

5) TRASPORTO DI MATERIA E REAZIONI ENZIMATICHE

5.1) Introduzione

Un enzima immobilizzato non è omogeneamente distribuito in tutto il mezzo di reazione ma è per definizione **localizzato** in determinate porzioni dello spazio. Esiste pertanto **un microambiente**, cioè l'immediato intorno della molecola proteica immobilizzata, ed un bulk, ossia il seno della fase liquida in cui il biocatalizzatore eterogeneo è immerso. Nel microambiente avviene la reazione biochimica e lì i parametri operativi esercitano la loro influenza, ma è nel bulk che se ne osservano gli effetti in termini di scomparsa di substrato e comparsa di prodotto. Le misurazioni sperimentali determinano le concentrazioni di bulk, ma queste non necessariamente coincidono con quelle locali a contatto con le molecole di enzima. Infatti, affinché la reazione possa aver luogo, il substrato deve giungere in contatto con l'enzima ed il prodotto di reazione se ne deve allontanare: la resistenza opposta al trasporto delle specie chimiche genera dei gradienti di concentrazione. I fenomeni di **trasporto di materia** giocano quindi un ruolo fondamentale ed il loro accoppiamento con la reazione chimica determina il comportamento globale del sistema ad enzima immobilizzato.

Compito dell'ingegnere biochimico è pervenire alla modellazione di questi processi in modo da poter individuare le equazioni costitutive necessarie alla progettazione dei reattori biochimici eterogenei. In questo capitolo verranno pertanto esaminati le principali configurazioni di sistemi ad enzimi immobilizzati e si individueranno i parametri che ne governano il funzionamento. Questi risultati verranno poi applicati ai bilanci di materia nei reattori eterogenei.

Naturalmente, la fenomenologia che si affronterà è patrimonio comune all'ingegneria chimica classica, ed i fondamenti su cui si basano le modellazioni che verranno sviluppate sono esposti negli usuali manuali di studio, ai quali si rimanda non solo per l'approfondimento, ma anche per individuare fruttuosi collegamenti tra il presente corso e le altre discipline caratterizzanti la formazione dell'ingegnere chimico.

5.2) Lamina piana con enzima sulla superficie esterna

Si consideri un solido sulla cui superficie esterna sia legato un'enzima, sia esso semplicemente adsorbito oppure graffiato con legami covalenti, e si supponga di immergere questo sistema in un

bulk indefinito perfettamente miscelato e contenente substrato alla concentrazione $[S]_b$. Le molecole di substrato a diretto contatto con l'enzima verranno da questo convertite in prodotto, per cui in prossimità della superficie del solido si determinerà una diminuzione della concentrazione di substrato ed un aumento della concentrazione di prodotto. Per effetto di queste differenze di concentrazione rispetto ai valori di bulk, si promuoverà un trasporto di substrato diretto verso la superficie reattiva e di prodotto in allontanamento da essa. Dalle conoscenze acquisite nel corso di Principi di Ingegneria Chimica è noto che gli elementi di liquido a diretto contatto con la parete solida (**strato limite**) costituiscono un film stagnante il cui spessore dipende dall'entità della **velocità relativa** liquido solido (agitazione del bulk), e cioè in ultima analisi dalla **fluidodinamica** del sistema. Al di fuori dello strato limite, si ammette che vigano le condizioni di bulk: cioè i profili di concentrazione sono piatti nel bulk a causa dell'ipotesi di perfetta miscelazione e si sviluppano interamente all'interno del film stagnante. Le molecole che attraversano lo strato limite incontrano una certa **resistenza** al trasporto che determina l'insorgere dei gradienti di concentrazione. In condizioni di regime stazionario, i profili di concentrazione non varieranno più ed i gradienti saranno tali da assicurare l'apporto di substrato al tasso richiesto dal consumo superficiale dovuto all'azione catalitica (Figura 5.2.1)

