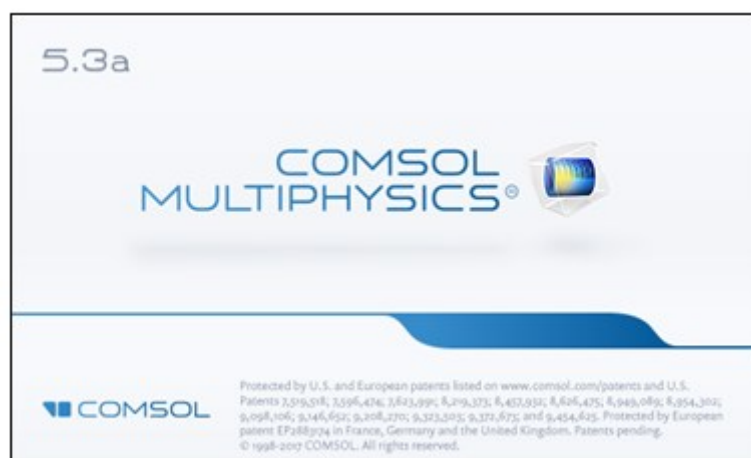


Figura 4.1: schermata introduttiva di COMSOL Multiphysics®.

4.2 Descrizione generale dell'albero del modello

L'albero del modello racchiude al suo interno tutte le caratteristiche del sistema in esame e ne permette una comprensione totale in ogni suo aspetto. Prima di analizzare ogni singola parte in maniera specifica, però, risulta particolarmente utile definire le principali peculiarità del modello del bioreattore, spiegandone la struttura complessiva.

Come si può vedere in figura 4.2, l'albero può essere diviso in quattro grandi blocchi: le definizioni globali, il componente, lo studio e i risultati. Nel seguito verranno descritte le funzioni fondamentali.

Le definizioni globali si riferiscono a tutti i componenti geometrici che vengono costruiti: hanno cioè validità generale all'interno dell'ambiente di lavoro. Nel caso in esame è presente soltanto un componente pertanto ciascun elemento introdotto farà riferimento esclusivamente al reattore. Le definizioni globali si dividono in:

- Parametri- utilizzati per definire le costanti caratteristiche del sistema;
- Materiali- utili a introdurre i materiali di costruzione e quelli presenti all'interno del reattore.

I materiali possono anche essere specificati in un'apposita sezione che fa riferimento al componente. Nella costruzione del modello è stato preferito il secondo approccio, la scelta tra i due risulta comunque, in questo caso, totalmente arbitraria.

Il componente è il sistema geometrico sul quale effettuare lo studio e racchiude al suo interno la maggior parte dei rami dell'albero. Esso è infatti costituito dalle definizioni, dalla geometria, dai materiali, dalle fisiche implementate e dalla mesh. La struttura del componente studiato è la seguente:

- Definizioni- usate per definire variabili e funzioni del modello;
- Geometria- permette di modellare l'oggetto secondo la forma e le dimensioni volute;
- Materiali- hanno funzione analoga a quelli presenti nelle definizioni generali;
- Ingegneria delle reazioni chimiche- consente il fitting delle velocità di reazione;
- Modello di miscela- permette la modellazione fluidodinamica del bioreattore;
- Trasferimento di calore nei fluidi- consente lo studio dei fenomeni di trasporto di energia termica;
- Chimica- utilizzata per introdurre le reazioni che avvengono in fase liquida;
- Trasporto di specie diluite- fa riferimento alle specie chimiche presenti nel medium di coltura;
- Chimica2- utilizzata per le reazioni di assorbimento del syngas nel liquido;
- Trasporto di specie diluite2- fa riferimento alle specie gassose che non vengono assorbite in soluzione;
- Mesh- serve a costruire la griglia per il calcolo degli elementi finiti.

Lo studio è quella sezione dell'albero che consente di calcolare le variabili di interesse e di analizzare i fenomeni fisici in gioco. L'andamento nel tempo di queste variabili è stato ottenuto impostando uno studio transitorio della durata di 43 ore.

La sezione dei risultati invece è quella nella quale vengono mostrati i valori delle variabili oggetto dello studio, attraverso l'utilizzo di grafici e diagrammi.

Nel seguito di questo capitolo verranno analizzati dettagliatamente tutti i rami e le sezioni dell'albero del modello, spiegando le impostazioni settate nel software. Per i risultati si rimanda, invece, al capitolo 5 che è incentrato sull'analisi e l'interpretazione dei dati ottenuti.

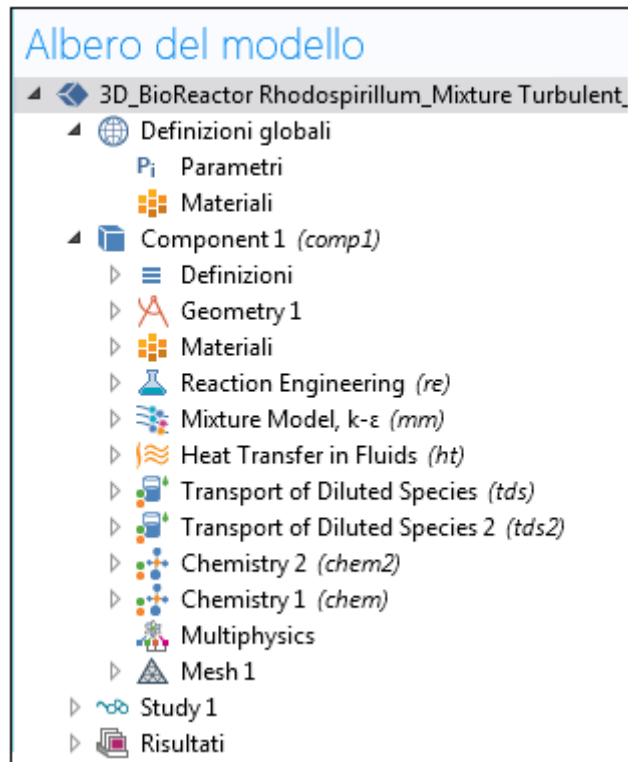


Figura 4.2: Struttura dell'albero del modello. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

4.3 Definizione dei parametri

La sezione dedicata alle definizioni globali è stata utilizzata per l'inserimento dei parametri che caratterizzano il sistema quali le dimensioni geometriche del bioreattore, le proprietà fisiche dei materiali utilizzati, le concentrazioni in ingresso dei componenti del syngas, la velocità iniziale del flusso in ingresso. I valori che fanno riferimento alle dimensioni geometriche sono mostrati in tabella 4.1.

Tabella 4.1. Elenco dei parametri geometrici del bioreattore.

Nome	Valore [mm]	Descrizione
r_reactor_int	63	Raggio interno reattore
r_reactor_ext	70	Raggio esterno reattore
h_reactor	172	Altezza reattore
h_bottom	30	Altezza fondo reattore
sp_reactor	7	Spessore reattore
r_cyl_imp	3	Raggio albero girante
h_cyl_imp	172	Altezza albero girante
r_imp	20	Raggio girante
h_imp	4	Altezza girante
h_pal	12	Altezza palette girante
sp_pal	2.8	Spessore palette girante
l_pal	12	Lunghezza palette girante
r_out	6	Raggio condotto uscita
r_sparg_ext	1.5	Raggio esterno sparger
r_sparg_int	1	Raggio interno sparger

I parametri operativi sono invece presenti in tabella 4.2.

Tabella 4.2. Elenco dei parametri operativi del bioreattore.

Nome	Valore	Descrizione
cCO_g	10 [mol m ⁻³]	Concentrazione CO syngas
cH2_g	10 [mol m ⁻³]	Concentrazione H ₂ syngas
cN2_g	18 [mol m ⁻³]	Concentrazione N ₂ syngas
cCO2_g	2 [mol m ⁻³]	Concentrazione CO ₂ syngas
cCO_l	65 [mol m ⁻³]	Concentrazione iniziale CO nel liquido
cH2_l	50 [mol m ⁻³]	Concentrazione iniziale H ₂ nel liquido
cCO2_l	55 [mol m ⁻³]	Concentrazione iniziale CO ₂ nel liquido
cH2O_l	44 [kmol m ⁻³]	Concentrazione iniziale H ₂ O nel liquido
v_in	1.6755 [m s ⁻¹]	Velocità ingresso syngas
Keq_H2	0.015525	Costante equilibrio H2
Keq_CO2	0.066696	Costante equilibrio CO2
Keq_CO	0.018852	Costante equilibrio CO
Keq_N2	0.01283	Costante equilibrio N2
Tw	303.15 [K]	Temperatura di lavoro

4.4 Definizioni del componente

Tra le definizioni relative al componente sono state specificate delle variabili da inserire nelle varie fisiche del modello, delle funzioni utili alla semplificazione computazionale ed è stata impostata la mesh mobile che consente la rotazione del fluido nel bioreattore.

4.4.1 Variabili

La pressione iniziale del sistema, dovuta al battente idrostatico, è stata denominata con p_{iniz} e definita come:

$$p_{iniz} = \rho_{mix} \cdot g_{const} \cdot (h_{reactor} + h_{bord} - z)$$

Il valore ρ_{mix} rappresenta la densità della miscela iniziale. La costante g_{const} costituisce l'accelerazione di gravità ed è specificata con la denominazione che utilizza il software. I termini tra parentesi tonda rappresentano delle altezze e sono stati indicati nei parametri.

4.4.2 Funzioni gradino e rampa

Sono state definite una funzione gradino e una rampa che risultano utili per evitare discontinuità di velocità e concentrazioni. In figura 4.3 è mostrata la configurazione.

Etichetta: Step 1	Etichetta: Ramp 1
Nome della funzione: step1	Nome della funzione: rm1
Parametri	Parametri
Locazione: 1.5	Locazione: 0.3
Da: 0	Pendenza: 0.01
A: 1	Cut-off: <input checked="" type="checkbox"/> 1

Figura 4.3: Impostazione dei parametri relativi alla funzione gradino e alla funzione rampa. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

4.4.4 Mesh mobile

La mesh mobile è uno strumento che permette di specificare il dominio rotante, la velocità angolare e i dati relativi all'asse di rotazione. Per quanto riguarda la velocità è stata utilizzata la funzione rampa per ottenere un aumento graduale nel tempo. La velocità di rotazione impostata è di 600 rpm. L'asse di rotazione è quello z, cioè l'asse verticale lungo il quale si sviluppa l'altezza del bioreattore.

L'identificazione del dominio rotante invece è mostrata in figura 4.4. Si può notare come è stato costruito un cilindro che racchiude la girante; la rotazione di questo elemento trasmette il movimento al fluido circostante attraverso le funzioni di continuità che vengono richiamate in ciascuna fisica.

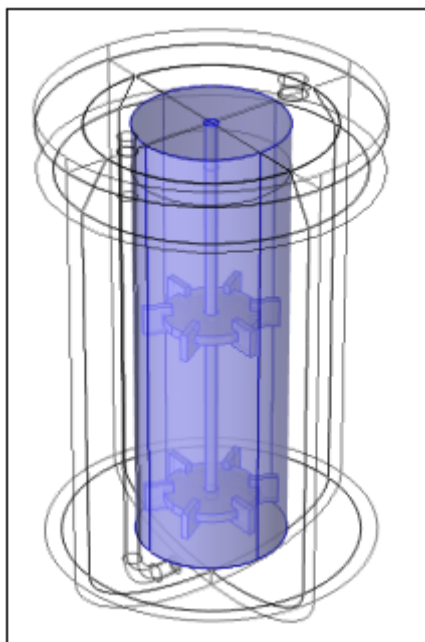


Figura 4.4: Identificazione del dominio rotante. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

4.5 Costruzione della geometria

Il bioreattore è costituito da un vessel di forma pressoché cilindrica ed è dotato al suo interno di uno sparger per l'alimentazione del syngas e di una girante per l'agitazione del liquido come si può notare dalla figura 4.5. Tutti i parametri geometrici d'interesse sono stati indicati in tabella 4.1.

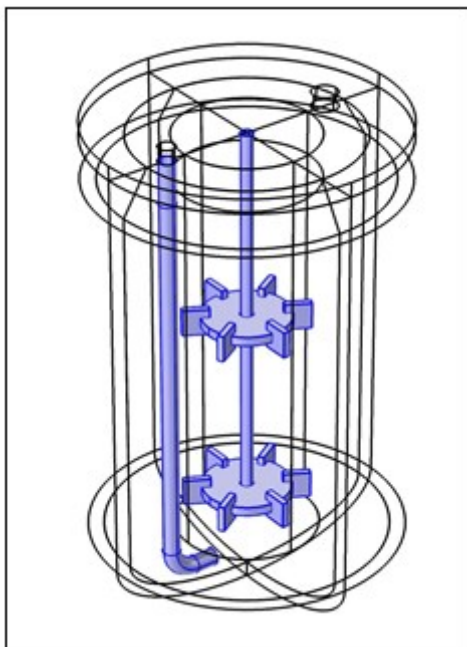


Figura 4.5: Rappresentazione del bioreattore con sparger e girante in evidenza. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

4.5.1 Vessel

Il Vessel è costituito da un serbatoio cilindrico con fondo torosferico, dotato di camicia di rivestimento per il riscaldamento/raffreddamento. La geometria è mostrata in figura 4.6.

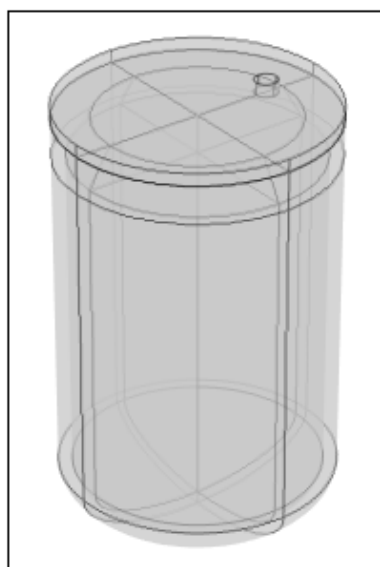


Figura 4.6: Rappresentazione del vessel del bioreattore. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

4.5.2 Sparger

Lo sparger è costituito da due condotti cilindrici raccordati da un condotto a forma di toro. La geometria del pezzo è raffigurata in figura 4.7.

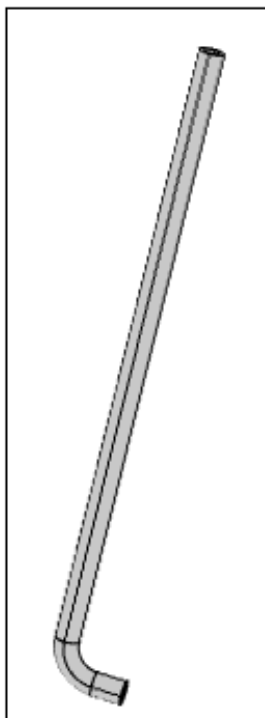


Figura 4.7: Rappresentazione dello sparger del syngas. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

4.5.3 Girante

La girante è costituita da un albero con due turbine Rushton, ciascuna dotata di 6 palette. La costruzione geometrica è mostrata in figura 4.8.

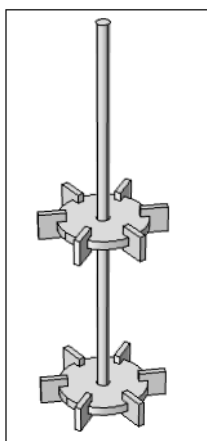


Figura 4.8: Rappresentazione della girante del bioreattore. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

4.6 Selezione dei materiali

L'apposita libreria presente nel software permette di scegliere tra un elevato numero di materiali. Attraverso questo strumento è stato selezionato il materiale di costruzione del bioreattore, cioè l'acciaio. Le sue proprietà sono presenti nella banca dati di COMSOL Multiphysics®. I costituenti del medium e del syngas, invece, sono stati definiti come specie nella fisica "Trasporto di specie diluite" pertanto le loro proprietà sono state calcolate dal software durante la simulazione e non fanno riferimento a valori tabulati. In figura 4.9 è mostrato un esempio che rappresenta l'introduzione nel sistema di un materiale.

Proprietà dei materiali				
Riepilogo del materiale				
»	proprietà	Variabil	Valore	Unità
<input checked="" type="checkbox"/>	Calore specifico a pressione c...	Cp	440[J/(k...	J/(kg·K)
<input checked="" type="checkbox"/>	Densità	rho	7870[kg...	kg/m ³
<input checked="" type="checkbox"/>	Conducibilità termica	k_iso ;...	76.2[W/...	W/(m·...
	Permeabilità relativa	mur_i...	4000	1
	Conducibilità elettrica	sigma...	1.12e7[S...	S/m
	Coefficiente di espansione ter...	alpha_...	12.2e-6[...	1/K
	Permittività relativa	epsilo...	1	1
	Rapporto dei calori specifici	gamma	1.2	1
	Modulo di Young	E	200e9[Pa]	Pa
	Coefficiente di Poisson	nu	0.29	1

Figura 4.9: Esempio di introduzione dell'acciaio. L'interfaccia grafica mostra le principali proprietà che sono presenti nella banca dati del software. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

4.7 Ingegneria delle reazioni chimiche

Questa sezione del modello è quella con la quale sono stati stimati i valori delle velocità di reazione della 3.38 e della 3.39. In particolare è stato indicata con k1 la velocità di reazione di Water Gas Shift (3.38) e con k2 la velocità della reazione di crescita della biomassa (3.39). Per ciascuna delle due è stato selezionato il tipo di reattore, la temperatura operativa ed è stato specificato al software di calcolare le proprietà di trasporto. Sono stati poi definiti i valori iniziali di concentrazione come indicato in tabella 4.2, nonché le proprietà di tutte le specie reattive. Un'immagine rappresentativa dell'albero della fisica è presente in figura 4.10.

Le impostazioni di settaggio non vengono analizzate nel dettaglio in questa sezione in quanto sono esattamente analoghe a quelle presenti nella "Chimica" e nel "Trasporto di specie diluite" e verranno, pertanto, descritte esaustivamente nel seguito della trattazione. Si fa qui riferimento, invece, al metodo utilizzato per la stima dei parametri di reazione a partire dai dati sperimentali.

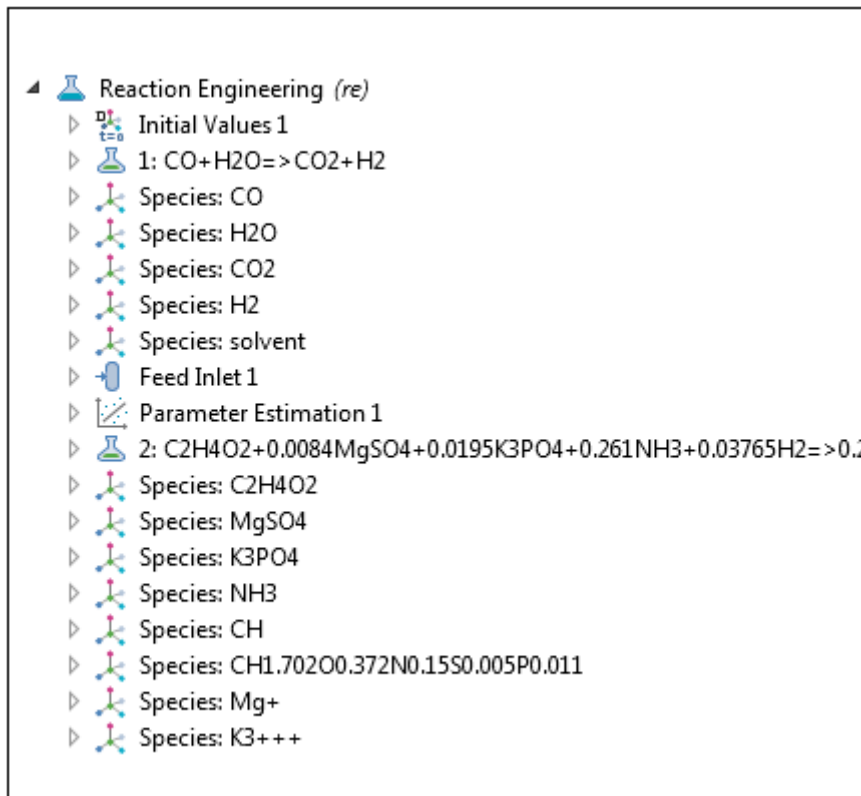


Figura 4.10: Albero della fisica “Ingegneria delle reazioni chimiche”. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

4.7.1 Stima dei parametri

Questa sotto-fisica consente di definire i parametri oggetto del fitting, in questo caso k_1 e k_2 , assegnando loro il range entro il quale possono variare. Attraverso la definizione di un “esperimento” è stato possibile fornire al software un file nel quale sono stati indicati i nomi delle variabili da analizzare e i rispettivi valori. Tali valori sono stati reperiti dai dati sperimentali presentati nel capitolo 2. In particolare, per la reazione 3.38 si è fatto riferimento al grafico di figura 2.7, mentre per la 3.39 a quello presente in figura 2.6. In figura 4.11 è invece rappresentata l’inserimento dei valori delle prove di laboratorio nel software.

Dati sperimentali			
Nome del file:			
valori concentrazioni .csv			
Sfoggia... Importa			
» Dati per colonne	Usa	Variabili del modello	Unità
time	<input checked="" type="checkbox"/>	t	h
conc H2	<input checked="" type="checkbox"/>	re.c_H2	mol/m ³
conc CO2	<input checked="" type="checkbox"/>	re.c_CO2	mol/m ³
conc CO	<input checked="" type="checkbox"/>	re.c_CO	mol/m ³
conc PHB	<input checked="" type="checkbox"/>	re.c_CH1.702O0.372N0.15S0.005P0.0...	mol/m ³

Figura 4.11: Inserimento dei dati sperimentali per la stima dei parametri. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

4.7.2 Ottimizzazione

L'ottimizzazione consiste nella stima vera e propria delle velocità di reazione. Anche se può essere considerato uno studio a tutti gli effetti, si è deciso di parlarne nel contesto dell' "Ingegneria delle reazioni chimiche" perché fa riferimento soltanto a questa fisica e, soprattutto, perché è preliminare allo studio transitorio sul funzionamento del reattore. I valori di k_1 e k_2 ottenuti alla fine dell'ottimizzazione, infatti, sono stati successivamente inseriti nella sezione riguardante le reazioni chimiche.