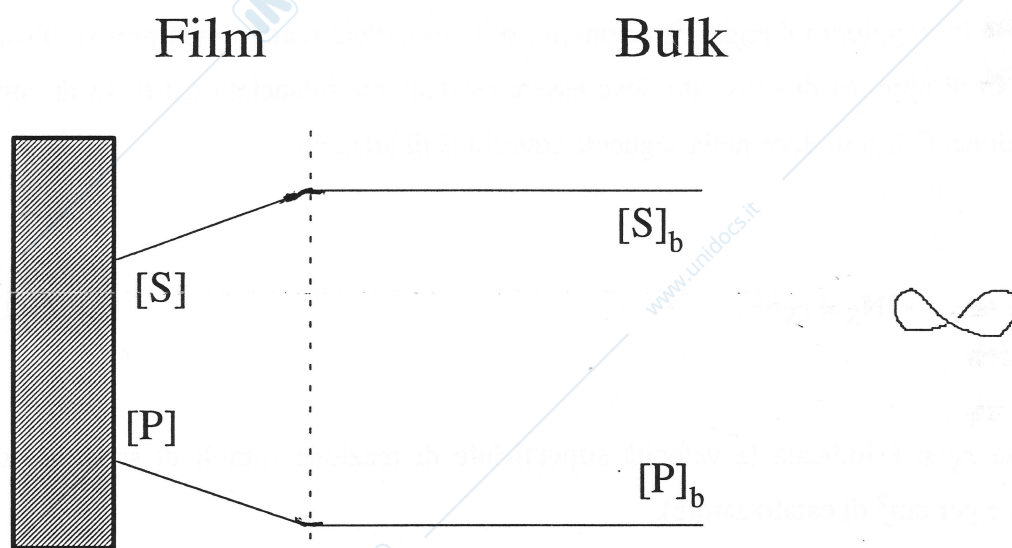


Figura 5.2.1: Enzima immobilizzato in superficie: profili di concentrazione

In particolare, si osservi che la concentrazione $[S]$ del substrato nel microambiente risulta **minore** di quella $[S]_b$ nel bulk, mentre per il prodotto della reazione la situazione è **invertita**: $[P] > [P]_b$. Il

salto di concentrazione richiesto per generare il trasporto di materia dipende ovviamente dalla resistenza opposta al moto delle molecole attraverso il film stagnante, il cui spessore è funzione delle condizioni fluidodinamiche. A seguito dell'immobilizzazione, si è passati dalla catalisi omogenea a quella eterogenea e l'atto reattivo non è più conseguenza di un semplice fenomeno cinetico, ma di due fenomeni in **serie**: trasporto di materia **interfase** e reazione superficiale.

L'equazione costitutiva del trasporto interfase è nota dal Corso di Principi di Ingegneria Chimica:

$$N_S = k_L([S]_b - [S]) \quad (5.2.1)$$

dove N_S è il **flusso di materia** del substrato ($\mu\text{moli/s cm}^2$) e k_L rappresenta il **coefficiente di trasporto** di materia interfase. L'equazione (5.2.1) può essere vista come una definizione di k_L , il quale dipende dalla geometria, dalle proprietà fisiche e dalla fluidodinamica del sistema che, come è noto, non è possibile modellare a pieno all'interno dello strato limite. L'**analisi dimensionale** dell'equazione di **variazione** fornisce però utili indicazioni circa i **gruppi adimensionali** da cui il coefficiente di trasporto di materia dipende, ed alcune utili correlazioni sono a bagaglio culturale dell'allievo ingegnere.

Una volta raggiunto il regime stazionario, sulla superficie reattiva non può verificarsi **accumulo**, ed il tasso di apporto di substrato deve essere esattamente bilanciato dal tasso di consumo dovuto alla reazione. Ciò si traduce nella seguente equazione di bilancio:

$$N_S = r_S \quad (5.2.2)$$

dove con r_S si è indicata la velocità **superficiale** di reazione ($\mu\text{moli di substrato convertite per secondo e per cm}^2$ di catalizzatore).

Il secondo membro della (5.2.2) si **particolarizza** a secondo della cinetica di reazione. Ad esempio, se l'enzima immobilizzato segue la legge di Michaelis, si ottiene:

$$k_L([S]_b - [S]) = V_{max}[S]/([S] + K_M) \quad (5.2.3)$$

in cui il V_{max} è anch'esso espresso in termini superficiali.

L'equazione di bilancio consente formalmente il calcolo di $[S]$ noti che siano i **quattro** parametri $[S]_b$, k_L , V_{max} e K_M . Tuttavia, al fine di ricavare indicazioni le più **generali** possibili, è opportuno studiare la sua forma adimensionalizzata. Pertanto, introducendo le seguenti variabili adimensionali:

$$\sigma = [S]/[S]_b; \quad K = K_M/[S]_b \quad (5.2.4)$$

si perviene ad un'equazione di bilancio che dipende da **due** soli parametri. Infatti, sostituendo le (5.2.4) nella (5.2.3) si ottiene:

$$(1 - \sigma)/Da = \sigma/(K + \sigma) \quad (5.2.5)$$

Si noti la comparsa del **numero di Damköhler** $Da = V_{max}/k_L[S]_b$. Questo gruppo adimensionale assume il significato di rapporto tra la massima velocità di reazione e la massima velocità di trasporto e quindi confronta le velocità relative dei due processi in serie. Quando $Da \gg 1$, allora il trasporto di materia è più lento della reazione e costituisce **stadio controllante**. Quando $Da \ll 1$, allora lo stadio controllante è la reazione biochimica. Il parametro $K = K_M/[S]_b$ esprime invece di quanto la cinetica sia prossima alla saturazione: per $K \gg 1$, la reazione enzimatica è in ordine uno, per $K \ll 1$ in ordine zero. Si noti come il grado di saturazione sia comunque riferito alle condizioni di bulk.

La risoluzione dell'equazione (5.2.5), quadratica in σ e parametrica in Da e K , fornisce il punto di funzionamento del sistema. E' però possibile trarre indicazioni generali sul comportamento del catalizzatore ad enzima immobilizzato senza trovare gli zeri dell'equazione adimensionale di bilancio. Ciò verrà esposto nella trattazione che segue, avvertendo lo studioso che le grandezze introdotte e le fenomenologie illustrate hanno ovviamente validità generale per tutti i sistemi ad enzimi immobilizzati e pertanto rivestono importanza fondamentale per la comprensione dei fenomeni di trasporto accoppiati alle reazioni biochimiche.

A causa della resistenza opposta al trasporto del substrato nel film stagnante, l'enzima opera in corrispondenza di una **forza spingente** minore di quella che si riscontra nel bulk. Pertanto, il **rapporto tra la velocità di reazione effettivamente osservata e quella che si registrerebbe esponendo lo stesso ammontare di enzima direttamente a contatto con la soluzione che circonda la lamina è generalmente minore di uno**. Questa quantità, denominata **fattore di**

efficienza catalitica, viene usualmente indicata con il simbolo " η ". Per lo specifico sistema in esame, il fattore di efficienza si particolarizza nella:

$$\eta = V_{max}[S](K_M+[S]_b)/V_{max}[S]_b(K_M+[S]) = \sigma(K+1)/(\sigma+K) \quad (5.2.6)$$

dalla quale si evince che per $\sigma \rightarrow 0$, $\eta \rightarrow 0$ e che per $\sigma \rightarrow 1$, $\eta \rightarrow 1$.

5.3) Ruolo del numero di Damköhler

Combinando la (5.2.5) e la (5.2.6) è possibile esprimere η in funzione del solo numero di Damköhler e del parametro K . Il compito di produrre il **diagramma di efficienza** per il sistema in esame è lasciato allo studente. Si vuole qui soltanto mettere in risalto come l'andamento del diagramma di efficienza sia abbastanza **insensibile al grado di saturazione**: le curve a diverso valore di K , infatti, non si discostano molto le une dalle altre.