Tra i metodi possibili di soluzione è stato scelto il Levenberg-Marquardt, un algoritmo adoperato frequentemente per la risoluzione di problemi non lineari ai minimi quadrati. La tolleranza è stata impostata pari a 10^{-5} mentre sono state settate 10^4 iterazioni massime possibili per il raggiungimento del valore desiderato. In figura 4.12 è rappresentata la configurazione del solutore di ottimizzazione.

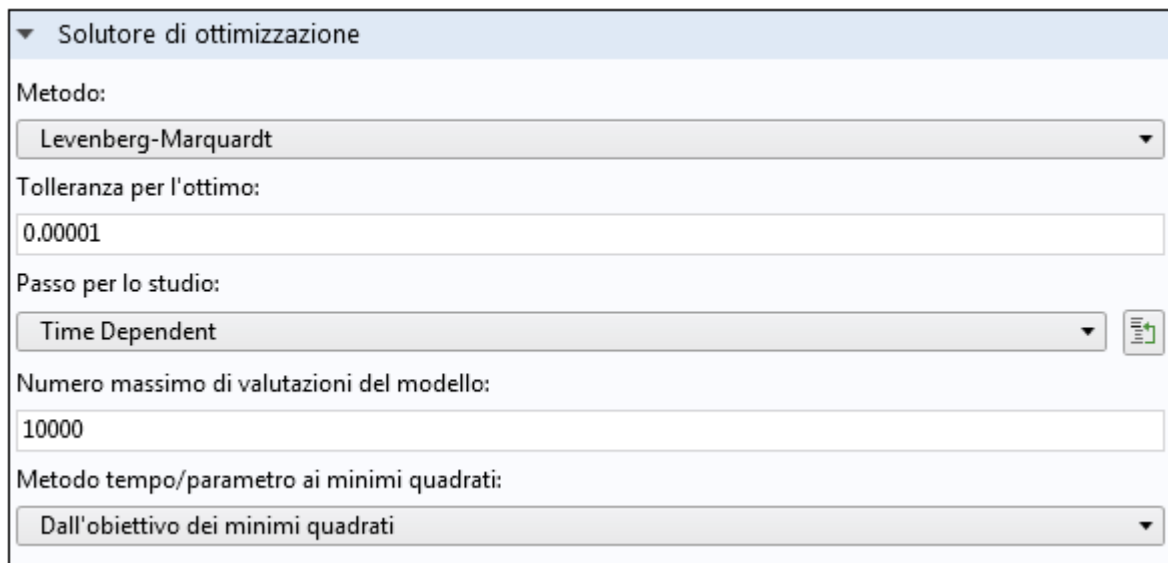


Figura 4.12: Configurazione del solutore di ottimizzazione. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

4.8 Modello di miscela, $k-\epsilon$ (mm)

Per la modellazione della fluidodinamica è stata utilizzata la fisica denominata "Modello di miscela". Essa implementa le equazioni di bilancio indicate nella sezione 3.1 ed è caratterizzata da un flusso bifasico in moto turbolento. I domini di competenza sono quelli relativi al fluido nel bioreattore. La fase dispersa è costituita da bolle di gas mentre il modello di scorrimento del flusso è stato considerato essere omogeneo. Per la turbolenza è stato utilizzato il modello $k-\epsilon$. La figura 4.13 mostra l'albero del "Modello di miscela" in tutti i suoi componenti.

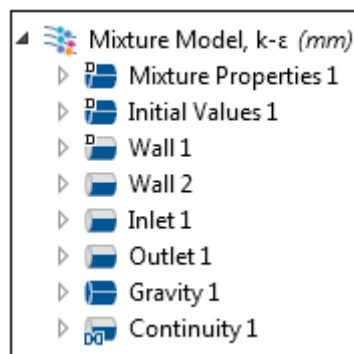


Figura 4.13: Albero della fisica "Modello di miscela". Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

Ogni fisica implementabile sul software calcola delle variabili dipendenti. La lista di quelle stimabili dal “Modello di miscela” con i relativi simboli è disponibile in figura 4.14.

Variabili dipendenti	
Campo di velocità, miscela:	<input type="text" value="u"/>
Campo di velocità, componenti della miscela:	<input type="text" value="u"/> <input type="text" value="v"/> <input type="text" value="w"/>
Pressione:	<input type="text" value="p"/>
Frazione di volume, fase dispersa:	<input type="text" value="phid"/>
Quadrato della velocità di scorrimento:	<input type="text" value="slipvel"/>
Energia cinetica della parte turbulenta:	<input type="text" value="k"/>

Figura 4.14: Elenco delle variabili dipendenti dal “Modello di miscela”. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

4.8.1 Proprietà della miscela

Questa sezione è dedicata all’inserimento delle proprietà riguardanti la fase continua e quella dispersa. Non sono stati inseriti materiali per le due fasi in quanto le proprietà di interesse, in particolare densità e viscosità, non vengono attinte dalla banca dati ma sono collegate con altre fisiche del modello che verranno definite successivamente. Questo link permette l’utilizzo di valori variabili nel tempo in base ai cambiamenti che avvengono nel sistema. In particolare, le proprietà della fase continua fanno riferimento alle reazioni che avvengono nel liquido mentre quelle della fase dispersa si collegano alle reazioni di assorbimento della miscela gassosa nel medium di coltura presente nel reattore. Le impostazioni sono mostrate in figura 4.15.

Per quanto riguarda il modello di viscosità, ne è stato scelto uno di tipo Krieger con concentrazione di impaccamento massima di 0.9 su 1. La lunghezza di miscelazione limite, invece, è stata calcolata automaticamente dal sistema.

Materiali

Fase continua:
Materiale del dominio

Fase dispersa:
Materiale del dominio

Proprietà della fase continua

Densità, fase continua:
 ρ_c Densità (chem)

Viscosità dinamica, fase continua:
 μ_c Viscosità dinamica (chem)

Proprietà della fase dispersa

Densità, fase dispersa:
 ρ_d Densità (chem2)

Viscosità dinamica, fase dispersa:
 μ_d Viscosità dinamica (chem2)

Diametro delle particelle/gocce:
 d_d 6e-3[m] m

Figura 4.15: Settaggio dei parametri fisici di densità e viscosità relativi alle fasi continua e dispersa. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

4.8.2 Valori iniziali

Questa sezione si riferisce ai valori iniziali che caratterizzano la miscela nel momento in cui il sistema viene alimentato con il gas. Sono state fatte le ipotesi di miscela inizialmente in quiete, pertanto è stata inserita una velocità nulla nelle tre direzioni spaziali. La pressione, invece, è quella dovuta al battente di liquido; essa è stata denominata come p_{iniz} al momento della definizione delle variabili nella sezione 4.4.1. La frazione in volume della fase dispersa è stata ovviamente considerata nulla, proprio perché il gas non è presente inizialmente nel sistema. Per quanto riguarda i parametri iniziali della turbolenza, il k e l' \mathcal{E} di partenza sono stati stimati dal software.

4.8.5 Parete 1

Sono state denominate “Parete 1” le pareti interne del bioreattore e quelle dello sparger, alle quali sono state applicate le medesime condizioni al contorno. Esse riguardano la miscela e la fase dispersa e sono state espresse tramite le equazioni riportate in seguito. Le equazioni 4.1-4.4 riguardano l'assenza di scorrimento alle pareti, la 4.5 e la 4.6 si riferiscono ai parametri di turbolenza mentre la 4.7 sta ad indicare un flusso nullo di fase dispersa.

$$\mathbf{u} \cdot \mathbf{n} = \mathbf{u}_{tr} \cdot \mathbf{n} \quad (4.1)$$

$$\left[(\mu + \mu_T) \left(\nabla \mathbf{u} + (\nabla \mathbf{u})^T - \frac{2}{3} (\nabla \cdot \mathbf{u}) \mathbf{I} \right) \right] \mathbf{n} = -\rho \frac{u_\tau}{u^+} \mathbf{u}_{rel,tang} \quad (4.2)$$

$$\mathbf{u}_{rel} = \mathbf{u} - \mathbf{u}_{tr} \quad (4.3)$$

$$\mathbf{u}_{\text{rel,tang}} = \mathbf{u}_{\text{rel}} - (\mathbf{u}_{\text{rel}} \cdot \mathbf{n})\mathbf{n} \quad (4.4)$$

$$\nabla k \cdot \mathbf{n} = 0 \quad (4.5)$$

$$\epsilon = \rho \frac{C_\mu k^2}{k_\nu \delta_w^+ \mu} \quad (4.6)$$

$$-\mathbf{n} \cdot \mathbf{N}_{\varphi_d} = 0 \quad (4.7)$$

4.8.6 Parete 2

Il termine “Parete 2” si riferisce alla parete della girante. Anche in questo caso è stato impostato uno scorrimento nullo ma, diversamente dal caso precedente, è stata fornita una condizione diversa sulla frazione di fase dispersa. Quest’ultima è stata denominata *phid*, che, come indicato in figura 4.14, rappresenta una delle variabili dipendenti calcolate dal “Modello di miscela”. Le equazioni di riferimento per pareti e turbolenza sono analoghe al caso della “Parete 1”, sono cioè le 4.1-4.6. Per quanto riguarda la fase dispersa si fa riferimento all’equazione 4.8:

$$\varphi_d = \varphi_{d0} \quad (4.8)$$

4.8.3 Ingresso

L’ingresso permette di specificare le caratteristiche dell’alimentazione gassosa nonché di definire le condizioni al contorno sulla miscela, sulla fase dispersa e sulla turbolenza. Il syngas viene introdotto nel reattore attraverso lo sparger, il cui dominio è stato selezionato in questa sezione del modello. Si è deciso di utilizzare una condizione sulla pressione in ingresso, p_{iniz} , utilizzando una specifica opzione che permette di evitare il riflusso nel bioreattore. Queste condizioni sono descritte dalle equazioni 4.9-4.11.

La turbolenza è stata definita in termini di intensità e scala di lunghezza, adoperando espressioni fornite dal software. Le equazioni dei valori iniziali di k e ϵ sono la 4.12 e la 4.13.

Per la fase dispersa è stato invece specificato il flusso, correggendo la velocità d’ingresso con una funzione rampa per evitare che la discontinuità tra il valore nullo iniziale e quello di v_{in} potesse creare problemi di calcolo al software. L’equazione del flusso è la 4.14.

$$\mathbf{n}^T \left[-p\mathbf{I} + (\mu + \mu_T) \left(\nabla \mathbf{u} + (\nabla \mathbf{u})^T - \frac{2}{3} (\nabla \cdot \mathbf{u}) \mathbf{I} \right) - \frac{2}{3} \rho k \mathbf{I} \right] \mathbf{n} = -\hat{p}_0 \quad (4.9)$$

$$\hat{p}_0 \geq p_0 \quad (4.10)$$

$$\mathbf{u} \cdot \mathbf{t} = 0 \quad (4.11)$$

$$k = \frac{3}{2} (U_{\text{ref}/T})^2 \quad (4.12)$$

$$\epsilon = C_\mu^{3/4} \frac{k^{3/2}}{L_T} \quad (4.13)$$

$$-\mathbf{n} \cdot \mathbf{N}_{\varphi_d} = N_{\varphi_d} \quad (4.14)$$

4.8.4 Uscita

Il flusso uscente dal reattore è caratterizzato, come l'ingresso, da condizioni sulla miscela e sulla fase dispersa. Anche in questo caso è stata specificata la pressione (scarico a pressione atmosferica) come si evince dalle equazioni 4.15 e 4.16. Per le variabili di turbolenza sono valide la 4.5 e la 4.17. Il flusso della fase dispersa fuori dal reattore è dato dall'equazione 4.8, nel caso di validità della 4.18.

$$\left[-p\mathbf{I} + (\mu + \mu_T) \left(\nabla \mathbf{u} + (\nabla \mathbf{u})^T - \frac{2}{3} (\nabla \cdot \mathbf{u}) \mathbf{I} \right) - \frac{2}{3} \rho k \mathbf{I} \right] \mathbf{n} = -\hat{p}_0 \mathbf{n} \quad (4.15)$$

$$\hat{p}_0 \leq p_0 \quad (4.16)$$

$$\nabla \epsilon \cdot \mathbf{n} = 0 \quad (4.17)$$

$$\mathbf{n} \cdot \mathbf{u}_d < 0 \quad (4.18)$$

4.8.7 Gravità

Per tenere conto dell'effetto della gravità sul sistema, in quanto il reattore si sviluppa principalmente in verticale, è stata inserita la componente z nell'apposito vettore.

4.9 Trasferimento di calore nei fluidi (ht)

La fisica "Trasferimento di calore nei fluidi" permette di modellare i flussi di calore e definire le temperature caratteristiche del sistema in esame. I fenomeni fisici in gioco sono la conduzione e la convezione come specificato nella sezione 3.3, dove è stata anche fornita l'equazione di trasporto che viene risolta dal software (equazione 3.35). I domini sui quali è stata implementata la fisica riguardano tutto il bioreattore, anche lo spessore della parete esterna. In figura 4.16 è mostrato l'albero della fisica nel suo insieme. L'unica variabile dipendente che viene calcolata è la temperatura e viene indicata con T .

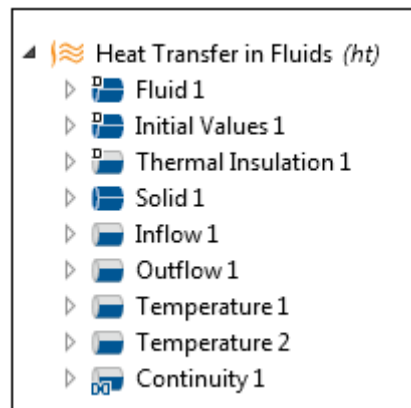
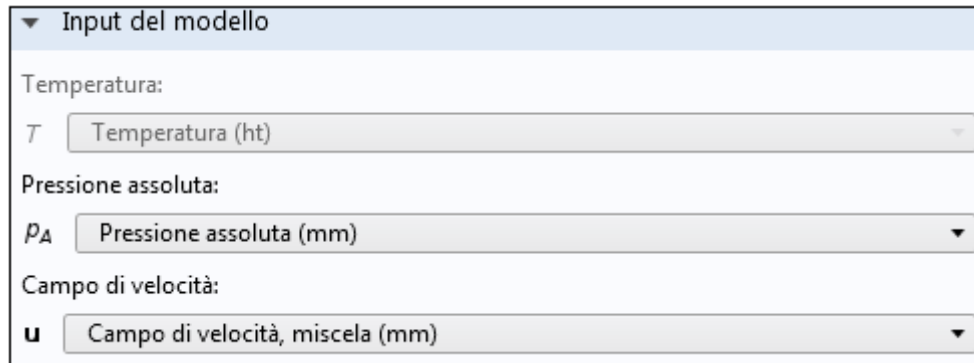


Figura 4.16: Albero della fisica "Trasferimento di calore nei fluidi". Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

4.9.1 Fluido

Questa sezione è utilizzata per collegare le principali proprietà del fluido con le fisiche che ne calcolano il valore nonché per specificare alcune proprietà termodinamiche. La figura 4.17 mostra il collegamento con il “Modello di miscela” per il calcolo di pressione e velocità.



▼ Input del modello

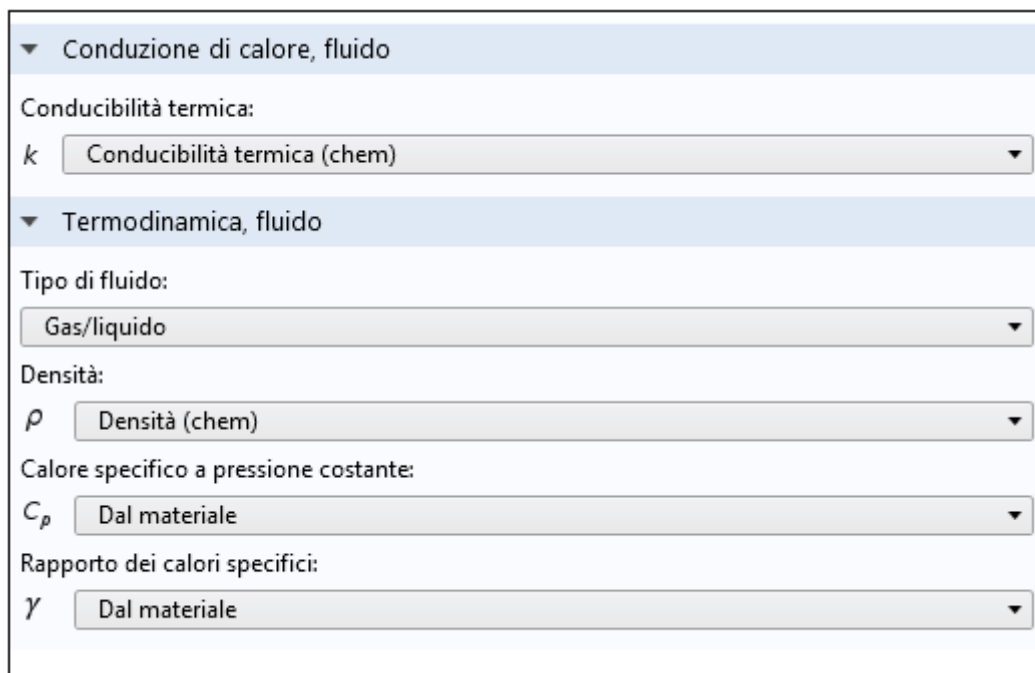
Temperatura:
 T Temperatura (ht)

Pressione assoluta:
 p_A Pressione assoluta (mm)

Campo di velocità:
 u Campo di velocità, miscela (mm)

Figura 4.17: Collegamento con il “Modello di miscela” per il calcolo di pressione e velocità del fluido. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

In figura 4.18 invece sono specificati i settaggi per la densità, la conducibilità termica, il calore specifico a pressione costante e il rapporto tra i calori specifici. Le prime due vengono calcolate dalla “Chimica 1” a cui si farà riferimento nel seguito della trattazione. Per il c_p e il γ invece vengono utilizzati i valori presenti nella banca dati del software e relativi al materiale.



▼ Conduzione di calore, fluido

Conducibilità termica:
 k Conducibilità termica (chem)

▼ Termodinamica, fluido

Tipo di fluido:
Gas/liquido

Densità:
 ρ Densità (chem)

Calore specifico a pressione costante:
 c_p Dal materiale

Rapporto dei calori specifici:
 γ Dal materiale

Figura 4.18: Collegamento con il “Modello di miscela” per il calcolo di pressione e velocità del fluido. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

4.9.2 Valori iniziali

La temperatura iniziale del sistema è stata definita uguale alla temperatura ambiente. Il valore preso in esame è di 293.15 K.

4.9.3 Isolamento termico

L'isolamento termico è riferito alle pareti esterne dello sparger e della girante. L'equazione utilizzata è la 4.19 e corrisponde alla condizione di flusso nullo attraverso le pareti.

$$-\mathbf{n} \cdot \mathbf{J}_q = 0 \quad (4.19)$$

4.9.4 Solido

Il solido è costituito dal corpo del reattore e dal coperchio superiore. I valori delle proprietà caratteristiche sono presi dalla banca dati relativa al materiale.

4.9.5 Flusso entrante

In questa sezione è stato selezionato il dominio relativo allo sparger. La temperatura a monte è quella ambientale mentre la pressione è pari a 1 atm. L'equazione per il flusso entrante è la 4.20, l'entalpia viene calcolata con la 4.21:

$$-\mathbf{n} \cdot \mathbf{J}_q = \rho \Delta H \mathbf{u} \cdot \mathbf{n} \quad (4.20)$$

$$\Delta H = \int_{T_{ustr}}^T C_p dT + \int_{\rho_{ustr}}^{\rho_A} \frac{1}{\rho} (1 - \alpha_p T) dp \quad (4.21)$$

4.9.6 Flusso uscente

Il dominio relativo al flusso uscente è invece quello costituito dalla bocchetta presente sul coperchio del reattore. Anche in questo caso l'equazione utilizzata è la 4.19 che fa riferimento a un flusso uscente nullo.

4.9.7 Temperatura 1

L'introduzione di questa sezione serve per definire la temperatura presente sulla superficie della girante. Essa è stata definita come T e corrisponde alla temperatura calcolata dal sistema nei vari istanti della simulazione ed è pertanto una variabile.

4.9.8 Temperatura 2

Questa temperatura fa riferimento alle superfici esterne del reattore, pertanto è stata impostata uguale alla temperatura ambiente.

4.10 Trasporto di specie diluite 1 (tds)

Per modellare il trasporto di specie chimiche si è deciso di utilizzare due *tds* separate. Il “Trasporto di specie diluite 1” fa riferimento alle specie presenti inizialmente in soluzione acquosa, cioè quelle che compongono il medium di coltura del batterio. La fisica calcola come variabili dipendenti le concentrazioni di tutte le specie, attraverso la risoluzione dell’equazione 3.23. In figura 4.19 è rappresentata un’immagine dell’albero della fisica.

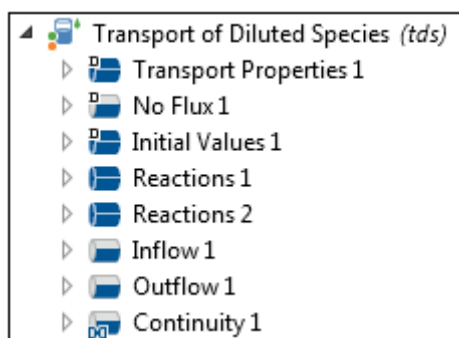


Figura 4.19: Albero della fisica “Trasporto di specie diluite 1”. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

4.10.1 Proprietà di trasporto

Questa sezione serve a stabilire i collegamenti tra il *tds* e le proprietà calcolate dalle altre fisiche. La temperatura è calcolata dal “Trasferimento di calore nei fluidi” mentre la velocità dal “Modello di miscela”. Per quanto riguarda i coefficienti di diffusione, essi vengono calcolati dalla “Chimica 1” e sono qui richiamati attraverso l’espressione presente in figura 4.20.