L'efficienza del biocatalizzatore è pressoché unitaria per bassi valori di Da (controllo alla cinetica). In queste condizioni, si suole dire che si manifesta la cinetica **intrinseca**: cioè, essendo l'enzima a contatto con substrato praticamente alla stessa concentrazione del bulk, si osserva la velocità di reazione che competerebbe al biocatalizzatore libero. Per $Da \gg 1$ (controlla il trasporto di materia), la cinetica è totalmente mascherata dal trasporto. La velocità di reazione osservata è esprimibile tramite la (5.2.1), ed è **totalmente indipendente** dai parametri cinetici V_{max} e K_M : il processo che si osserva in queste condizioni è sempre del **primo ordine** in $[S]_b$.

Quando il numero di Damköhler assume valori intermedi rispetto agli estremi, si dice che il sistema è in regime di controllo **misto**: il trasporto di materia e la reazione superficiale avvengono entrambi ad un tasso comparabile. In tale condizione di funzionamento, il biocatalizzatore eterogeneo manifesta delle peculiarità di funzionamento che è necessario approfondire.

Si consideri la determinazione del K_M di un enzima immobilizzato sulla superficie esterna di un solido: le misure sperimentali verranno condotte a varie concentrazioni $[S]_b$, e si registreranno i corrispondenti valori della velocità di reazione. Come più volte ribadito, in regime misto la concentrazione di substrato nel microambiente, effettiva forza spingente a disposizione della reazione enzimatica, è minore di quella di bulk. Si tenderà quindi ad associare un certo valore di velocità di reazione ad una concentrazione che è **sovrastimata** rispetto a quella reale. Come diretta conseguenza, **si stimerà un K_M apparente e maggiore di quello intrinseco**. La Figura 5.3.1

illustra quanto esposto, evidenziando a tratto continuo la curva cinetica effettivamente misurata e con una curva tratteggiata la legge cinetica che si otterrebbe correggendo i valori in ascissa per portare in conto la caduta di concentrazione nel film stagnante.