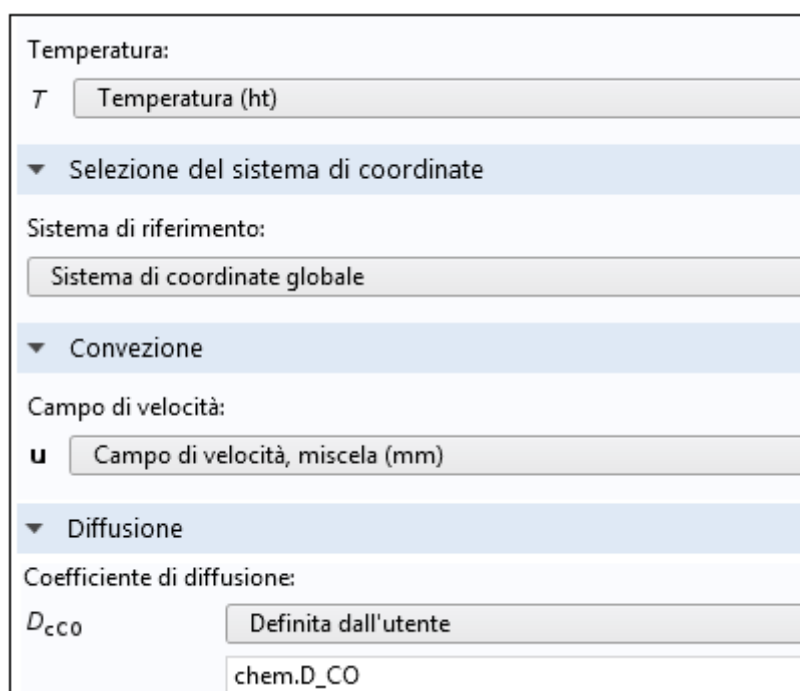


Figura 4.20: Collegamento con le altre fisiche per il calcolo di temperatura , velocità e coefficienti di diffusione. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

Il collegamento per il calcolo dei coefficienti di diffusione è stato effettuato per ciascuna specie in soluzione. Si farà particolare riferimento alle specie presenti nella sezione riguardante la “Chimica 1”.

4.10.2 Nessun flusso

L’assenza di flusso totale di materia si riferisce alle pareti del bioreattore che, essendo chiuso, non permette ovviamente che ci sia trasferimento di massa attraverso di esse. Questa condizione è espressa dall’equazione 4.22.

$$-\mathbf{n} \cdot \mathbf{N}_i = 0 \quad (4.22)$$

4.10.3 Valori iniziali

La definizione dei valori iniziali di concentrazione delle specie presenti è avvenuta utilizzando i valori presentati nel capitolo 2, in tabella 2.3.

4.10.4 Reazioni 1

La definizione di questa sotto-fisica fa riferimento alle reazioni che verranno definite in “Chimica 1” e permette di assegnare ad ogni specie il tasso di reazione adeguato. Un esempio di collegamento per alcune specie è mostrato in figura 4.21.

▼ Tassi di reazione	
R_{cCO}	Espressione del tasso per le specie CO (chem)
R_{cCO2}	Espressione del tasso per le specie CO2 (chem)
R_{cH2}	Espressione del tasso per le specie H2 (chem)
R_{cH2O}	Espressione del tasso per le specie H2O (chem)
$R_{cestratto_lievito}$	Espressione del tasso per le specie estratto_lievito (chem/estratto_lievito)
$R_{cbiotina}$	Espressione del tasso per le specie biotina (chem/biotina)
R_{cNH4Cl}	Espressione del tasso per le specie NH4Cl (chem/NH4Cl)

Figura 4.21.: Collegamento del tasso di reazione di alcune specie con “Chimica 1”. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

4.10.5 Reazioni 2

La definizione di “Reazioni 2”, invece, serve a collegare le specie con “Chimica 2”. Il “Trasporto di specie diluite 1” infatti non presenta un vero e proprio inlet. I valori in ingresso sono dovuti alla quantità di syngas in alimentazione che si solubilizza nel liquido, pertanto il collegamento istituito con le reazioni di assorbimento dei gas funge da ingresso per il *tds*. Nella sezione specifica del flusso entrante infatti non è stato inserito alcun valore. Il settaggio delle impostazioni è presente in figura 4.22.

▼ Tassi di reazione	
R_{CO}	Espressione del tasso per le specie CO (chem2)
R_{CO2}	Espressione del tasso per le specie CO2 (chem2)
R_{H2}	Espressione del tasso per le specie H2 (chem2)

Figura 4.22.: Collegamento del tasso di reazione dei componenti del syngas con “Chimica 2” in *tds1*. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

4.10.6 Flusso uscente

Per la condizione di flusso in uscita è stato fatto riferimento all’equazione 4.23:

$$-\mathbf{n} \cdot D_i \nabla c_i = 0 \quad (4.23)$$

4.11 Trasporto di specie diluite 2 (*tds2*)

Il *tds2* fa riferimento ai componenti del syngas, pertanto le variabili dipendenti calcolate sono le concentrazioni delle specie gassose. Anche in questo caso vengono calcolate dal software risolvendo l’equazione 3.23. L’albero della fisica è molto simile a quello del *tds1* ed è mostrato in figura 4.23.

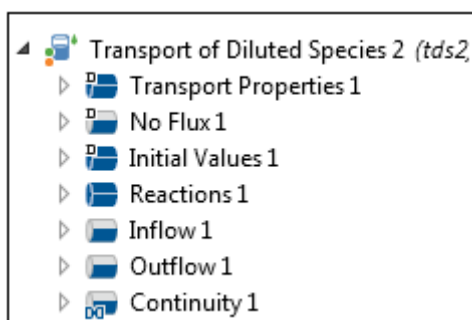


Figura 4.23: Albero della fisica “Trasporto di specie diluite 2”. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

4.11.1 Proprietà di trasporto

Anche i collegamenti con le altre fisiche vengono effettuati allo stesso modo, a differenza dei valori dei coefficienti di diffusione che devono essere forniti al sistema dall’utente.

4.11.2 Nessun flusso

La condizione di flusso di materia nullo attraverso le pareti del reattore è analoga a quella del *tds1* ed è espressa anch’essa tramite l’equazione 4.22.

4.11.3 Valori iniziali

I valori iniziali si riferiscono alle concentrazioni di composti gassosi presenti nel sistema inizialmente, pertanto sono tutti uguali a zero.

4.11.4 Reazioni 1

Questa sezione della fisica collega il *tds2* con “Chimica 2”, nella quale sono state definite le reazioni di assorbimento dei gas nel liquido. La configurazione è rappresentata in figura 4.24.

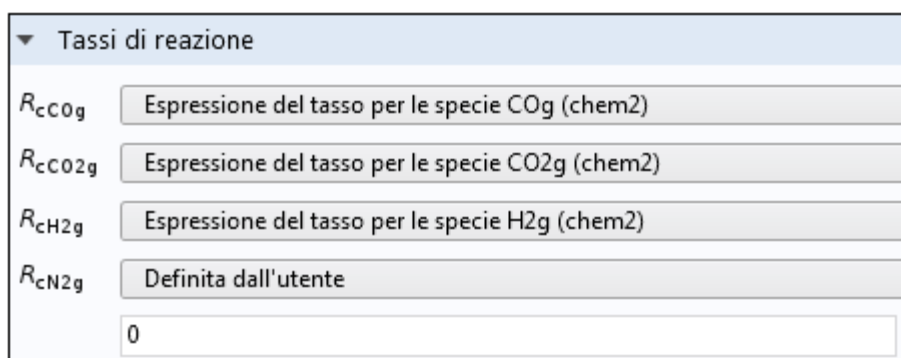


Figura 4.24: Collegamento del tasso di reazione dei componenti del syngas con “Chimica 2” in *tds2*. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

4.11.5 Flusso entrante

Nel “Flusso entrante” sono stati definiti i valori di concentrazione dei componenti del syngas, indicati in tabella 4.2.

4.11.6 Flusso uscente

La condizione sul flusso uscente è analoga a quella espressa dalla 4.23.

4.12 Chimica 2 (*chem2*)

Questa fisica è stata utilizzata per le reazioni chimiche di assorbimento dei componenti del syngas nel liquido. La “Chimica 1” si riferisce invece alle reazioni che avvengono in fase liquida (*Water Gas Shift* e crescita biomassa). I reagenti di *Water Gas Shift*, in particolare, sono quasi tutti contenuti nel syngas (esclusa l’acqua) pertanto è stato scelto di trattare prima la “Chimica 2” per maggiore chiarezza espositiva. In figura 4.25 è raffigurato l’albero con tutte le reazioni e le specie considerate nel calcolo.

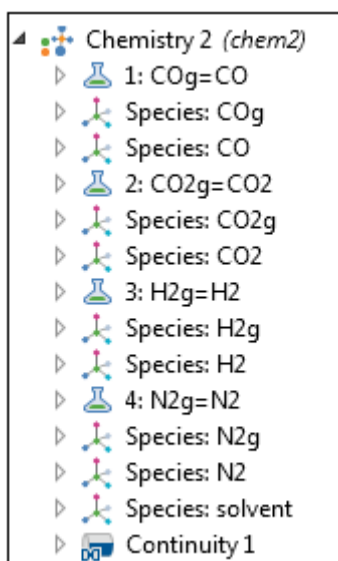


Figura 4.25: Albero della fisica “Chimica 2”. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

La temperatura e la pressione sono state collegate rispettivamente con “Trasferimento di calore nei fluidi” e “Modello di miscela”. Le proprietà della miscela calcolate dalla fisica sono la densità in fase gas e la viscosità dinamica. La prima viene stimata tramite l’equazione di stato dei gas, per la viscosità dinamica invece il software utilizza l’equazione 4.24:

$$\mu = 2.669 \cdot 10^{-6} \frac{\sqrt{TM_i \cdot 10^3}}{\sigma_i^2} \cdot \left[\frac{b_1}{\left(T/\frac{\varepsilon_i}{k_b}\right)^{b_2}} + \frac{b_3}{\exp(b_4 T/\frac{\varepsilon_i}{k_b})} + \frac{b_5}{\exp(b_6 T/\frac{\varepsilon_i}{k_b})} + \frac{4.998 \cdot 10^{-40} \mu_{D_i}^4}{k_b^2 T \frac{\varepsilon_i}{k_b} \sigma_i^6} \right]^{-1} \quad (4.24)$$

Il termine i nella 4.24 fa riferimento al solvente, il quale è stato definito per esigenze del software ma corrisponde all’azoto (componente principale del syngas).

La figura 4.25 riassume le quattro reazioni di assorbimento impostate. Il settaggio delle condizioni operative è uguale per ciascuna reazione. Ognuna di esse, infatti, è stata considerata essere all’equilibrio e la K_{eq} è stata calcolata utilizzando la legge di Henry. Come esempio viene riportata la reazione di assorbimento del monossido di carbonio dal gas al liquido. In figura 4.26 è possibile notare come sia stata definita la reazione specifica, come il programma esprima la costante di equilibrio e come sia stato inserito il valore di tale costante, definito nei parametri.

▼ Formula di reazione	
Formula:	COg=CO
Tipo di reazione:	Equilibrio
$K_{eq} = K_{eq0}$	
▼ Impostazioni per l'equilibrio	
Espressione di equilibrio:	Automatico
$K_{eqj} = \frac{\prod_{i=1}^{Qp} c_i^{v_{ij}}}{\prod_{i=1}^{Qr} c_i^{-v_{ij}}}$	
Costante di equilibrio:	K_{eq0} Keq_CO

Figura 4.26: Impostazioni relative alla reazione di assorbimento del monossido di carbonio. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

Per quanto riguarda le specie (essendo il settaggio analogo per ciascuna di esse) si fa riferimento al CO, ovvero al monossido di carbonio in fase liquida. Le impostazioni sono rappresentate in figura 4.27. Si può notare come sia stato definito il tipo di specie, in questo caso di bulk, e siano stati inseriti i parametri generali. Questi ultimi comprendono la massa molare del composto e la sua carica. Il tasso di reazione, infine, è stato calcolato in automatico dal sistema in base alle impostazioni settate nella reazione chimica nella quale compare la specie presa in esame.

Nome delle specie:
CO

▼ Tipo di specie
Tipo di specie:
Specie del bulk

▼ Parametri generali
Massa molare:
M 0.028 [kg/mol]
Carica:
z 0

▼ Tasso di reazione
 $R = \sum_j R_j$
Automatico

Figura 4.27: Impostazioni relative alla specie CO (monossido di carbonio in fase liquida). Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

4.13 Chimica 1 (chem)

Le reazioni considerate in questa sezione sono la 3.38 e la 3.39 (*Water Gas Shift* e crescita biomassa). In figura 4.28 è presente l'albero generale della fisica con le due reazioni impostate e tutte le specie coinvolte.

Anche per quanto riguarda “Chimica 1” le proprietà termodinamiche sono state calcolate dall'*ht* e la velocità dal *mm*. Il calcolo delle proprietà di trasporto, invece, avviene diversamente a causa della diversa fase in cui le reazioni hanno luogo (liquida anziché gas). In particolare, la densità viene settata automaticamente dal software pari a quella del solvente, ovvero l'acqua, mentre la viscosità dinamica è stimata attraverso l'equazione 4.25:

$$\mu = 10^{-3} \left[(\mu_{ref} 10^3)^{-0.2661} + \frac{T - T_{ref}}{223} \right]^{-3.758} \quad (4.25)$$

I valori di μ_{ref} e T_{ref} sono presenti in tabella 4.3:

Tabella 4.3. Valori delle costanti di riferimento dell'equazione 4.25.

μ_{ref}	T_{ref}
$1.787 \cdot 10^{-4}$ [Pa·s]	293 [K]

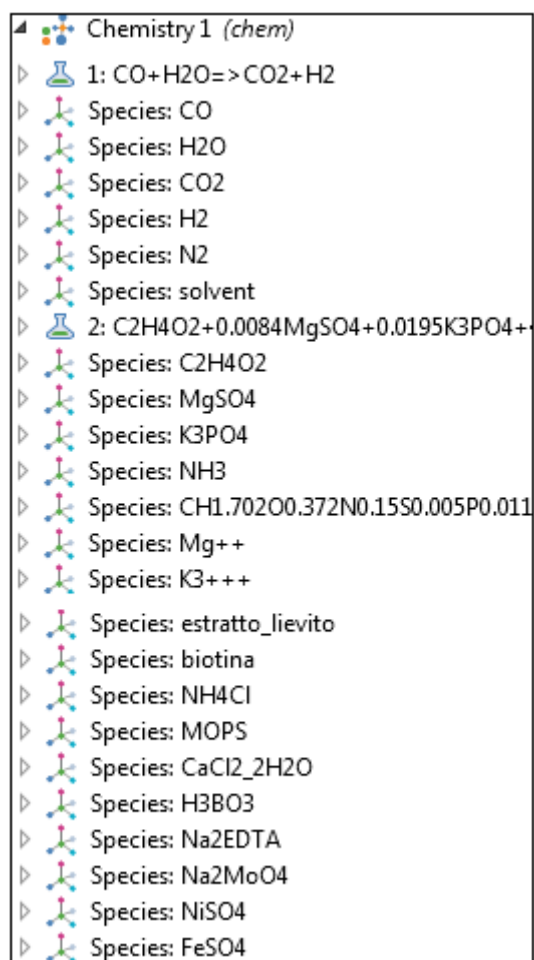


Figura 4.28: Albero della fisica “Chimica 1”. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

4.13.1 Reazione 1

In figura 4.29 è rappresentato il settaggio relativo alla reazione 3.38: è stata impostata una reazione irreversibile con tasso di reazione k_1 . Questo valore corrisponde a quello stimato dal software ,utilizzando “Ingegneria delle reazioni chimiche”, attraverso uno studio di ottimizzazione a partire dai dati sperimentali.

Formula:
CO+H2O=>CO2+H2 Applica

Tipo di reazione:
 Irreversibile ▼

$R_i = \nu_i r$

▼ Tasso di reazione

Tasso di reazione:
 Definita dall'utente ▼

Tasso di reazione:
 r mol/(m³·s) Reimposta ai valori di default

Figura 4.29: Impostazioni della reazione 1. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

4.13.2 Reazione 2

In figura 4.30 è invece rappresentato il settaggio della reazione 3.39. Anche in questo caso essa è stata considerata irreversibile e la velocità di reazione (k_2) corrisponde a quella calcolata da COMSOL Multiphysics® attraverso lo studio di ottimizzazione a partire dai dati sulla produzione di PHB.

▼ Formula di reazione

Formula:

acetato+0.0084MgSO4+0.0195K3PO4+0.261NH3+0.03765H2=>0.258CO2+1.742Rrubrum

Tipo di reazione:

Irreversibile

$R_i = \nu_i r$

▼ Tasso di reazione

Tasso di reazione:

Definita dall'utente

Tasso di reazione:

r

Figura 4.30: Impostazioni della reazione 2. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

L'introduzione nel software delle singole specie è avvenuta in maniera analoga a quanto mostrato in figura 4.27, attraverso la definizione di proprietà come il peso molecolare e la carica e la scelta della tipologia tra specie di bulk e solvente.

4.14 Costruzione della mesh

La costruzione di una mesh adeguata è indispensabile per ottenere risultati affidabili dal calcolo degli elementi finiti. COMSOL Multiphysics® permette di scegliere tra numerose tipologie di griglia. Per il modello del bioreattore è stata utilizzata una mesh tetraedrica libera che consente la generazione di elementi di dimensioni diverse, adattati in base alla struttura geometrica del componente sul quale vengono implementate le fisiche. Per assicurarsi che i risultati ottenuti dalla simulazione non siano influenzati dall'infillimento della griglia e quindi dal numero di tetraedri in cui viene diviso il dominio, è opportuno operare un'analisi di sensibilità sull'andamento di una variabile. In figura 4.31 è rappresentato l'andamento della velocità media della miscela nel tempo, per 5 mesh diverse. Si può notare come aumentando progressivamente il numero di tetraedri il valore della variabile cambi sensibilmente fino a un punto in cui si attesta su uno stazionario che è indipendente dalla griglia utilizzata. Nel caso di 758410 tetraedri, infatti, il valore finale è identico a quello ottenuto con 531833 tetraedri, pertanto quest'ultimo è stato utilizzato come riferimento per impostare la mesh di calcolo.

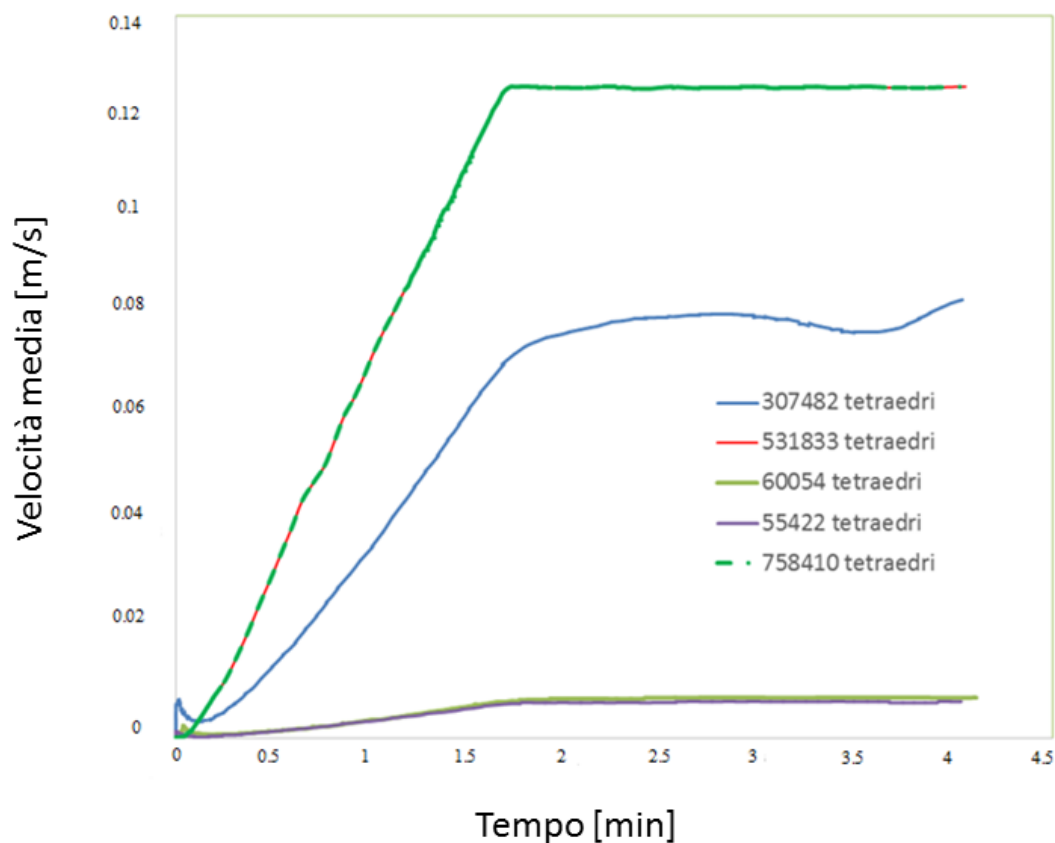


Figura 4.31: Grafico di indipendenza delle variabili calcolate dall'infitimento della griglia utilizzata, l'esempio è stato effettuato considerando la velocità della miscela. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

COMSOL Multiphysics® permette di scegliere tra numerose tipologie di griglia. Per il modello del bioreattore è stata utilizzata una mesh tetraedrica libera che consente la generazione di elementi di dimensioni diverse, adattati in base alla struttura geometrica del componente sul quale vengono implementate le fisiche. La griglia di calcolo adoperata è caratterizzata dai parametri dimensionali elencati in tabella 4.4.

Tabella 4.4. Parametri dimensionali degli elementi della mesh

Parametro	Valore
Dimensione massima degli elementi	0.0229 [m]
Dimensione minima degli elementi	0.00412 [m]
Rapporto di crescita massimo per gli elementi	1.5
Fattore di curvatura	0.6
Parametro di definizione per le geometrie allungate	0.5

In particolare, per ottenere maggior precisione di calcolo nelle zone di transizione geometrica è stata selezionata un'apposita opzione che permette il raffinamento della mesh ai vertici. L'infitimento della griglia, dovuta alla diminuzione delle dimensioni degli elementi, permette infatti al software di poter

valutare meglio le discontinuità di proprietà che potrebbero esserci in tali punti. I parametri relativi all'infiltramento sono presenti in tabella 4.5.

Tabella 4.5. Parametri relativi al raffinamento ai vertici

Parametro	Valore
Angolo minimo fra i contorni	240°
Fattore di scala per la dimensione degli elementi	0.35

E' stata inoltre utilizzata un'opzione aggiuntiva per lo strato limite, caratterizzata da un'elevata distribuzione di elementi ,in direzione normale, lungo specifici bordi. Questo tipo di mesh è infatti particolarmente adatta per risolvere problemi fluidodinamici lungo le pareti con condizione di no-slip. Le proprietà dello strato limite sono elencate in tabella 4.6.