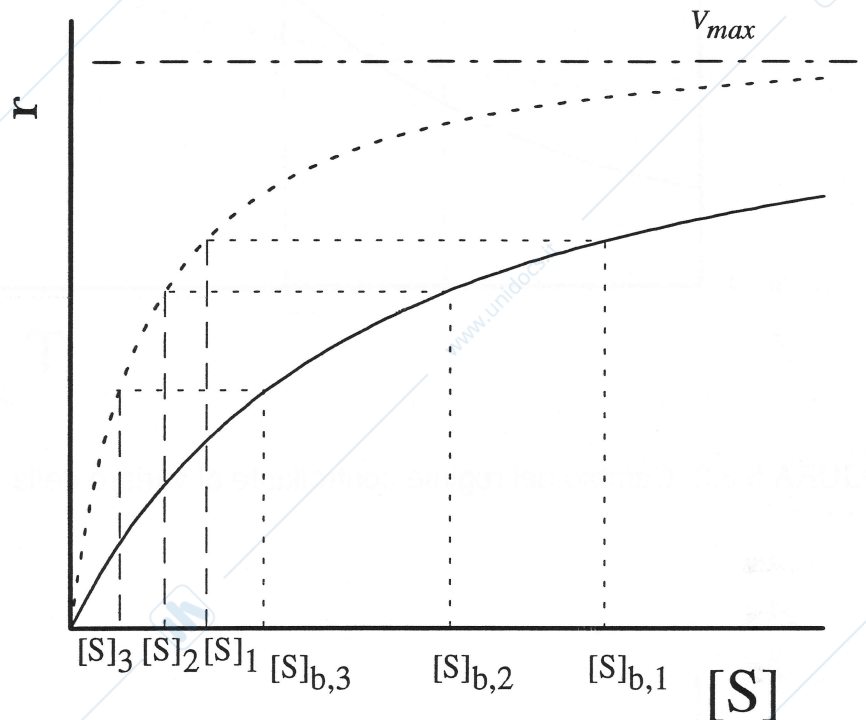


FIGURA 5.3.1: Effetto della resistenza al trasporto sulla stima del K_M

La resistenza al trasporto influenza anche l'effetto della temperatura sulla velocità di reazione: si dimostra che in regime di controllo misto l'energia d'attivazione osservata è la **media aritmetica** dei valori relativi alla reazione enzimatica ($E_a \approx 10000$ cal/mole) ed al fenomeno di trasporto, che è **poco sensibile** alla temperatura ($E_a \approx 10$ cal/mole). Variando la temperatura di lavoro di un biocatalizzatore eterogeneo, allora, può verificarsi che sia possibile trasferire il controllo dall'uno all'altro dei fenomeni in serie, secondo quanto illustrato in Figura 5.3.2. Il **cambio di pendenza** che ne risulta nel diagramma di Arrhenius è solitamente indizio del sussistere di significative resistenze al trasporto (Figura 5.3.3).