Tabella 4.6. Proprietà dello strato limite

Proprietà	Valore
Numero di strati	5
Fattore di stiramento allo strato limite	1.2
Spessore del primo strato	Calcolato automaticamente dal software
Fattore di regolazione dello spessore	2.5

L'impostazione dei parametri e delle proprietà sopra descritti ha portato alla creazione della griglia di calcolo presente in figura 4.32.

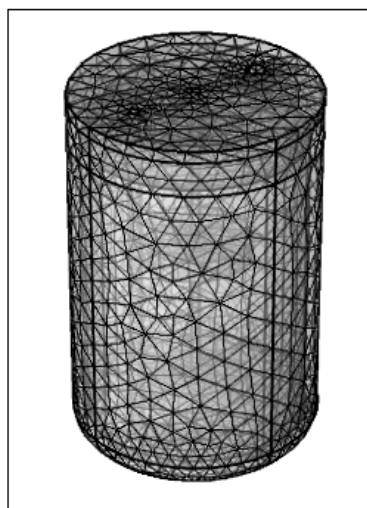


Figura 4.32: Rappresentazione della mesh sulla superficie del reattore. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

4.15 Studi effettuati

COMSOL Multiphysics® permette di effettuare numerosi tipi di studio: stazionario, transitorio, analisi in frequenza. Gli studi effettuati sul bioreattore sono stati di tipo transitorio, caratterizzati pertanto da un'evoluzione nel tempo delle variabili in esame (concentrazioni, temperature, velocità, pressioni, ecc.)

Il software permette di scegliere la durata delle simulazioni e gli intervalli di tempo dopo i quali memorizzare i valori desiderati. E' possibile inoltre decidere di effettuare il calcolo anche soltanto per alcune delle fisiche implementate nell'albero del modello e selezionare il tipo di mesh, qualora ne siano state definite più di una. La figura 4.33 mostra le impostazioni settate per lo studio.

Impostazioni studio			
Unità di tempo: h			
Tempi: range(0,1,43) h			
Tolleranza: Controllato dalla Fisica			
Risultati durante la soluzione			
Selezione della fisica e delle variabili			
<input checked="" type="checkbox"/> Modificare la configurazione del modello per il passo dello studio			
»	Interfaccia fisica	Risolvi per	Discretizzazione
	Mixture Model, k-ε	<input checked="" type="checkbox"/>	Impostazioni fisica
	Heat Transfer in Fluids	<input checked="" type="checkbox"/>	Impostazioni fisica
	Chemistry 1	<input checked="" type="checkbox"/>	Impostazioni fisica
	Transport of Diluted Species	<input checked="" type="checkbox"/>	Impostazioni fisica
	Chemistry 2	<input checked="" type="checkbox"/>	Impostazioni fisica
	Transport of Diluted Species 2	<input checked="" type="checkbox"/>	Impostazioni fisica

Figura 4.33: Impostazioni generali relative allo studio. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

COMSOL Multiphysics® mette a disposizione quattro tipi di solutori: *MUMPS*, *PARDISO*, *SPOOLES* e *Matrice densa*. Per la soluzione dello studio transitorio sul modello del bioreattore è stato utilizzato il *MUMPS*.

Il *MUMPS* (*MUltifrontal Massively Parallel sparse direct Solver*) è un solver che permette la soluzione di grandi sistemi sparsi di equazioni algebriche lineari. Esso implementa un metodo di eliminazione gaussiana denominato “multifrontale” ed è particolarmente adatto per il calcolo degli elementi finiti.

Tra le funzionalità del programma è presente inoltre un'opzione che consente di calcolare separatamente le variabili oggetto dello studio. Il calcolo segregato agisce in modo sequenziale, utilizzando i risultati delle variabili precedenti per valutare quelle successive. Una volta stabilito l'ordine delle iterazioni, esso si mantiene uguale per tutta la simulazione, fino al raggiungimento della convergenza. Il risultato è lo stesso di quello che si otterrebbe risolvendo il problema con tutte le variabili accoppiate, il vantaggio del solutore segregato consiste nella riduzione dei tempi di calcolo.

Infatti, nonostante in genere richieda più iterazioni per giungere a convergenza, la memoria e il tempo che esse richiedono per ogni step è decisamente minore e risulta nella maggior parte dei casi in un minor tempo totale di simulazione. Pertanto nella risoluzione è stato preferito l'utilizzo di questo metodo di calcolo.

5. Risultati

Vengono presentati in questo capitolo i risultati ottenuti dalla simulazione di 43 h effettuata sul funzionamento del bioreattore.

5.1 Validazione del modello

In figura 5.1 è presentato l'andamento nel tempo delle concentrazioni di monossido di carbonio, idrogeno, anidride carbonica e PHB. I valori segnati con i triangoli fanno riferimento ai dati sperimentali di letteratura utilizzati per la modellazione, quelli con i trattini rappresentano invece i valori ottenuti dalla simulazione con COMSOL Multiphysics®. Come si evince dal grafico, il trend è confermato per tutte e 4 le variabili e i risultati numerici ottenuti sono molto simili a quelli reali. Ciò testimonia una corretta riproduzione del funzionamento sperimentale del bioreattore. Si può pertanto concludere che il modello risulta validato.

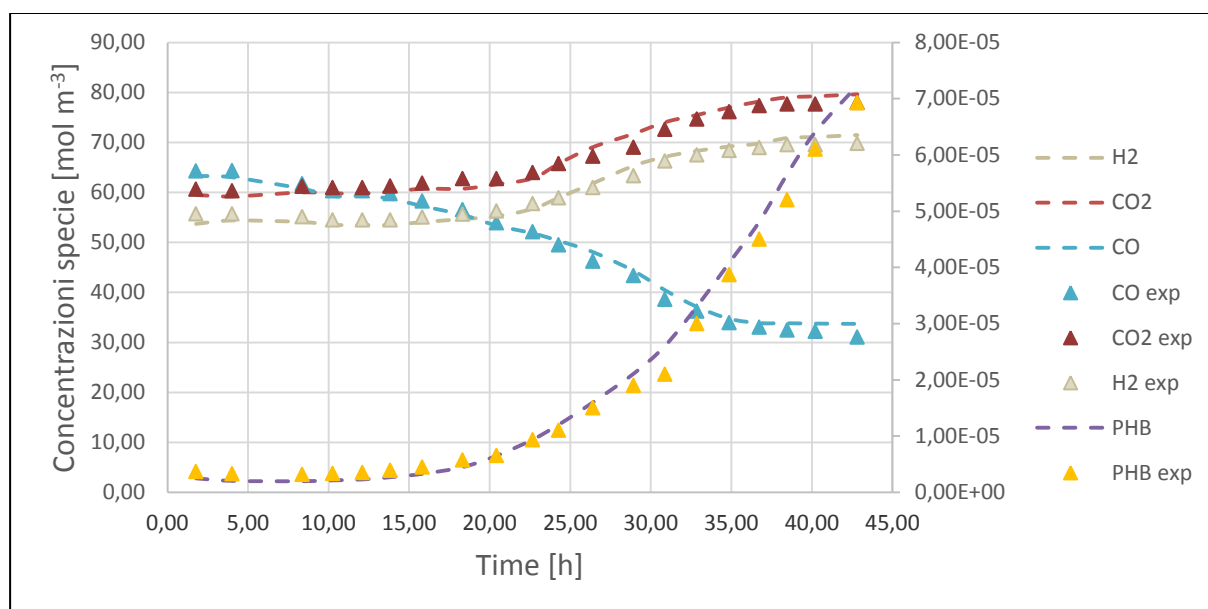


Figura 5.1: Andamento nel tempo delle concentrazioni di CO, H₂, CO₂ e PHB ottenuto sperimentalmente (▲) e tramite simulazione (--).

5.2. Analisi delle variabili nelle condizioni di validazione

In questa sezione viene analizzato l'andamento delle variabili principali che caratterizzano il sistema, tramite l'utilizzo di grafici realizzati da COMSOL Multiphysics®. In particolare vengono esaminate la velocità della miscela, la frazione volumica di fase dispersa, la pressione e le concentrazioni delle specie principali.

5.2.1 Velocità

In figura 5.2 è presentato l'andamento della velocità media della miscela in funzione del tempo. Si può notare come essa aumenti dal valore nullo dell'istante iniziale fino ad attestarsi intorno a 0.13 [m/s] dopo circa 3 minuti. Tale valore può essere considerato come stazionario perché rimane pressoché costante fino alla fine. Il grafico mostra, in particolare, l'intervallo temporale che va dall'inizio della simulazione fino a un tempo di 40 min, per evidenziare il transitorio della variabile.

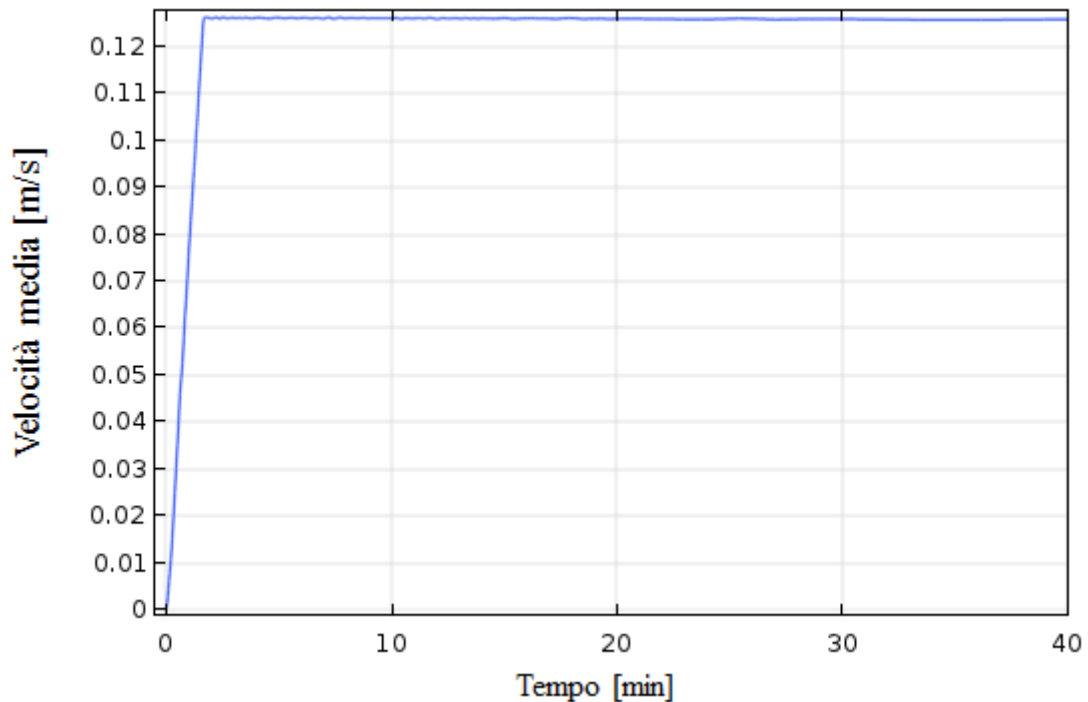


Figura 5.2 : Andamento della velocità media del fluido in funzione del tempo nell'intervallo che evidenzia il transitorio e il raggiungimento dello stazionario. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

La figura 5.3 mostra l'andamento della velocità all'interno del bioreattore su 5 piani yz paralleli tra loro, a diversi istanti temporali. L'immagine (a) si riferisce all'istante iniziale: è possibile notare come la velocità della miscela sia nulla in tutto il volume a causa dell'ipotesi di fluido in quiete. L'immagine (b) fa riferimento a un tempo di simulazione di 2 minuti per evidenziare il transitorio della variabile. I valori più elevati, in questo caso, sono riscontrati nei pressi delle turbine Rushton dove la velocità è superiore a 0.2 [m/s] mentre la media della miscela si attesta su 0.1 [m/s]. L'immagine (c), invece, rappresenta il campo alla fine della simulazione e mostra un valore medio di 0.13 [m/s], in accordo con il grafico presente in figura 5.2. Anche in questo caso i valori più elevati vengono raggiunti in prossimità della girante e sulle pareti del bioreattore.

La figura 5.4 mostra invece il campo di velocità alla fine della simulazione su un piano yz (a) e su un piano xz (b). Le immagini confermano come i valori più elevati si riscontrino in vicinanza delle palettature della girante, con picchi di 0.35 [m/s]. Nella zona inferiore del bioreattore, in prossimità dello sparger, si hanno invece incrementi di velocità dovuti all'ingresso del syngas, mentre nella zona superiore la lieve discontinuità della variabile si spiega con la presenza del condotto di uscita del gas non reagito. Confrontando i valori relativi alle due pareti, si nota una sostanziale differenza: la velocità è più elevata su quella di destra (rispetto alle immagini di figura 5.4), dove supera gli 0.2 [m/s]. Ciò si spiega con la presenza dello sparger che attenua l'effetto della girante, fungendo da schermo per la parete ad esso più vicina.

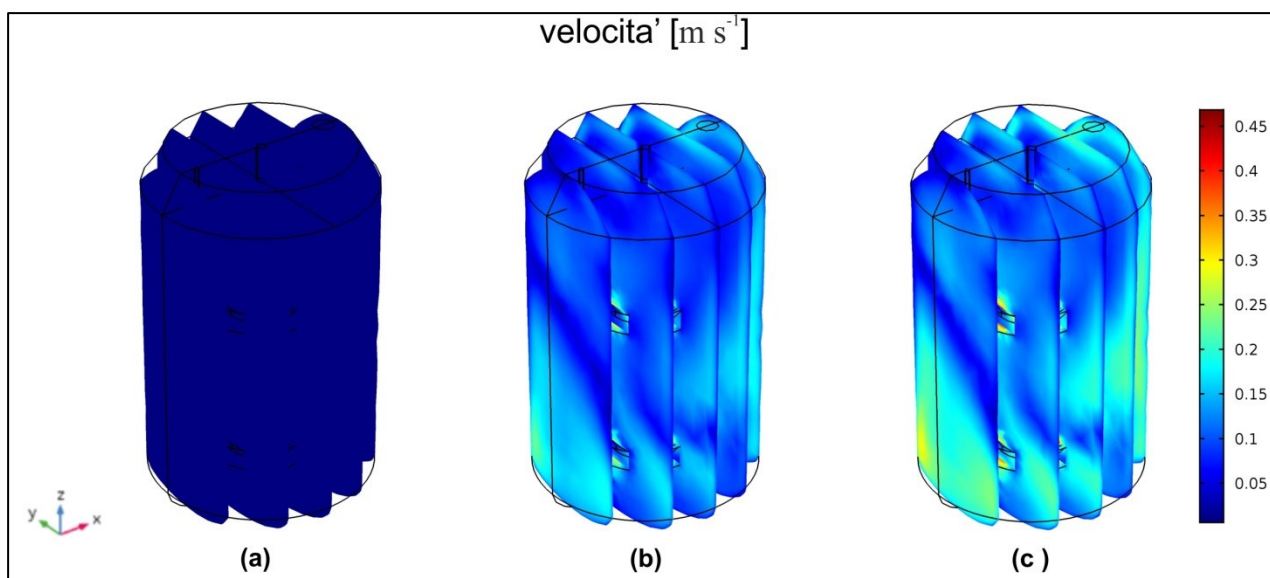


Figura 5.3 : Andamento della velocità del fluido su 5 piani yz a diversi istanti temporali: inizio della simulazione (a), transitorio (b) e fine della simulazione (c). Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

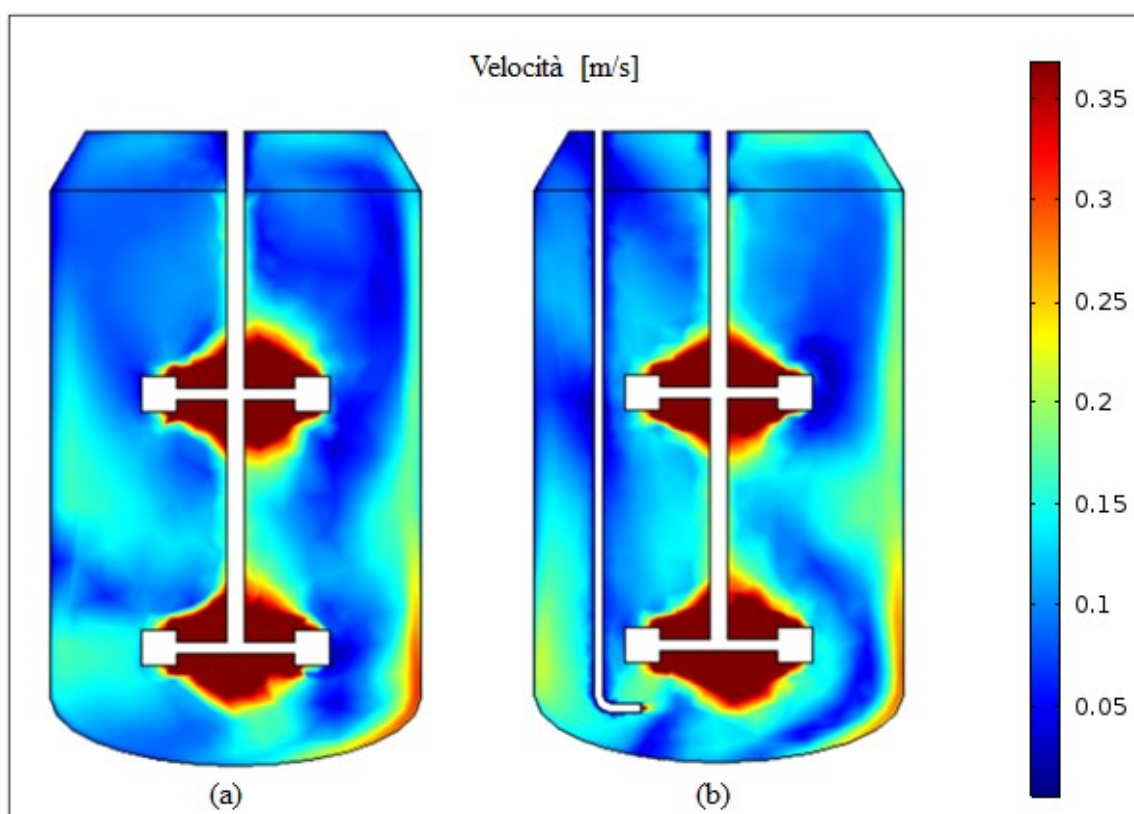


Figura 5.4 : Andamento della velocità alla fine della simulazione su un piano yz (a) e su un piano xz (b). Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

5.2.2 Frazione di fase dispersa

I grafici presentati in figura 5.5 sono stati ottenuti sezionando il volume del bioreattore con gli stessi piani utilizzati in figura 5.3. L'immagine (a) si riferisce alla frazione volumica di fase dispersa all'inizio della simulazione, tale valore è ovunque nullo perché le specie inizialmente presenti nel sistema vengono considerate in fase liquida (assenza di bolle di gas). Dal momento che la portata di alimentazione è in fase gassosa, i componenti del syngas in ingresso portano a una variazione nel tempo della variabile. L'immagine (b) si riferisce al transitorio ed evidenzia un incremento rispetto al valore iniziale. L'immagine (c), invece, rappresenta il campo di fase dispersa alla fine della simulazione con valori medi che si attestano intorno a 0.025. In generale, i tre grafici denotano un progressivo aumento della variabile nel tempo.

La figura 5.6 mostra invece la frazione in volume di fase dispersa alla fine della simulazione su un piano yz (a) e su un piano xz (b). La distribuzione risulta essere abbastanza omogenea in tutto il volume del reattore. Le zone vicino alla girante, però, presentano discontinuità dovute a limiti del sistema di miscelazione mentre in vicinanza dello sparger, la presenza dell'alimentazione gassosa porta ad un aumento rispetto alla media dei valori.