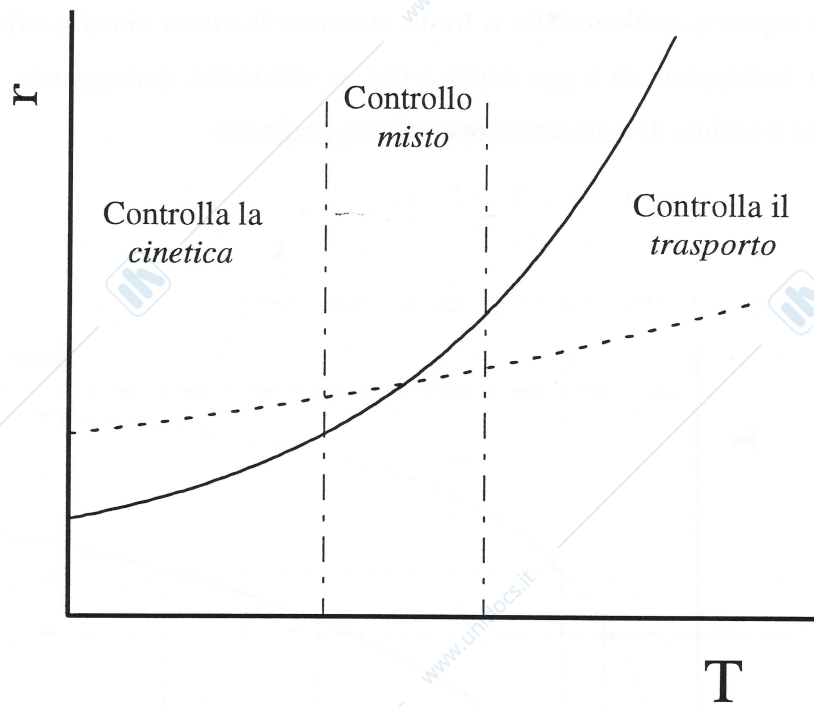


FIGURA 5.3.2: Cambio del regime controllante al variare della temperatura

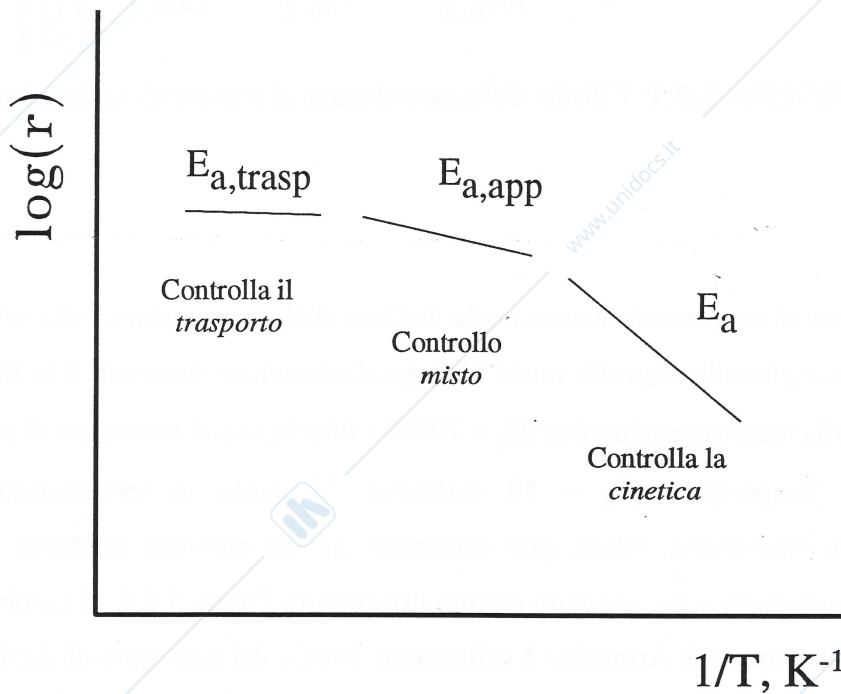


FIGURA 5.3.3: Effetto delle resistenze al trasporto sull'energia d'attivazione

Va rimarcato che molta attenzione bisogna porre nel trarre conseguenze dalle misure cinetiche effettuate su un biocatalizzatore eterogeneo laddove si sospetti il controllo al trasporto di materia. Per esempio, si è detto che l'immobilizzazione può migliorare la stabilità operativa degli enzimi. Si supponga di avere immobilizzato una certa attività, la quale, se si manifestasse **intrinsecamente**, darebbe luogo alla linea continua di Figura 5.3.4 a: un valore iniziale relativamente elevato ma, nonostante il processo di immobilizzazione, un consistente tasso di decadimento. Se le condizioni fluidodinamiche sono tali da rendere **inizialmente** controllante il trasporto di materia (la cui velocità è rappresentata dal tratto orizzontale discontinuo), fino a che la disattivazione enzimatica non renderà la velocità di reazione comparabile a quella del trasporto si misurerà una attività **apparentemente** stabile. Per tempi maggiori di t^* , però, essendo divenuta controllante la reazione, apparirà la reale instabilità del catalizzatore. Anche l'efficienza catalitica di questo sistema è funzione del tempo di processo, e l'interpretazione del suo andamento, illustrato in Figura 5.3.4 b, è lasciato allo studioso.