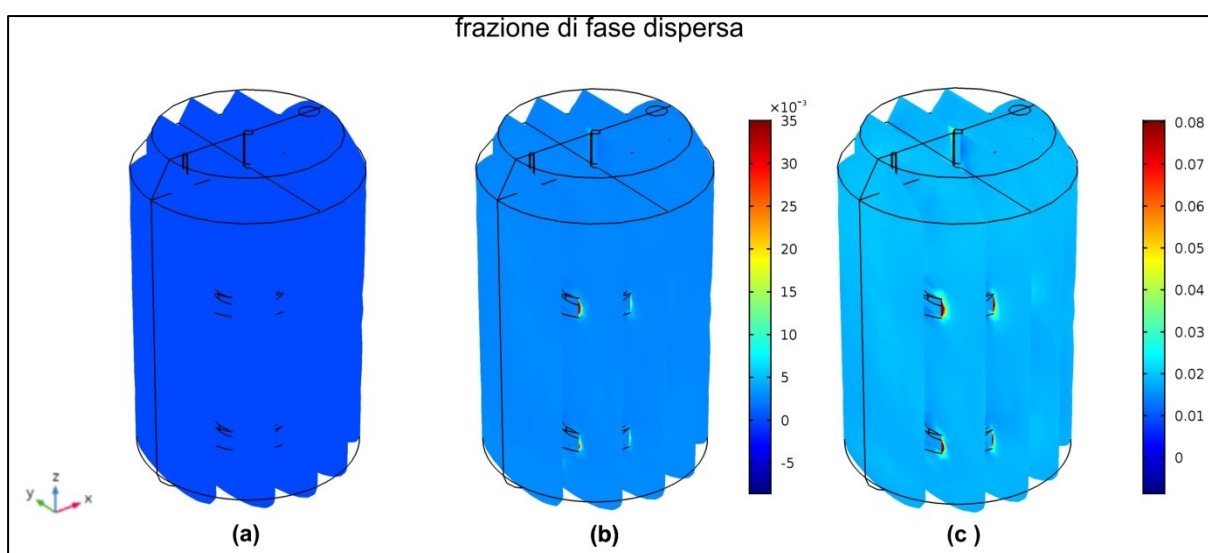


Figura 5.5 : Andamento della frazione volumica di fase dispersa su 5 piani yz a diversi istanti temporali: inizio della simulazione (a), transitorio (b) e fine della simulazione (c). Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

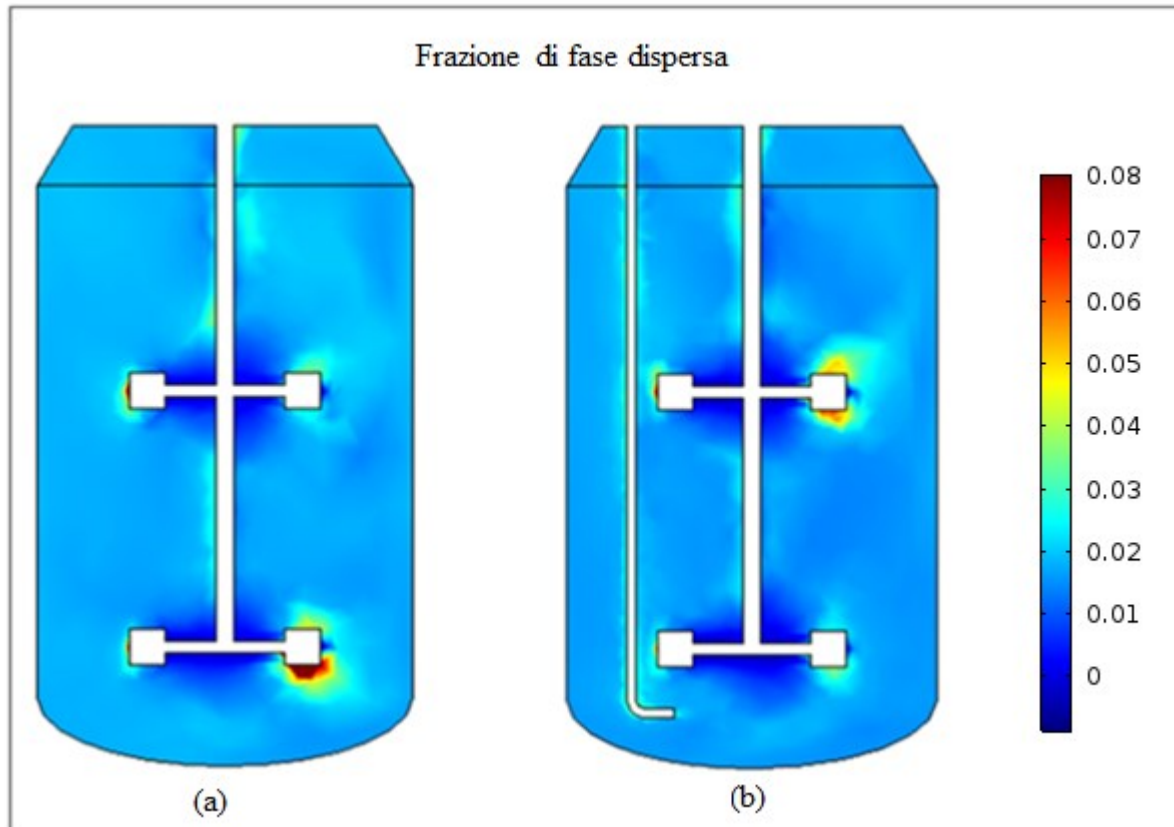


Figura 5.6: Andamento della frazione volumica di fase dispersa alla fine della simulazione su un piano yz (a) e su un piano xz (b). Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

5.2.3 Pressione

In figura 5.7 è rappresentato l'andamento della pressione relativa iniziale e di quella finale attraverso le isolinee, che collegano tra loro i punti isobari. Risulta evidente come la variazione della variabile durante la simulazione sia minima, in particolare si assiste a una lieve diminuzione di pressione all'interno del bioreattore. Il risultato è coerente con il tipo di sistema modellato: un sistema chiuso a pressione pressoché atmosferica.

In figura 5.8 è invece rappresentato l'andamento della pressione alla fine della simulazione su un piano yz (a) e su un piano (xz). I grafici presentati denotano un aumento della variabile a partire dall'alto e procedendo fino al fondo del reattore. Ciò è dovuto principalmente al peso della colonna di liquido che diventa maggiore al diminuire della coordinata zeta e che porta a una differenza massima di circa 2000 [bar] tra il valore massimo e quello minimo. Questo risultato è confermato dal fatto che non si osserva alcuna variazione radiale di pressione su piani alla stessa coordinata zeta.

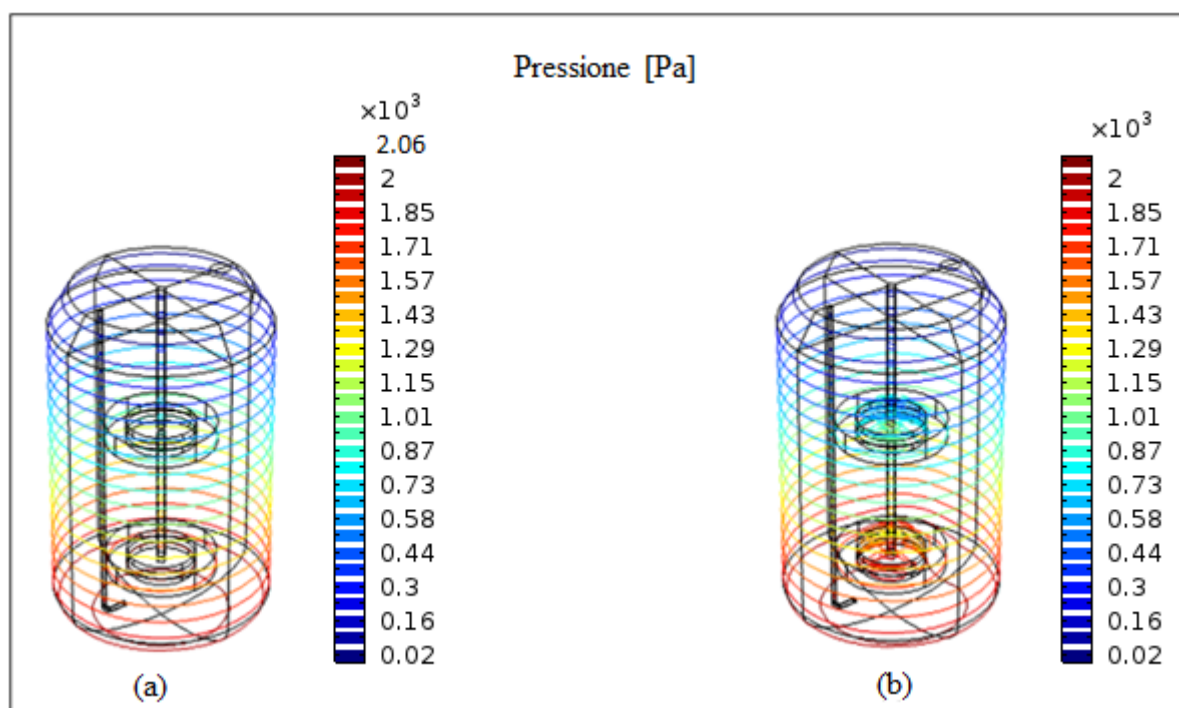


Figura 5.7 : Andamento della pressione relativa all'inizio (a) e alla fine della simulazione (b) . Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

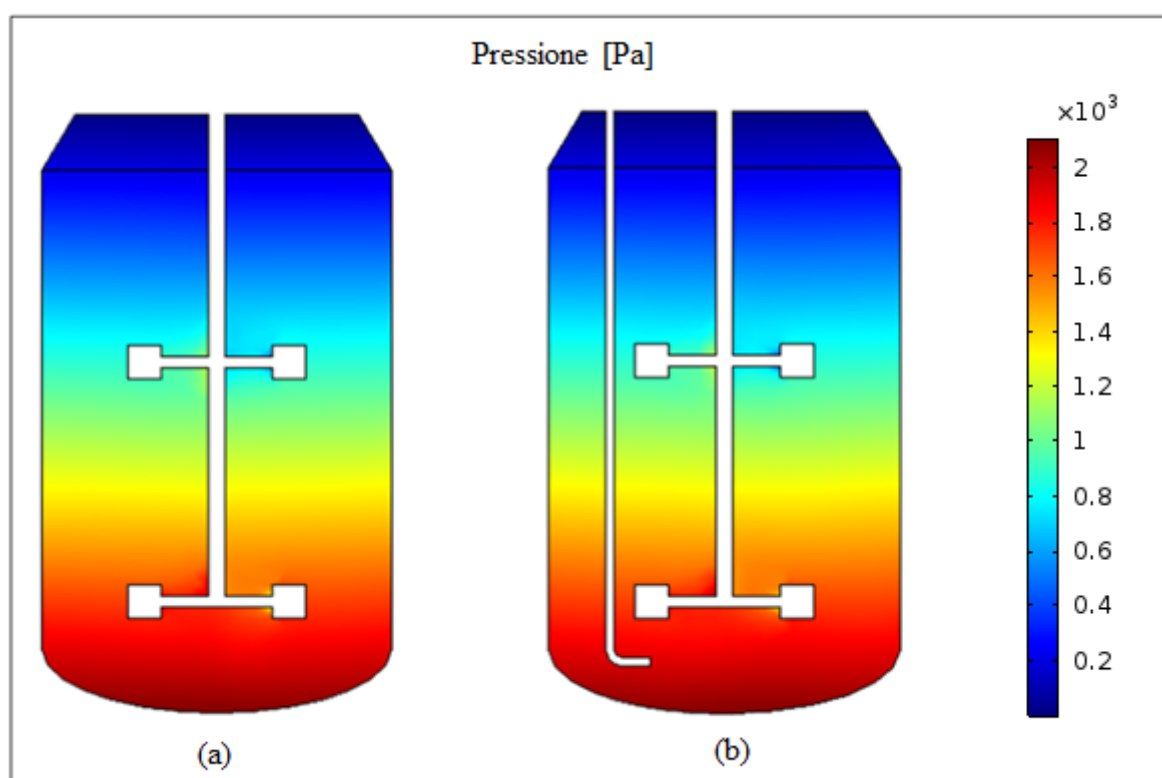


Figura 5.8 : Andamento della pressione alla fine della simulazione su un piano yz (a) e su un piano xz (b) . Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

5.2.4 Concentrazione delle specie

In figura 5.9 e 5.10 sono rappresentate rispettivamente le concentrazioni del monossido di carbonio e dell'idrogeno alla fine della simulazione su un piano xz (a) e su un piano yz (b). Dalle immagini si evince come tali concentrazioni seguano lo stesso trend e come non siano uniformemente distribuite nel volume di liquido. Tali composti infatti, risultano essere presenti in maggior quantità nelle zone in testa al reattore: ciò può essere dovuto alla presenza del condotto di uscita del gas, che spinge i componenti verso l'alto. Si possono notare inoltre picchi nella zona più vicina allo sparger: probabilmente il verso di rotazione della girante crea discontinuità a livello di concentrazione radiale.

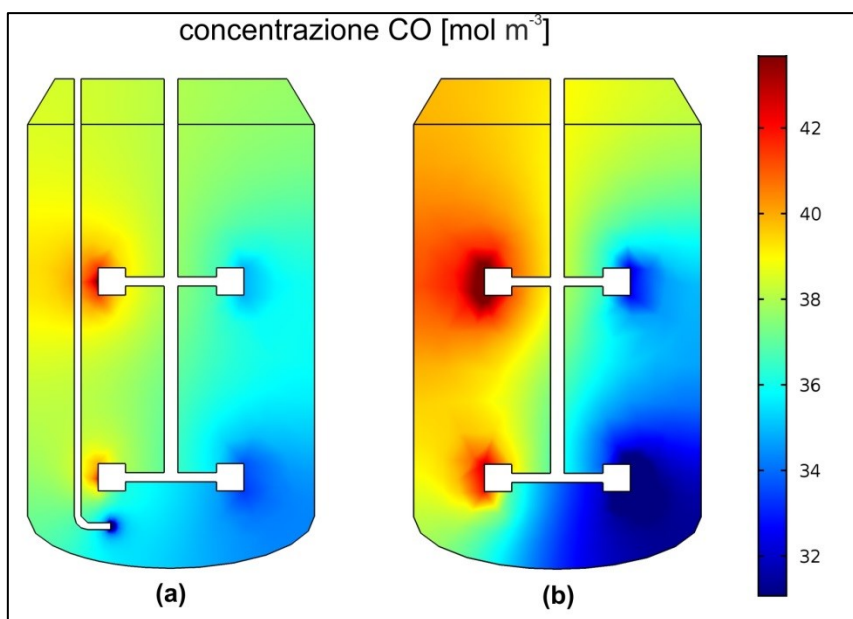


Figura 5.9: Andamento della concentrazione di monossido di carbonio alla fine della simulazione su un piano xz (a) e su un piano yz (b). Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

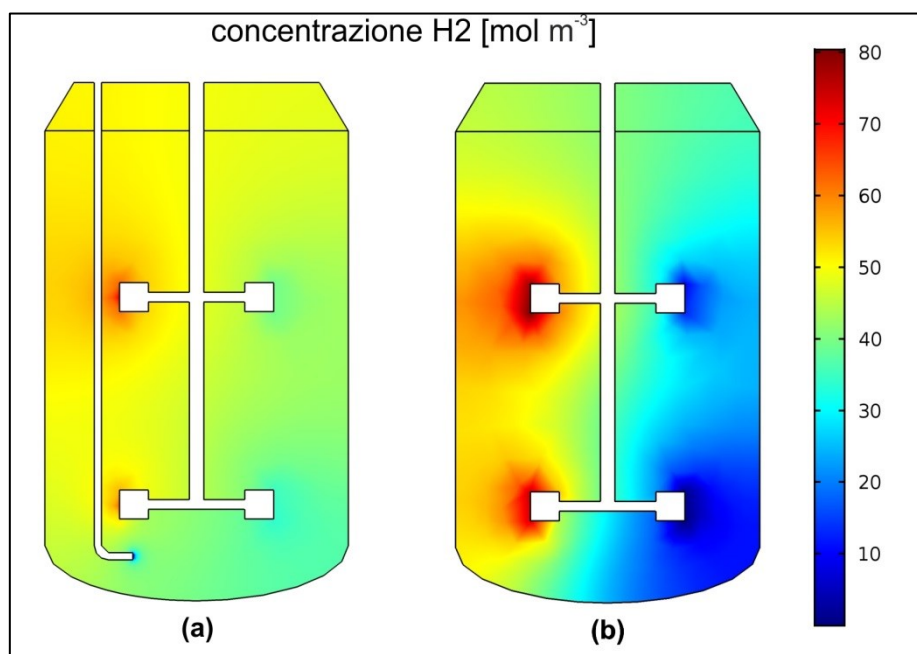


Figura 5.10: Andamento della concentrazione di idrogeno alla fine della simulazione su un piano xz (a) e su un piano yz (b). Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

In figura 5.11 è rappresentata la concentrazione di PHB alla fine della simulazione. Anche in questo caso si notano valori più elevati nelle zone superiori del reattore e attorno alla palette della girante più vicine allo sparger. L'andamento e la distribuzione della variabile sono in accordo con quanto osservato per il monossido di carbonio e per l'idrogeno. E' possibile però individuare una maggiore omogeneità procedendo in direzione del fondo del reattore rispetto al CO e all' H_2 .

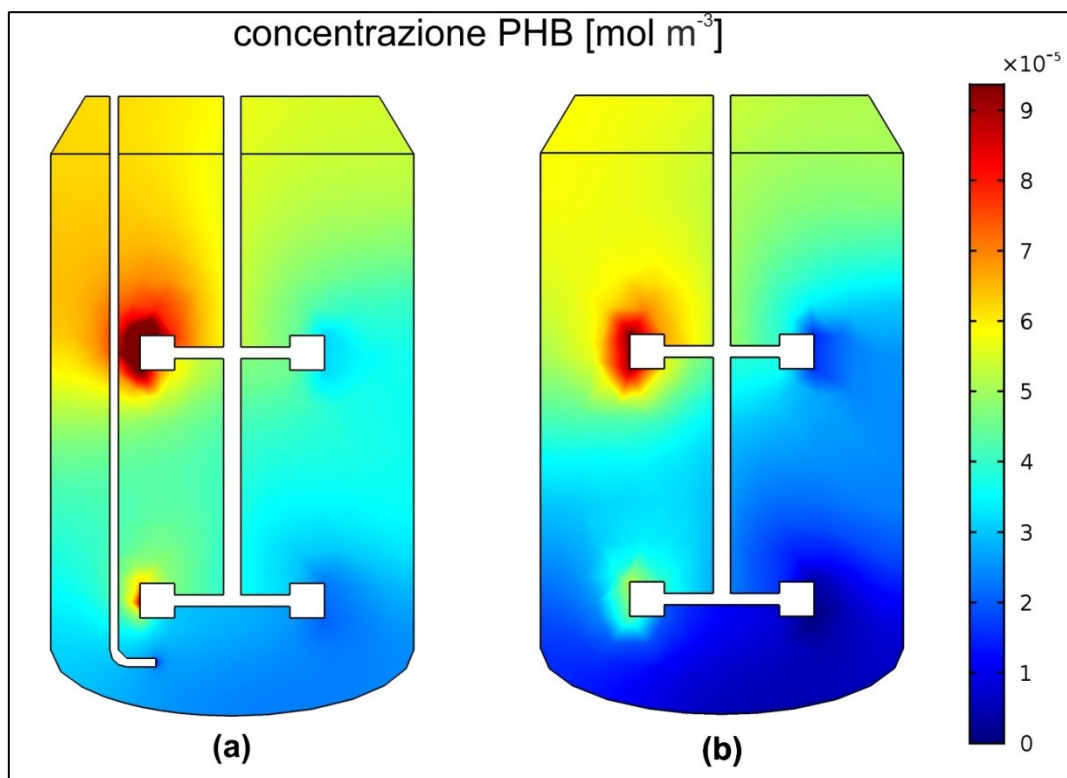


Figura 5.11: Andamento della concentrazione di PHB alla fine della simulazione su un piano yz (a) e su un piano xz (b). Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

Dalle immagini proposte, risulta evidente come la concentrazione media dei vari componenti corrisponda con quella indicata in figura 5.1 nel grafico di validazione del modello. Infine, osservando gli andamenti della concentrazione di reagenti e prodotti di reazione è abbastanza evidente la coerenza tra loro. Infatti si può notare che, nonostante le non omogeneità nella distribuzione spaziale, alle zone in cui vi è maggior presenza di reagenti corrispondono le zone in cui si ha maggior concentrazione di prodotti, come l'idrogeno e il PHB riportati in figura 5.10-11.

6. Analisi di sensibilità

Partendo dal sistema base modellato sui dati di letteratura, sono state effettuate ulteriori simulazioni incentrate su analisi di sensibilità volte a migliorare il funzionamento del bioreattore. Inizialmente è stata analizzata l'influenza della percentuale di CO nel syngas in ingresso sulla produzione di PHB e di idrogeno. Successivamente sono stati svolti ulteriori studi sul sistema di flussaggio, tramite l'utilizzo di due diverse tipologie di sparger, per valutare l'andamento di variabili fluidodinamiche come velocità e pressione e la frazione volumica di fase dispersa.

6.1 Influenza della concentrazione di CO sulle prestazioni del bioreattore

La prima analisi di sensibilità sul reattore è stata effettuata sulla variazione della quantità di CO in ingresso al bioreattore. Quest'ultima è stata raddoppiata rispetto al caso base, per valutare la capacità del modello di riprodurre l'aumento di produttività in termini di idrogeno e di PHB e la dipendenza di tali prodotti dalla concentrazione di monossido di carbonio in ingresso. Questo tipo di analisi, quindi, è basata su calcoli modellistici volti a confermare nuovamente il funzionamento del sistema riprodotto sul software. In figura 6.1 sono rappresentati i valori di concentrazione di CO, idrogeno e PHB alla fine della simulazione. La distribuzione delle concentrazioni è in accordo con quanto affermato per il caso base, si può notare inoltre come l'aumento proporzionale del PHB sia paragonabile a quello dell'idrogeno e come la quantità di monossido di carbonio non reagita sia maggiore.

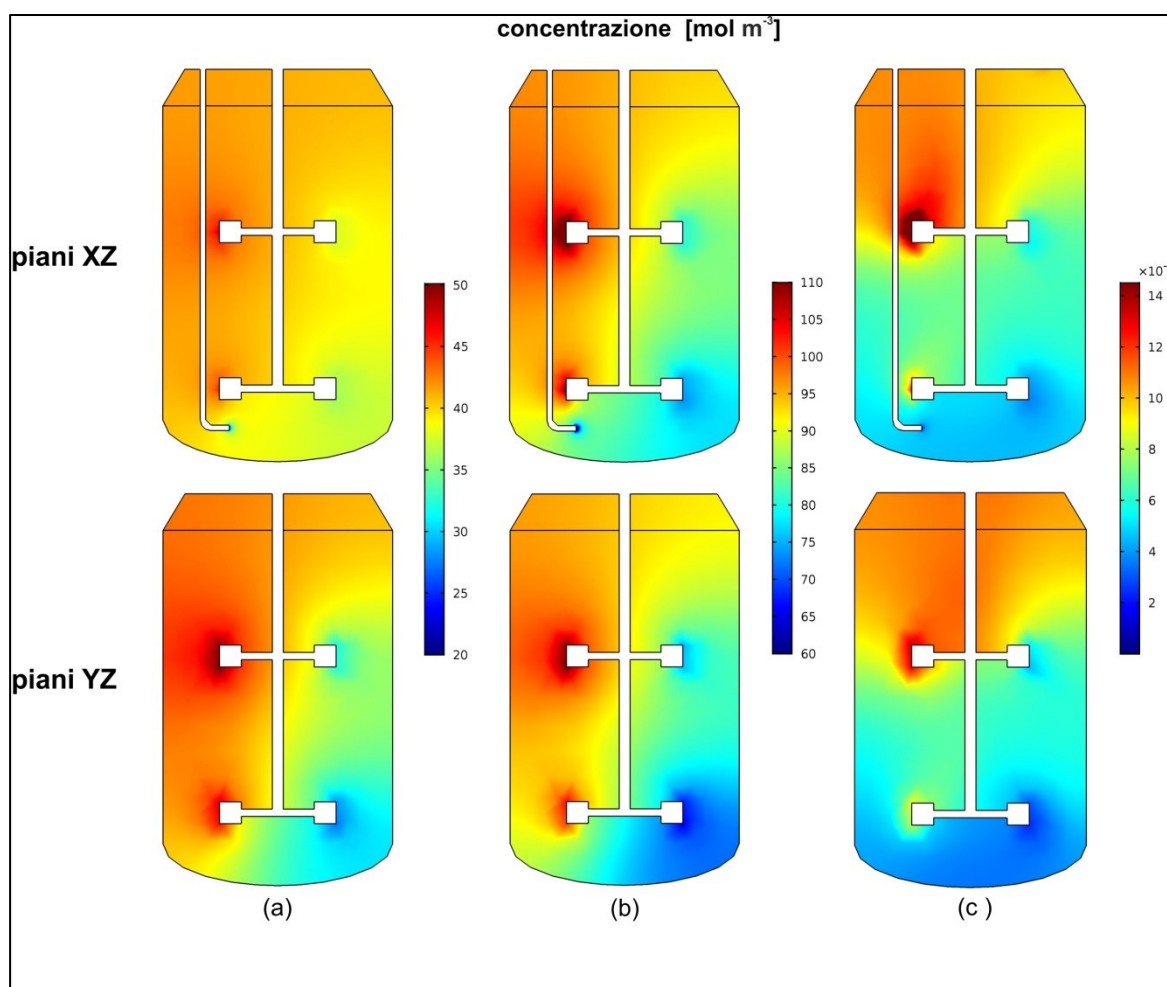


Figura 6.1. Risultati della variazione di CO in ingresso sulle concentrazioni dei prodotti allo stazionario nel caso di CO (a), H₂ (b) e PHB (c). Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

6.2 Sistema di flussaggio

La fluidodinamica dei reattori di tipo colonne a bolle è influenzata da numerosi fattori. Un parametro che consente di valutarne l'efficienza è l'hold-up di gas, rappresentato dal rapporto tra il volume di fase gassosa e quello totale del reattore. Studi effettuati su diversi sistemi geometrici hanno evidenziato come questo parametro diminuisca aumentando l'altezza della colonna e incrementando il rapporto altezza/diametro (Rollbusch *et al.*, 2015). Dal punto di vista delle proprietà fisiche, è stata riscontrata una forte influenza della densità del gas sull'aumento dell' hold-up. La viscosità del liquido, invece, influenza la dimensione e il numero delle bolle: una bassa viscosità porta alla formazione di numerose bolle di piccolo diametro; una alta, viceversa, destabilizza il regime di flusso omogeneo creando bolle più grandi (Besagni *et al.*, 2017). La presenza di componenti all'interno come sonde, strumenti per il riscaldamento/ raffreddamento e altre apparecchiature analitiche porta a variazioni delle condizioni di flusso multifase (Besagni and Inzoli, 2016). Risulta difficile comparare reattori simili tra loro ma con diverso sistema di flussaggio perché quest'ultimo influenza notevolmente la dispersione della fase gassosa (Rollbusch *et al.*, 2015). Gli sparger presenti in commercio sono generalmente classificati in due gruppi: plate-sparger e pipe-sparger (Kulkarni, Badgandi and Joshi, 2009). Generalmente la scelta fra i due tipi dipende dal diametro del reattore utilizzato. Esistono numerose configurazioni possibili che vengono adoperate industrialmente: ad anello singolo, ad anelli multipli, a ragno. Quest'ultimo tipo è caratterizzato da un condotto centrale che si dirama in più condotti periferici dotati di fori (Kulkarni, Badgandi and Joshi, 2009). Dal punto di vista delle prestazioni, uno sparger poroso consente una distribuzione di fase dispersa più elevata consentendo un aumento dell'hold-up di gas (Chakraborty, Guha and Banerjee, 2009). Per migliorare le variabili fluidodinamiche all'interno del bioreattore, si è deciso pertanto di modificare lo sparger adottando due diverse configurazioni: una di tipo semicircolare e una di tipo poroso. Le caratteristiche degli sparger adoperati sono disponibili in tabella 6.1. Le due simulazioni sono state effettuate mantenendo costanti la portata e la velocità della girante, secondo le condizioni impostate nel caso base. Sono state poi plottate le variabili già prese in considerazione nella simulazione del comportamento sperimentale, tralasciando le condizioni iniziali, identiche per tutti i sistemi. I valori ottenuti sono stati confrontati con il caso del sistema base per evidenziare i punti di forza e i limiti delle diverse tipologie di distributori di flusso.

Tabella 6.1. Caratteristiche delle diverse tipologie di sparger adoperati

	Diametro	Porosità
Tubolare	1 [mm]	-
Semicircolare	13x0.5 [mm]	-
Poroso	15 [μ m]	0.8

6.2.1 Sparger semicircolare

La figura 6.2 mostra la tipologia di sparger “semicircolare” che è stata utilizzata per l’analisi di sensibilità. Esso è costituito da un condotto cilindrico raccordato in basso con metà di un toroide. L’alimentazione gassosa fuoriesce attraverso 13 fori realizzati nella parte curva del distributore di flusso.

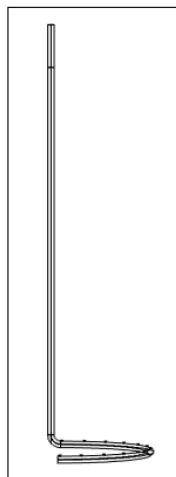


Figura 6.2. Rappresentazione dello sparger semicircolare. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

In figura 6.3 è diagrammato l’andamento nel tempo della velocità media della miscela in un intervallo che evidenzia il raggiungimento dello stazionario. La variabile aumenta repentinamente dal valore nullo iniziale fino ad arrivare a regime in un tempo comparabile con quello del caso base. Confrontando il grafico con quello in figura 5.1, infatti, si nota come il transitorio abbia una durata molto simile e come il valore di velocità finale raggiunto sia pressoché uguale a quello del caso con sparger tubolare. Ciò si spiega con il fatto che la velocità del sistema è regolata dalla rotazione della girante piuttosto che dal syngas in ingresso.

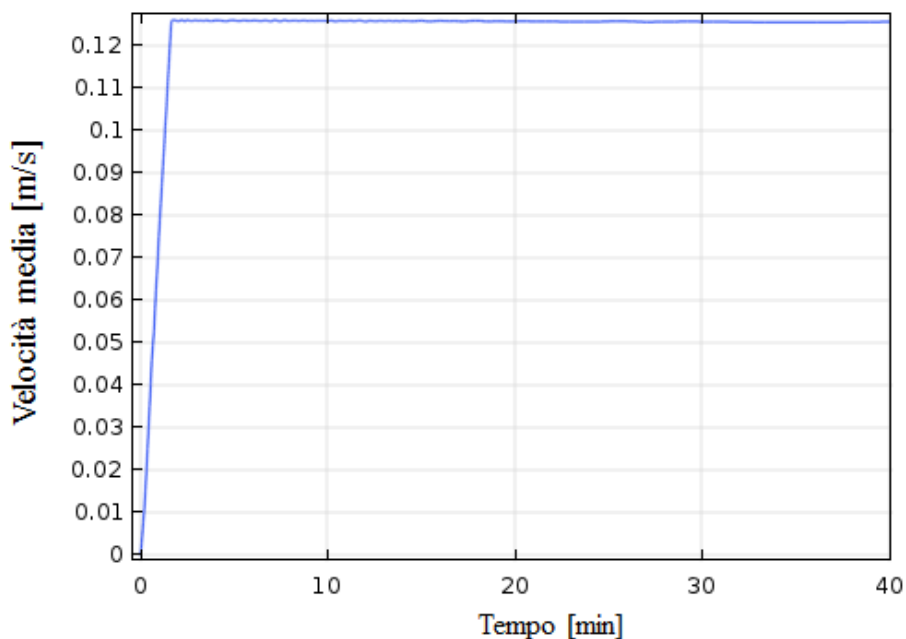


Figura 6.3 : Andamento della velocità media nel caso con sparger semicircolare. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

In figura 6.4 è rappresentato il campo di velocità del fluido su 5 piani yz , durante il transitorio (a) e alla fine della simulazione (b). La media dei valori è coerente con quanto presentato in figura 6.2 con picchi in prossimità della girante, analogamente al caso del sistema base. Il grafico a regime evidenzia come la distribuzione della variabile sia meno omogenea in confronto al caso intermedio. Si può notare infatti come i valori tendano a incrementare procedendo verso il fondo del bioreattore. La figura 6.5, presentando i valori allo stazionario, su due piani yz (a) e xz (b), mostra come la discontinuità nella zona della palettatura sia minore rispetto alla configurazione con sparger tubolare e i picchi della variabile siano comunque inferiori. Il trend conferma invece come sulla parete più lontana dall'alimentazione del syngas la velocità raggiunga valori maggiori.

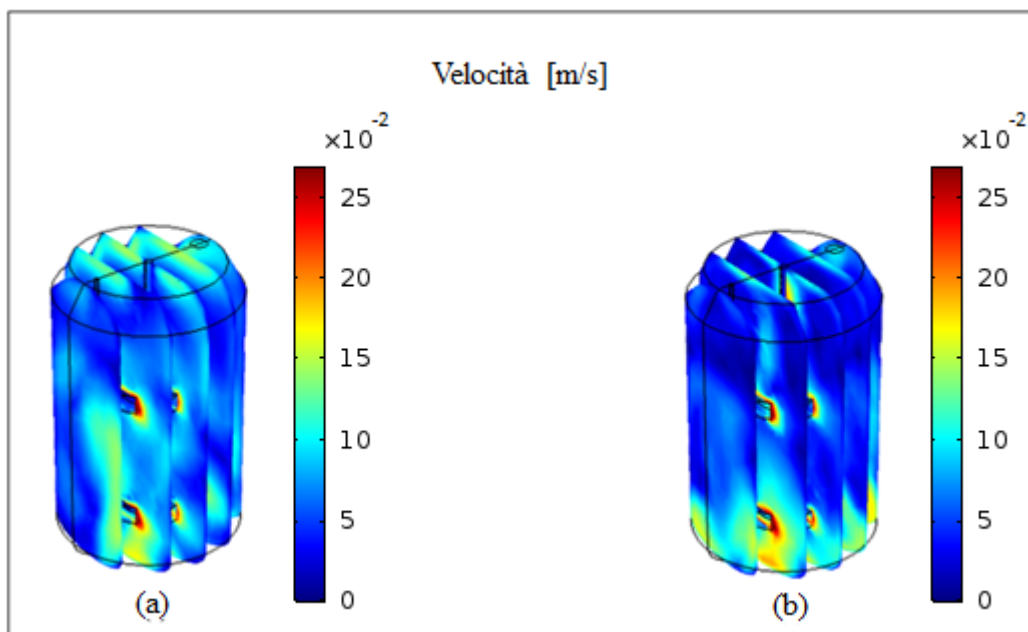


Figura 6.4 : Andamento della velocità del fluido su 5 piani yz a diversi istanti temporali: transitorio (a) e fine della simulazione (b). Caso con sparger semicircolare. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

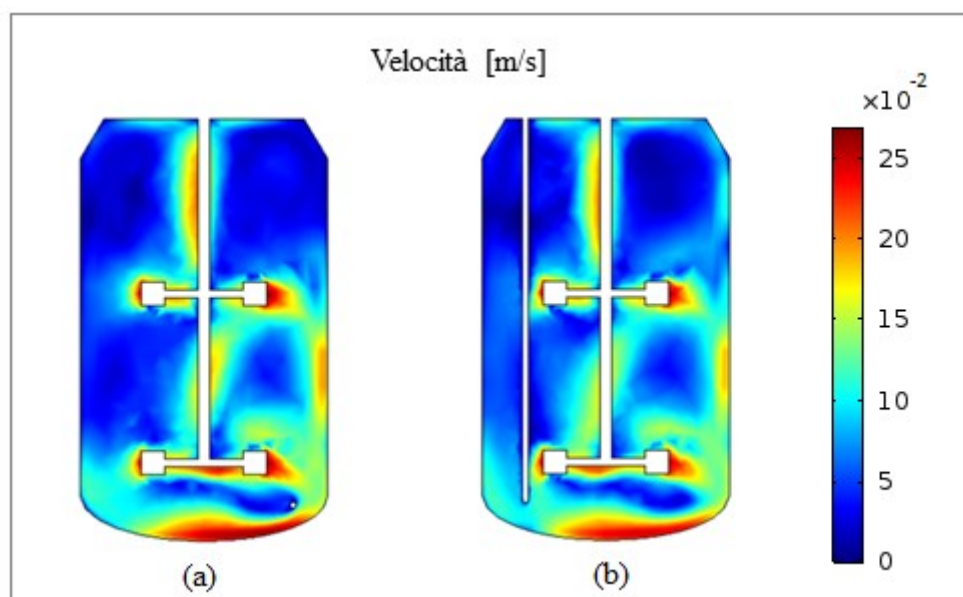


Figura 6.5 : Andamento della velocità alla fine della simulazione su un piano yz (a) e su un piano xz (b) nel caso di sparger semicircolare. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

L'andamento della frazione volumica di fase dispersa, presentato in figura 6.6 e 6.7, è in accordo con quanto osservato nel caso precedente. Si assiste infatti ad un aumento nel tempo di bolle di gas disponibili per essere assorbite nel liquido, passando dal transitorio fino alla condizione di regime. La distribuzione presenta un andamento più omogeneo nella zona del vessel in cui è presente la fase liquida rispetto al caso tubolare, e la quantità di gas dispersa è maggiore.

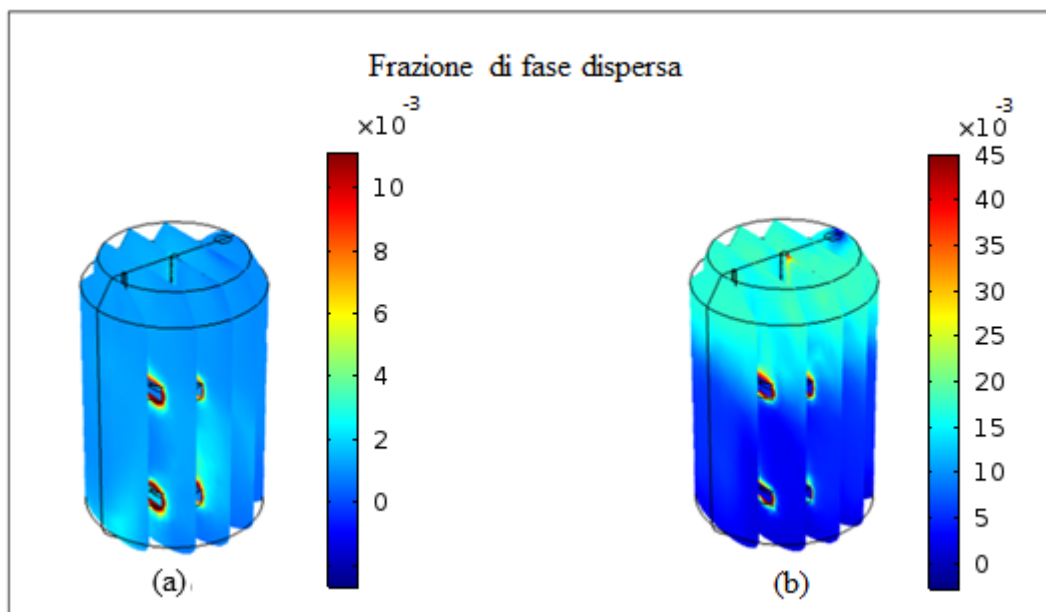


Figura 6.6 : Andamento della frazione volumica di fase dispersa su 5 piani yz a diversi istanti temporali: transitorio (a) e fine della simulazione (b). Caso con sparger semicircolare. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

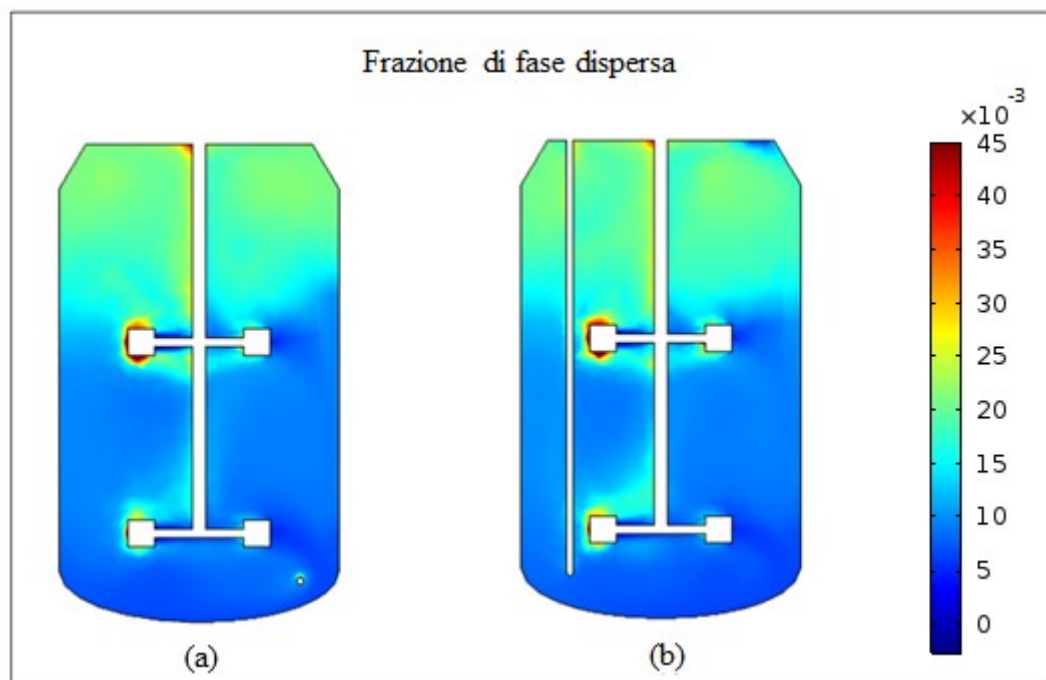


Figura 6.7 : Andamento della frazione volumica di fase dispersa alla fine della simulazione su un piano yz (a) e su un piano xz (b) nel caso di sparger semicircolare. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

In figura 6.8 e 6.9 è rappresentato l'andamento della pressione del sistema. Non si evidenziano in questo caso diversità rispetto al sistema base: i valori sono pressoché identici a quelli della simulazione con sparger tubolare e in leggero decremento nel tempo. Viene confermato anche il trend dell'aumento di pressione al diminuire della coordinata zeta.

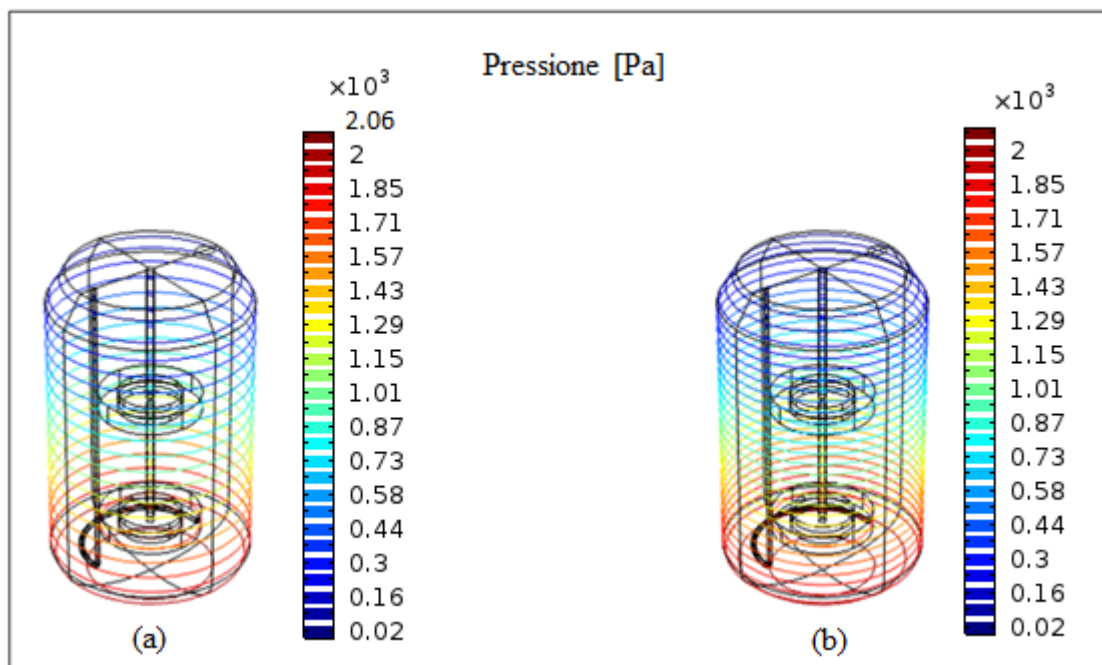


Figura 6.8 : Andamento della pressione relativa all'inizio (a) e alla fine della simulazione (b) nel caso di sparger semicircolare . Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

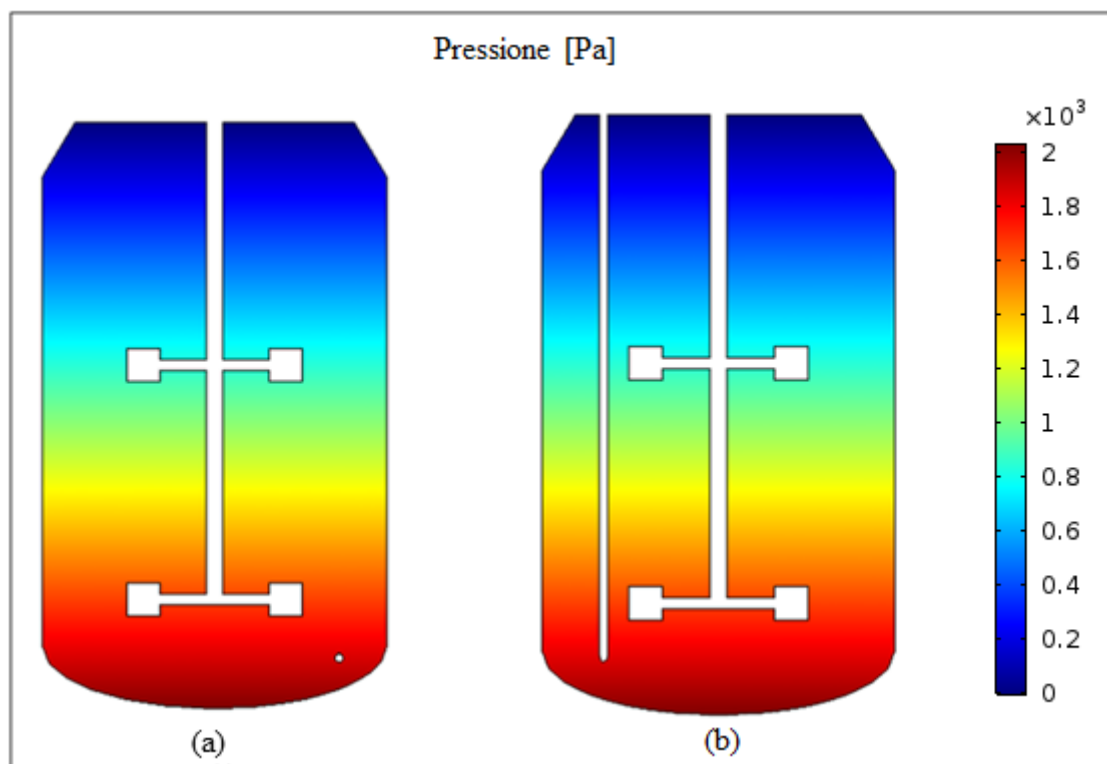


Figura 6.9 : Andamento della pressione alla fine della simulazione su un piano yz (a) e su un piano xz (b) nel caso di sparger semicircolare . Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

6.2.2 Sparger poroso

La figura 6.10 mostra la tipologia di sparger poroso che è stata utilizzata per l'analisi di sensibilità. Esso è costituito da un condotto cilindrico dotato di un tappo poroso per la formazione del microbubbling. L'alimentazione gassosa fuoriesce attraverso di esso creando bolle di dimensioni micrometriche.

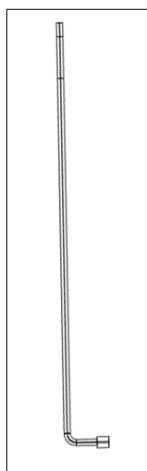


Figura 6.10. Rappresentazione dello sparger poroso. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

In figura 6.11 è rappresentata la variazione della velocità media della miscela nel tempo, in un intervallo di 40 min. Il transitorio della variabile è molto breve e lo stazionario viene raggiunto in 2 min di simulazione. L'andamento della variabile è molto simile a quello del caso con sparger tubolare; anche il valore di 0.12 [m/s] raggiunto a regime è in linea con quello ottenuto nel sistema base.

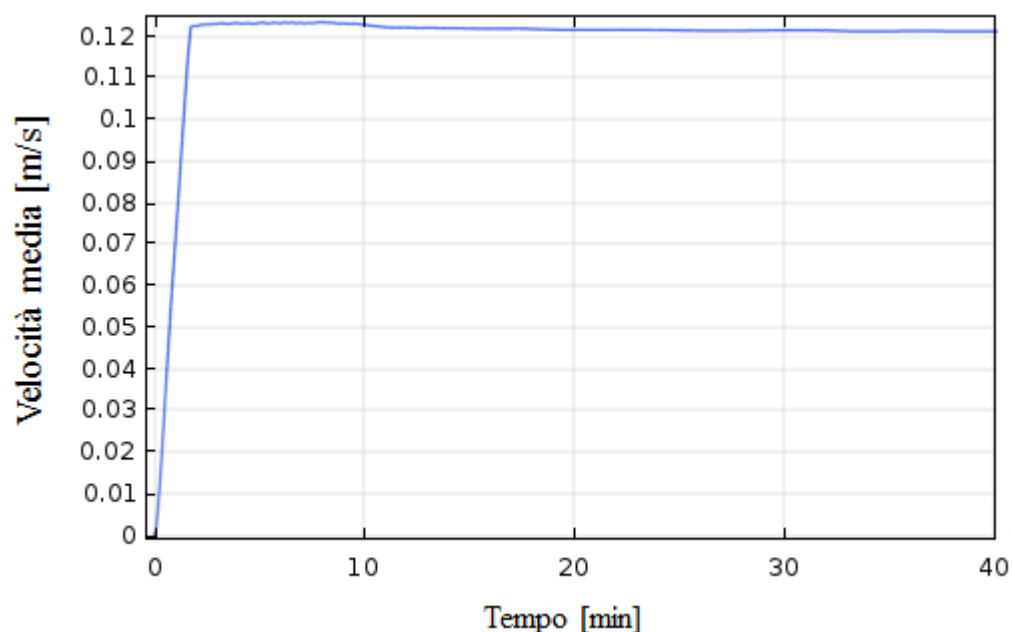


Figura 6.11 : Andamento della velocità media del fluido in funzione del tempo nell'intervallo che evidenzia il transitorio e il raggiungimento dello stazionario. Caso con sparger poroso. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

Le figure 6.12 e 6.13 relative alla velocità della miscela non evidenziano sostanziali variazioni rispetto al caso base. Valgono pertanto le stesse considerazioni fatte in precedenza. Anche i valori ottenuti sono molto simili, come mostrato in figura 6.11.

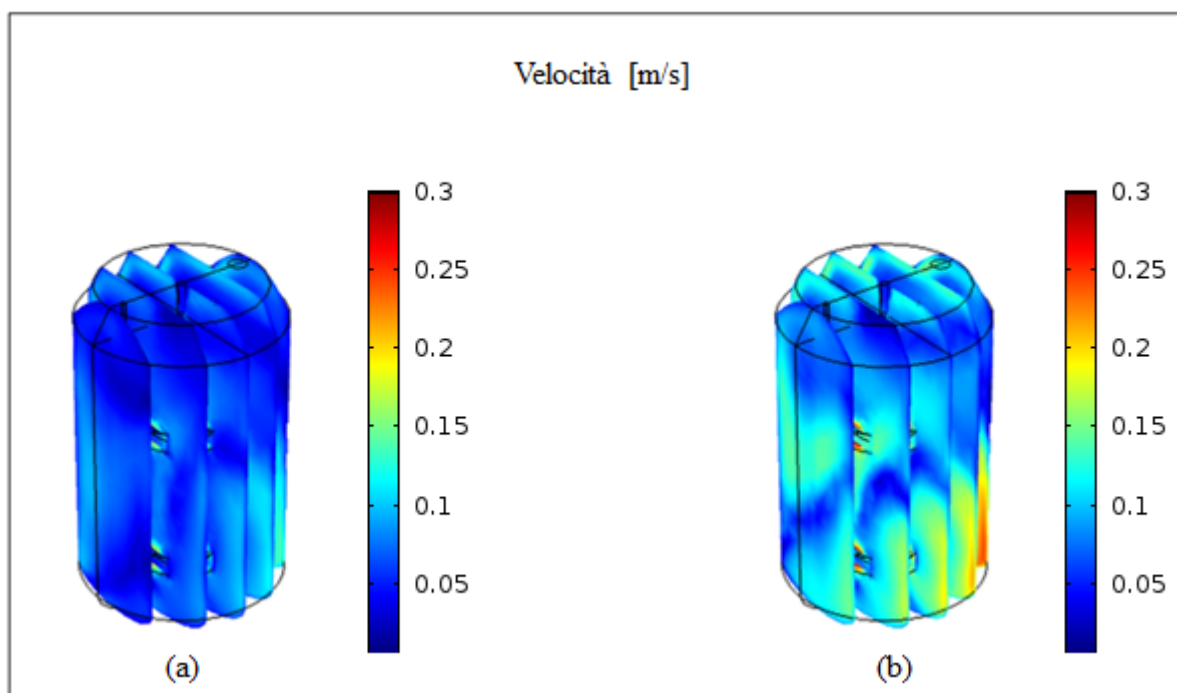


Figura 6.12: Andamento della velocità del fluido su 5 piani yz a diversi istanti temporali: transitorio (a) e fine della simulazione (b). Caso con sparger poroso. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

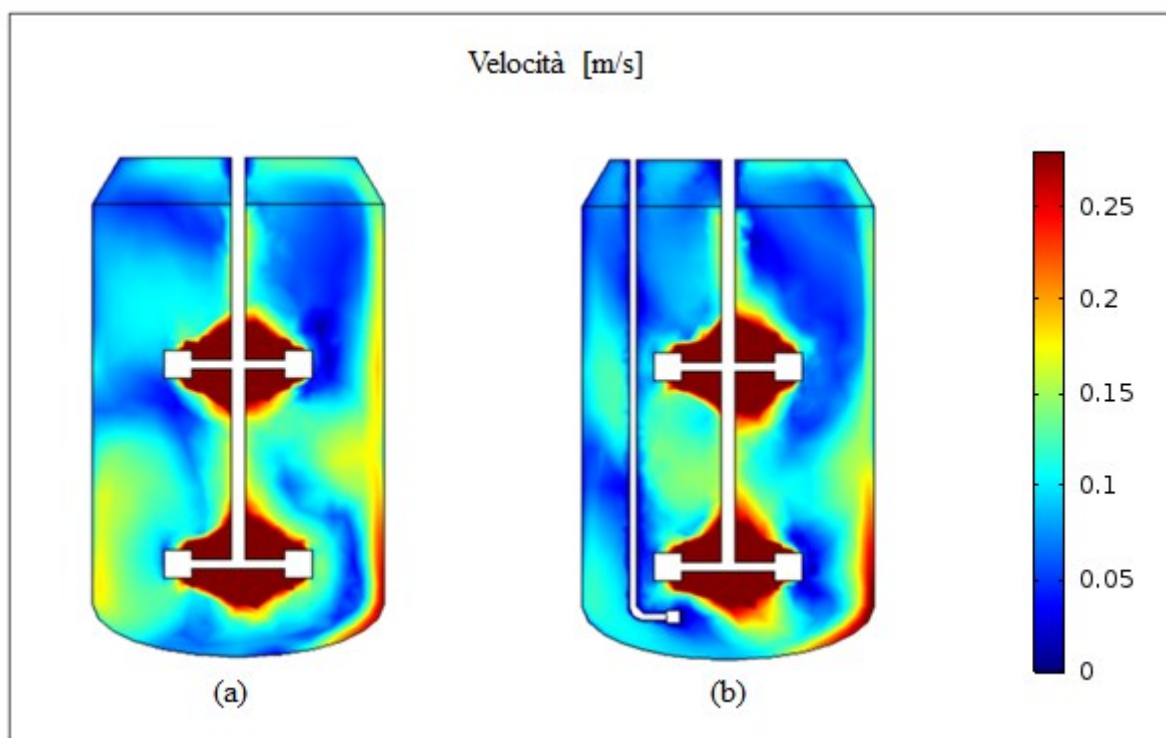


Figura 6.13 : Andamento della velocità alla fine della simulazione su un piano yz (a) e su un piano xz (b) nel caso di sparger poroso. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

Le figure 6.14 e 6.15, che fanno riferimento alla frazione di fase dispersa, rendono evidente come essa aumenti, a regime, sia rispetto al caso di sparger tubolare sia rispetto al caso con quello semicircolare. Tale aumento è però accompagnato da poca omogeneità, soprattutto nelle zone attorno alle palettature e alle pareti dello sparger ma da una maggiore distribuzione nel liquido.

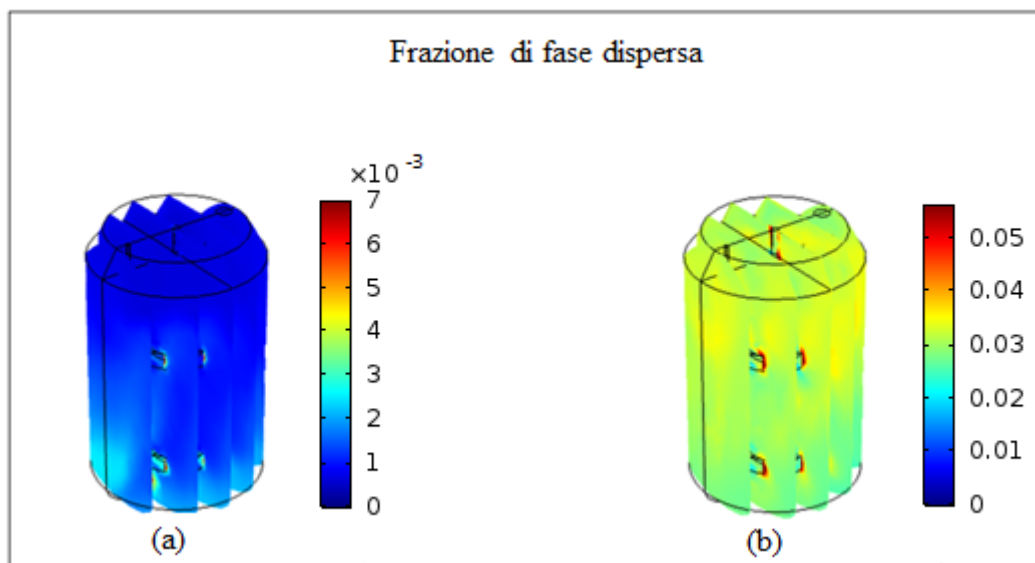


Figura 6.14 : Andamento della frazione volumica di fase dispersa su 5 piani yz a diversi istanti temporali: transitorio (a) e fine della simulazione (b). Caso con sparger poroso. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

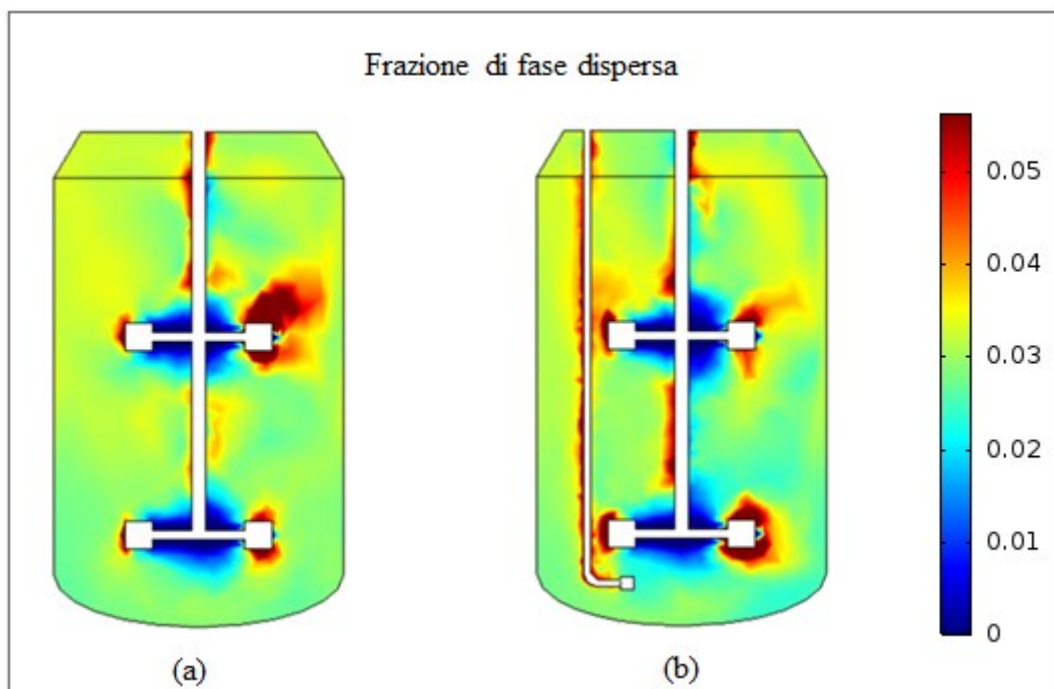


Figura 6.15 : Andamento della frazione volumica di fase dispersa alla fine della simulazione su un piano yz (a) e su un piano xz (b) nel caso di sparger poroso. Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

Le figura 6.16 e 6.17 mostrano l'andamento della pressione del sistema. Anche in questo caso essa diminuisce con l'aumentare del tempo di simulazione. E' possibile notare però come il valore iniziale sia inferiore rispetto a entrambi i casi precedentemente studiati. Ciò si spiega con la configurazione porosa dello sparger: la presenza di numerosi fori di piccole dimensioni, infatti, porta a un aumento delle perdite di carico in fase di alimentazione rispetto agli altri sistemi geometrici analizzati. In realtà, considerando tutte le variabile fluidodinamiche plottate, si può sottolineare come lo svantaggio di una leggera diminuzione di pressione sia ampiamente compensato da un aumento nella concentrazione di fase dispersa disponibile per l'assorbimento nel liquido.

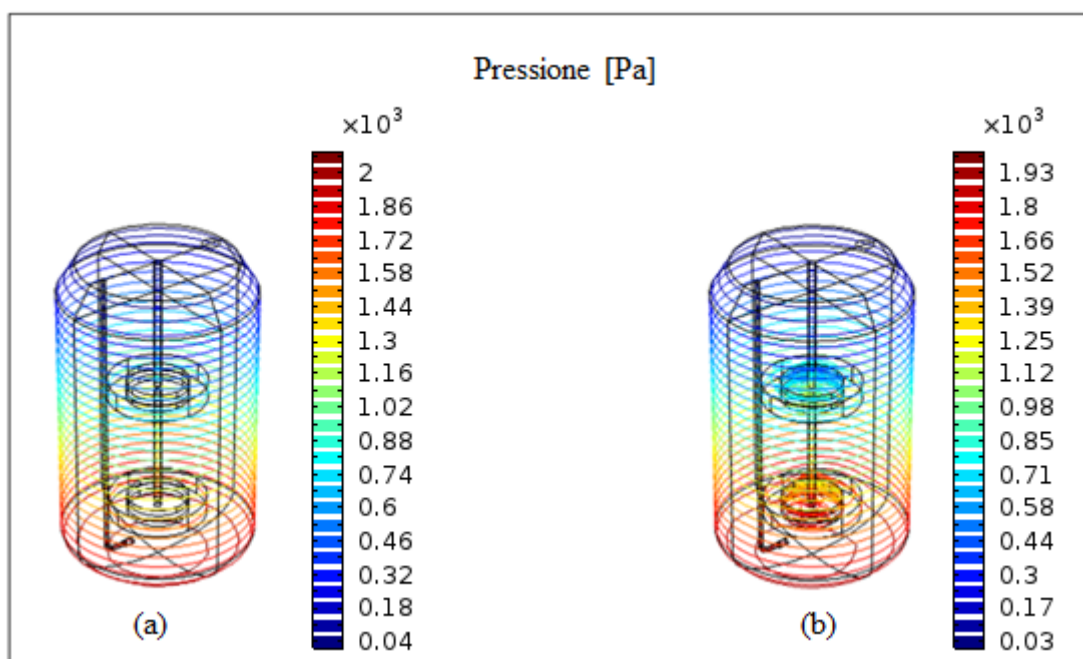


Figura 6.16 : Andamento della pressione relativa all'inizio (a) e alla fine della simulazione (b) nel caso di sparger poroso . Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

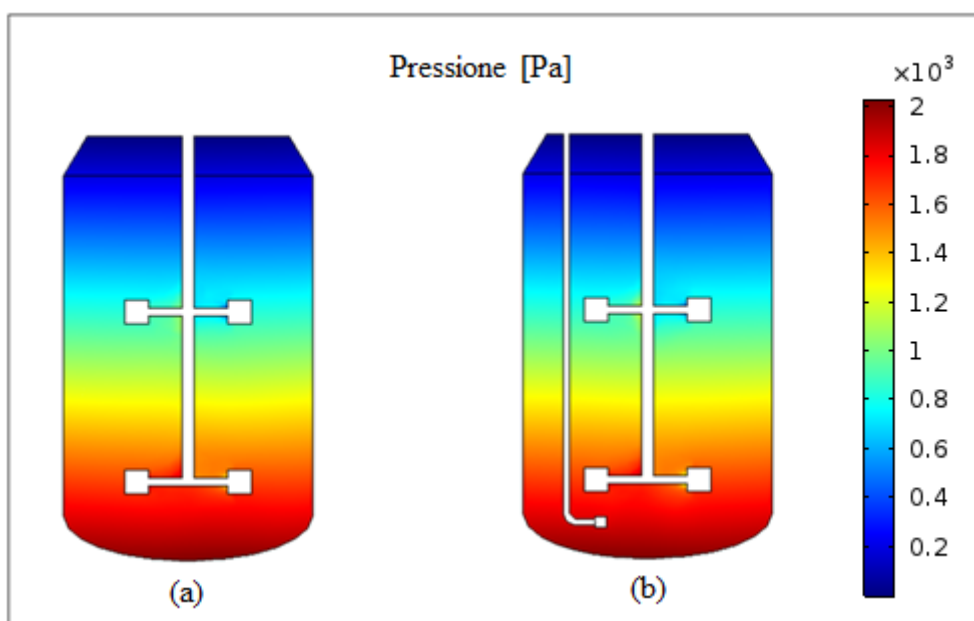


Figura 6.17 : Andamento della pressione alla fine della simulazione su un piano yz (a) e su un piano xz (b) nel caso di sparger poroso . Immagine proveniente da COMSOL Multiphysics®.

Confrontando i tre sistemi, non si notano sostanziali variazioni di velocità: il valore raggiunto a regime è molto simile per ciascuna delle configurazioni adoperate. Anche l'andamento della pressione è lo stesso, con un trend in leggera diminuzione dall'inizio alla fine della simulazione. Lo sparger poroso presenta perdite di carico leggermente maggiori rispetto agli altri, dovute alla costruzione geometrica del tappo che genera le bolle di dimensioni micrometriche.

Analizzando, invece, la fase dispersa si possono notare delle differenze tra i vari sistemi. I parametri presi in considerazione per valutare le prestazioni degli sparger sono: la quantità di fase gassosa che riescono a spargere nel liquido, l'omogeneità di tale fase e la distribuzione di essa all'interno del vessel. Nella configurazione con sparger semicircolare la frazione gassosa nel volume di liquido è maggiore rispetto al caso base e la sua distribuzione risulta particolarmente omogenea. Lo sparger poroso, invece, riesce a disperdere una maggiore quantità di gas in tutto il volume del reattore e a distribuirla in più zone del vessel, rispetto alle altre due configurazioni. L'omogeneità, però, risulta minore anche a causa di picchi di trascinamento nella zona della palettatura. Data l'importanza della quantità di fase dispersa presente e della più ampia distribuzione possibile, risulta evidente come il miglior sistema di flussaggio tra quelli studiati sia costituito dallo sparger poroso.

7. Conclusioni

I poliidrossialcanoati costituiscono un prodotto particolarmente vantaggioso per molteplici motivi. Queste bioplastiche sono ,infatti, in grado di sostituire diversi polimeri tradizionali derivati dal petrolio senza creare problemi ambientali legati allo smaltimento, grazie alle loro proprietà di biocompatibilità e biodegradabilità. La produzione basata sullo sfruttamento di syngas permette inoltre di ottenere composti ad alto valore aggiunto partendo da materie prime di scarto (gassificazione dei rifiuti organici) e/o utilizzando direttamente la CO_2 disponibile da altri processi industriali, previa conversione di una parte di essa a monossido di carbonio. Presenta, pertanto, il vantaggio di non essere legata all'utilizzo di substrati carboniosi provenienti da colture alimentari ,che attualmente influenzano il prezzo dei PHA per il 50%, e consente il reimpiego di sottoprodotti indesiderati.

Il *Rhodospirillum rubrum* è un microrganismo capace di utilizzare una miscela di CO , H_2 e CO_2 in condizioni anaerobiche, come fonte di carbonio ed energia per crescere, sia in presenza che in assenza di luce . Sfruttando anche nutrienti organici come l'acetato, esso riesce a sintetizzare e accumulare ,nel citoplasma delle cellule batteriche, PHA nella forma di poli(3-idrossibutirrato) (PHB). Il batterio, inoltre, è in grado di effettuare una reazione di *Water Gas Shift* biologica che porta alla formazione di idrogeno e anidride carbonica a partire da monossido di carbonio e acqua.

La modellazione di sistemi bioreattoristici, tramite l'utilizzo di software appositi, costituisce una valida base di partenza per comprenderne a pieno il funzionamento sperimentale, spesso caratterizzato da elevata complessità. Sovente, la presenza di microrganismi con numerose vie metaboliche, sensibili specialmente a fattori ambientali e alla variazione delle condizioni operative, rende difficile ottenere risultati immediati da attività di laboratorio. Pertanto risulta particolarmente utile riprodurre virtualmente il sistema da studiare, creando un modello sul quale operare analisi di sensibilità per il miglioramento dei parametri desiderati.

In questa tesi di laurea è stato costruito, attraverso il software COMSOL Multiphysics®, un modello in grado di rappresentare il comportamento sperimentale di un bioreattore che utilizza colture di *R. rubrum* per la conversione di syngas in PHB, tramite l'utilizzo di dati di letteratura. La validazione di tale modello ha dimostrato la compatibilità dei risultati ottenuti dalla simulazione con il sistema reale e ha permesso di valutare l'andamento delle principali variabili fluidodinamiche e delle concentrazioni dei prodotti. Tutti i dati ottenuti sono in linea con le aspettative e con quanto presentato nell'articolo.

Una prima analisi di sensibilità è stata effettuata raddoppiando la concentrazione di CO nel syngas in ingresso al reattore, per ottenere un ulteriore conferma sul funzionamento modellistico. Le concentrazioni di idrogeno e di PHB alla fine della simulazione sono risultate essere maggiori, in accordo con le aspettative, così come la quantità di monossido di carbonio non reagito. In generale, la distribuzione dei componenti nel volume di liquido è risultata essere simile al caso base con un incremento proporzionale di concentrazione simile per il PHB e l'idrogeno.

Ulteriori analisi di sensibilità sono state effettuate adottando due ulteriori configurazioni di sparger: esse hanno confermato i risultati presenti in letteratura circa l'influenza del distributore di flusso su variabili fluidodinamiche come la frazione di fase dispersa nel volume di liquido. Confrontando i tre sistemi, si nota come la velocità a regime sia pressoché identica in ciascuno di essi: ciò si spiega con il fatto che, per il tipo di bioreattore modellato, l'effetto principale sulla variabile è dato dalla velocità di rotazione della girante, che è stata mantenuta costante, e non da quella del syngas in ingresso. Anche l'andamento della pressione è molto simile in ciascuna delle configurazioni studiate: si riscontrano perdite di carico leggermente maggiori nel sistema con sparger poroso; ciò è dovuto alla particolare conformazione del tappo utilizzato per la formazione del microbubbling. Analizzando, invece, la fase dispersa si possono notare delle differenze tra i vari sistemi. Nella configurazione con sparger

semicircolare la frazione gassosa nel volume di liquido è maggiore rispetto al caso base e la sua distribuzione risulta particolarmente omogenea. Lo sparger poroso, invece, riesce a disperdere una maggiore quantità di gas in tutto il volume del reattore e a distribuirla in più zone del vessel, rispetto alle altre due configurazioni. L'omogeneità, però, risulta minore anche a causa di picchi di trascinamento nella zona della palettatura. Data l'importanza della quantità di fase dispersa presente e della più ampia distribuzione possibile, risulta evidente come il miglior sistema di flussaggio tra quelli studiati sia costituito dallo sparger poroso.

Il processo modellato e analizzato in questi tesi di laurea si inquadra in un ambito biotecnologico innovativo e in forte espansione che si presta ancora a molteplici sviluppi e miglioramenti. Ricercatori che operano nel campo della produzione di PHB a partire da syngas hanno individuato uno dei principali problemi di questo genere di sistemi nella bassa solubilità del CO nel liquido di coltura (Do *et al.*, 2006). Questo inconveniente può essere risolto ricorrendo a reattori pressurizzati per favorire l'assorbimento del gas, secondo la legge di Henry. Inoltre, un eventuale flash post-processo può essere particolarmente utile per ottenere la lisi cellulare e favorire l'azione dei solventi nell'estrazione della bioplastica. Altre migliorie possono essere apportate cambiando la geometria dell'organo rotante. Alcuni ricercatori hanno notato un incremento del coefficiente di trasferimento di massa utilizzando una versione modificata delle palette Rushton (Ungerma and Heindel, 2007). Ulteriori soluzioni consistono nella scelta di una diversa configurazione geometrica dei reattori: Munasinghe e Khanal hanno proposto un reattore ARL con uno sparger microporoso a forma di bulbo, ottenendo un'elevata solubilità di monossido di carbonio (Munasinghe and Khanal, 2010).

Data la versatilità del *R. rubrum*, esso può essere utilizzato anche per ottenere altri prodotti. Se, ad esempio, si vuole incrementare la produzione di idrogeno, piuttosto che quella di PHB, è possibile lavorare regolando l'intensità luminosa come è stato dimostrato da Najafpour e Younesi (Najafpour and Younesi, 2007).

8. Lista simboli

ARL: Reattore Airlift.

BCR: Reattore con colonna a bolle.

bio-PE: Bio-polietilene.

bio-PET: Bio-polietilentereftalato.

bio-PP: Bio-polipropilene.

bio-PUR: Bio-poliuretano reticolato.

c_d : Frazione massica della fase dispersa.

C : concentrazione totale, mol/m³.

C_i : Concentrazione della specie i -esima, mol/m³.

$\widehat{c_p}$: Calore specifico a pressione costante, J/(kg·K).

$C_{\varepsilon 1}$: Parametro di turbolenza.

$C_{\varepsilon 2}$: Parametro di turbolenza.

C_{μ} : Parametro di turbolenza.

CBB: Ciclo Calvin-Benson-Bassgam.

CODH: Enzima CO-deidrogenasi.

CDW: Peso secco cellulare, g/l.

CSTR: Reattore continuo perfettamente miscelato.

D : Tensore degli sforzi.

D_{gm} : Tensore degli sforzi viscosi e turbolenti.

D_i : Coefficiente di diffusività della specie i -esima, m²/s.

D_{md} : Coefficiente di dispersione turbolenta, m²/s.

DCO: Concentrazione di CO disciolto, mol/m³.

\hat{E} : Energia massica, J/kg.

FCM: Citometria a fluorescenza.

g : Modulo vettore accelerazione gravitazionale, m/s².

\mathbf{g} : Vettore accelerazione gravitazionale, m/s².

\hat{H} : Entalpia massica, J/kg

H_i : Costante di Henry della specie i -esima, mol/(m³·Pa).

I : Matrice identità.

\mathbf{j}_i : Flusso diffusivo molare della specie i -esima, mol/(m²·s).

k : Coefficiente di conducibilità termica, W/(m·K).

k : Energia cinetica turbolenta, m²/s².

$k1$: velocità reazione di Water Gas Shift.

$k2$: Velocità reazione crescita biomassa.

\hat{K} : Energia cinetica massica, J/kg.
 K_M : Costante della legge di Monod, mol/m³.
 Kn : Numero di Knudsen
 m_{dc} : Termine di trasferimento di materia da fase dispersa a fase continua, kg/(m³ · s).
 MBR: Reattore a membrana.
 MEA: Monoetanolammina.
 \mathbf{n} : Vettore normale.
 \mathbf{N}_i : Flusso molare totale della specie i -esima, mol/(m² · s).
 \mathbf{N}_{ϕ_d} : Flusso della fase dispersa, m/s.
 OD₆₀₀: Densità ottica a 600 nm.
 p : Pressione, Pa.
 p_i : Pressione parziale della specie i -esima, Pa.
 P_k : Produzione dell'energia cinetica turbolenta, Pa/s.
 PBAT: Polibutirrato-adipato-tereftalato.
 PBR: Reattore a letto impaccato.
 PBS: Polibutylene succinato.
 PHA: Poli-idrossialcanoati.
 PHB/P(3HB): Poli-β-idrossibutirrato.
 P(3HV): Poli-idrossivalerato.
 P(3HHx): Poli-idrossiesanoato.
 PLA: Acido polilattico.
 PVC: Cloruro di polivinile.
 \mathbf{j}_q : Flusso conduttivo, W/m².
 Q : Termine di generazione di calore dovuto alle reazioni chimiche, W/m³.
 R_i : Velocità di reazione della specie i -esima, mol/(m³ · s).
 Re : Numero di Reynolds
 S : Concentrazione del substrato, mol/m³.
 t : Tempo, s.
 T : Temperatura, K.
 TCC: Numero totale di cellule.
 \mathbf{u} : Vettore velocità, m/s.
 \mathbf{u}_c : Vettore velocità della fase continua, m/s.
 \mathbf{u}_d : Vettore velocità della fase dispersa, m/s.
 \mathbf{u}_{slip} : Vettore velocità relativa tra le due fasi dispersa e continua, m/s.
 \hat{U} : Energia interna massica, J/kg.

\hat{V} : Volume massico, m^3/kg

z : Coordinata cartesiana verticale, m.

α_p : Coefficiente di espansione termica, K^{-1} .

γ : Rapporto tra i calori specifici a pressione e a volume costante.

ΔE_a : Energia di attivazione, J/mol .

ε : Velocità di dissipazione turbolenta, m^2/s^3 .

μ : Tasso di crescita batterico specifico, h^{-1} .

μ : Viscosità dinamica, Pa s .

μ_{\max} : Tasso di crescita batterico specifico massimo, h^{-1} .

μ_T : Viscosità dinamica turbolenta, Pa s .

ρ : Densità volumica, kg/m^3 .

ρ_c : Densità volumica della fase continua, kg/m^3 .

ρ_d : Densità volumica della fase dispersa, kg/m^3 .

σ_ε : Parametro di turbolenza.

σ_k : Parametro di turbolenza.

φ_c : Frazione volumica della fase continua.

φ_d : Frazione volumica della fase dispersa.

9. Bibliografia

- Anderson, T. R., Hawkins, E. and Jones, P. D. (2016) 'CO₂, the greenhouse effect and global warming: from the pioneering work of Arrhenius and Callendar to today's Earth System Models', *Endeavour*. The Authors, 40(3), pp. 178–187. doi: 10.1016/j.endeavour.2016.07.002.
- Arakawa, H. (1998) 'Research and development on new synthetic routes for basic chemicals by catalytic hydrogenation of CO₂', *Advances in Chemical Conversions for Mitigating Carbon Dioxide*, 114, pp. 19–30. doi: 10.1016/S0167-2991(98)80723-4.
- Aresta, M. and Dibenedetto, A. (2007) 'Utilisation of CO₂ as a chemical feedstock: opportunities and challenges', pp. 2975–2992. doi: 10.1039/b700658f.
- Besagni, G. and Inzoli, F. (2016) 'Influence of internals on counter-current bubble column hydrodynamics: Holdup, flow regime transition and local flow properties', *Chemical Engineering Science*. Elsevier, 145, pp. 162–180. doi: 10.1016/j.ces.2016.02.019.
- Besagni, G. *et al.* (2017) 'The dual effect of viscosity on bubble column hydrodynamics', *Chemical Engineering Science*. Elsevier, 158(June 2016), pp. 509–538. doi: 10.1016/j.ces.2016.11.003.
- Bird R.B., Stewart W.E. and Lighfoot E.N., (2002), *Transport phenomena*, 2nd Edition, Wiley, New York
- Chakraborty, D., Guha, M. and Banerjee, P. K. (2009) 'CFD Simulation on influence of superficial gas velocity, column size, sparger arrangement, and taper angle on hydrodynamics of the column flotation cell', *Chemical Engineering Communications*, 196(9), pp. 1102–1116. doi: 10.1080/00986440902897376.
- Chemical reactors. (data). Recuperato da <http://www.essentialchemicalindustry.org/processes/chemical-reactors.html>
- Criddle, C. S., Billington, S. L. and Frank, C. W. (2014) 'Renewable Bioplastics and Biocomposites From Biogas Methane and Waste-Derived Feedstock: Development of Enabling Technology, Life Cycle Assessment, and Analysis of Costs', *California Department of Resources Recycling and Recovery*.
- Dietrich, K. *et al.* (2017) 'Producing PHAs in the bioeconomy — Towards a sustainable bioplastic', *Sustainable Production and Consumption*. Elsevier B.V., 9(August 2016), pp. 58–70. doi: 10.1016/j.spc.2016.09.001.
- DiGregorio, B. E. (2009) 'Biobased Performance Bioplastic: Mirel', *Chemistry and Biology*. Elsevier Ltd, 16(1), pp. 1–2. doi: 10.1016/j.chembiol.2009.01.001.
- Do Young S., Smeenk Jerod, Broer Karl M., Kisting Clint J., Brown Robert, Heindel Theodore J., Bobik Thomas A., DiSpirito Alan A. (2006) 'Growth of *Rhodospirillum rubrum* on Synthesis Gas: Conversion of CO to H₂ and Poly-*b*-hydroxyalkanoate', *Wiley InterScience, Biotechnology and Bioengineering*, 97(2). pp. 279-286. doi: 10.1002/bit.21226
- Doi, Y. (1995) 'Microbial synthesis, physical properties, and biodegradability of polyhydroxyalkanoates', *Macromolecular Symposia*, 98(1), pp. 585–599. doi: 10.1002/masy.19950980150.
- European Bioplastic. (2018, febbraio 23). Recuperato da <http://www.european-bioplastics.org/>
- Favier-Teodorescu, L., Cornet, J. F. and Dussap, C. G. (2003) 'Modelling continuous culture of *Rhodospirillum rubrum* in photobioreactor under light limited conditions', *Biotechnology Letters*, 25(4), pp. 359–364. doi: 10.1023/A:1022389029703.
- Ge, Y. and Zhi, Q. (2016) 'Literature review: The green economy, clean energy policy and employment', *Energy Procedia*. Elsevier B.V., 88, pp. 257–264. doi: 10.1016/j.egypro.2016.06.159.
- Ishizaki, A. and Tanaka, K. (1990) 'Batch culture of *Alcaligenes eutrophus* ATCC 17697 using recycled gas closed circuit culture system', *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 69(3), pp. 170–174. doi: 10.1016/0922-338X(90)90041-T.
- Jiang, G. *et al.* (2016) 'Carbon sources for polyhydroxyalkanoates and an integrated biorefinery', *International Journal of Molecular Sciences*, 17(7). doi: 10.3390/ijms17071157.
- Jin, H. and Nikolau, B. J. (2014) 'Evaluating PHA productivity of bioengineered *Rhodospirillum rubrum*', *PLoS*

ONE, 9(5). doi: 10.1371/journal.pone.0096621.

Karmann, S. *et al.* (2017) ‘Tailor-made PAT platform for safe syngas fermentations in batch , fed-batch and chemostat mode with *Rhodospirillum rubrum*’, 0. doi: 10.1111/1751-7915.12727.

Koller, M. *et al.* (2010) ‘Modern biotechnological polymer synthesis: A review’, *Food Technology and Biotechnology*, 48(3), pp. 255–269.

Kulkarni, A. V., Badgandi, S. V. and Joshi, J. B. (2009) ‘Design of ring and spider type spargers for bubble column reactor: Experimental measurements and CFD simulation of flow and weeping’, *Chemical Engineering Research and Design*, 87(12), pp. 1612–1630. doi: 10.1016/j.cherd.2009.06.003.

Latif, H. *et al.* (2014) ‘Trash to treasure: Production of biofuels and commodity chemicals via syngas fermenting microorganisms’, *Current Opinion in Biotechnology*. Elsevier Ltd, 27, pp. 79–87. doi: 10.1016/j.copbio.2013.12.001.

Mandenius, C.-F. (2016) ‘Challenges for Bioreactor Design and Operation’, *Bioreactors: Design, operation and novel applications*, pp. 1–34. doi: 10.1002/9783527683369.ch1.

Mozumder, M. S. I. *et al.* (2014) ‘A robust fed-batch feeding strategy independent of the carbon source for optimal polyhydroxybutyrate production’, *Process Biochemistry*. Elsevier Ltd, 49(3), pp. 365–373. doi: 10.1016/j.procbio.2013.12.004.

Munasinghe, P. C. and Khanal, S. K. (2010) ‘Syngas fermentation to biofuel: Evaluation of carbon monoxide mass transfer coefficient (kLa) in different reactor configurations’, *Biotechnology Progress*, 26(6), pp. 1616–1621. doi: 10.1002/btpr.473.

Najafpour, G. D. and Younesi, H. (2007) ‘Bioconversion of synthesis gas to hydrogen using a light-dependent photosynthetic bacterium, *Rhodospirillum rubrum*’, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(2), pp. 275–284. doi: 10.1007/s11274-006-9225-2.

Pepper Ian L., Gerba Charles P., Gentry Terry and Maier Raina M., 2008, Bacterial Growth, in “*Environmental Microbiology*”, Chap. 3. Elsevier/Academic Press, Boston, USA. pp. 37-54.

Perlmutter Daniel P., Rothstein Robert L. , 2010, *The Challenge of Climate Change: Which Way Now?*, Wiley-Blackwell, Hoboken, New Jersey, USA.

Revelles, O. *et al.* (2016) ‘Carbon roadmap from syngas to polyhydroxyalkanoates in *Rhodospirillum rubrum*’, *Environmental Microbiology*, 18(2), pp. 708–720. doi: 10.1111/1462-2920.13087.

Rollbusch, P. *et al.* (2015) ‘Experimental investigation of the influence of column scale, gas density and liquid properties on gas holdup in bubble columns’, *International Journal of Multiphase Flow*. Elsevier Ltd, 75, pp. 88–106. doi: 10.1016/j.ijmultiphaseflow.2015.05.009.

Shen, L., Haufe, J. and Patel, M. K. (2009) ‘Product overview and market projection of emerging bio-based plastics’, (June).

Spier, M. R. *et al.* (2011) *Application of different types of bioreactors in bioprocesses*, *Bioreactors: Design, Properties and Applications*. Available at: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84892132755&partnerID=40&md5=5862effd1c5e7b6a71dec75ef24e1b81>.

Subianto, S. *et al.* (2014) ‘Reactive coaxial electrospinning of ZrP/ZrO₂ nanofibres’, *Journal of Materials Chemistry A*, 2(33), pp. 13359–13365. doi: 10.1039/C4ta01383b.

Submerged membrane bioreactor MBR. (2015, 14 giugno). Recuperato da <https://www.triqua.eu/site/subtriqu-mbr>

Transforming CO₂ into value for a rejuvenated European economy. (2015, Maggio 8). Recuperato da <https://publications.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/a89ae7bf-1bef-407a-9a02-4c76a5b55b49/language-en>

Ungerman, A. J. and Heindel, T. J. (2007) ‘Carbon monoxide mass transfer for syngas fermentation in a stirred tank reactor with dual impeller configurations’, *Biotechnology Progress*, 23(3), pp. 613–620. doi: 10.1021/bp060311z.

Ustadi, I., Mezher, T. and Abu-Zahra, M. R. M. (2017) ‘The Effect of the Carbon Capture and Storage (CCS) Technology Deployment on the Natural Gas Market in the United Arab Emirates’, *Energy Procedia*. The Author(s), 114(November 2016), pp. 6366–6376. doi: 10.1016/j.egypro.2017.03.1773.

10. Ringraziamenti

Giunto alla fine di questo elaborato, vorrei inizialmente dedicare un pensiero a chi ne ha permesso la realizzazione: un ringraziamento particolare va al dottor Nicolò Vasile per l'aiuto e i consigli offerti perché, nonostante i numerosi ostacoli incontrati sul cammino, è riuscito a guidarmi verso la conclusione della tesi.

Vorrei dire grazie, inoltre, a tutte le persone che hanno condiviso con me questi anni a Torino perché ciascuna di loro mi ha lasciato qualcosa di unico e tangibile.

A Manuel, amico vero, sempre disponibile in caso di necessità e sempre prodigo di buoni consigli.

A tutti i ragazzi del drinchimteam, compagni di viaggio in questo percorso di studi, per i momenti passati sui banchi di scuola e per le avventure in giro per Torino.

Alle splendide persone conosciute al Collegio Einaudi, in particolare: Adele, Anna, Chiara, Francesco, Gian Franco e Simone.

Ai ragazzi dell'Ensemble Collegio Einaudi per le belle serate passate insieme, all'insegna di buona musica, pizza e tante risate. Una menzione di merito va a Vincenzo S., per aver contribuito a rafforzare il mio amore per De Andrè e Guccini, e a Vincenzo A. per la passione musicale che riesce a trasmettermi.

Un grazie speciale va ai miei familiari per il sostegno e l'affetto che mi hanno sempre dimostrato.

A zia Patrizia, zio Alessandro, Clelia e Jacopo per aver reso meno "traumatico" il passaggio dalla vita da liceale in Sicilia a quella da universitario torinese, rappresentando per me un punto di riferimento importante.

A zio Nino per la sua disponibilità; a mio nonno Fortunato e a mia nonna Angela per la loro capacità di strapparmi sempre un sorriso.

A Valeria perché, nonostante le diversità caratteriali, mi fa capire ogni giorno di più che fortuna sia avere una sorella al proprio fianco.

A mia mamma, per la forza che mi trasmette, per l'ottimismo che infonde e per il coraggio che mi dà nell'affrontare sfide sempre nuove, perché senza di lei non avrei sicuramente raggiunto questo traguardo.

Un ringraziamento finale va a tutti quelli che hanno creduto in me nei momenti difficili, quando forse non ci credevo nemmeno io.