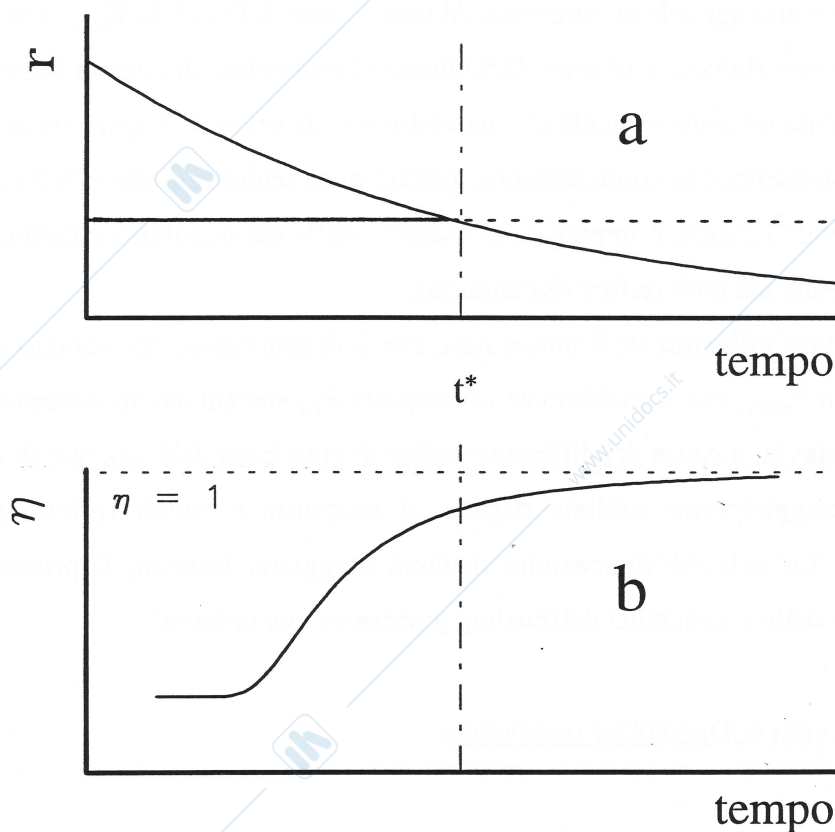


FIGURA 5.3.4: Stabilità operativa e resistenze al trasporto

5.4) Effetto dei parametri operativi su Da

Dal complesso della discussione precedente si deduce che il numero di Damköhler svolge un ruolo chiave nella catalisi eterogenea con trasporto interfase, ed è pertanto utile puntualizzare quali siano i gradi di libertà a disposizione dell'ingegnere per variare il valore di questo importante gruppo adimensionale.

Nella formulazione di Da entrano termini cinetici e di trasporto, nonché la concentrazione di substrato nel bulk. Quest'ultima rappresenta un parametro operativo sul quale l'ingegnere ha, compatibilmente con le altre esigenze del processo, un certo grado di libertà. Aumentando $[S]_b$, il numero di Damköhler tende a diminuire ed è così possibile trasferire eventualmente il controllo del processo dal trasporto alla cinetica, aumentando così la produttività perché migliora l'efficienza catalitica. Anche l'aumento di k_L è favorevole: tuttavia, ciò può verificarsi solo migliorando la fluidodinamica del sistema, ossia aumentando la velocità caratteristica relativa tra liquido e solido ed è generalmente meno agevole ad ottenersi. Al numeratore di Da c'è la V_{max} , che è proporzionale alla concentrazione superficiale di enzima. Diminuendo l'ammontare di enzima immobilizzato sul solido, l'efficienza del catalizzatore aumenta ma, naturalmente, la velocità di reazione osservata sarà minore. Questo non rappresenta una contraddizione, perché si sta semplicemente effettuando un processo più lento, ma nel quale l'enzima è impiegato al massimo delle sue possibilità catalitiche, compatibilmente alla forza spingente nel bulk (efficienza unitaria).

La temperatura influenza sia il numeratore che il denominatore del numero di Damköhler. Sia il k_p , contenuto in V_{max} , che il coefficiente di trasporto k_L , aumentano all'aumentare della temperatura del sistema. Tuttavia, a causa del differente ordine di grandezza delle energie di attivazione in gioco, la cinetica è maggiormente esaltata rispetto al trasporto, e quindi l'effetto globale tende a far aumentare Da . La velocità di reazione risulterà maggiore: tuttavia, il processo avverrà con un peggior utilizzo delle potenzialità dell'enzima (efficienza non unitaria).

5.5) Numero di Damköhler osservabile

Da quanto esposto in precedenza si evince che l'efficienza di un biocatalizzatore immobilizzato in superficie può essere calcolata noti che siano Da e K . Tuttavia, per stimare questi gruppi adimensionali, occorre conoscere la cinetica intrinseca dell'enzima, cioè i valori V_{max} e K_M che l'enzima esprime in fase immobilizzata. Tuttavia, questi possono essere valutati solo da prove sperimentali nel corso delle quali si sia certi che il sistema non sia controllato dal trasporto di

materia: ne consegue la difficoltà di operare previsioni circa l'efficienza, cioè in ultima analisi se ci sia o no controllo al trasporto.

Per ovviare a questa difficoltà, si introduce un numero di **Damköhler osservabile**, definito da:

$$Da_{oss} = r_{oss} / k_L [S]_b \quad (5.5.1)$$

dove r_{oss} è la velocità di reazione superficiale osservata, cioè determinata sperimentalmente nel bulk. Lo studente può facilmente verificare che sussiste una stretta relazione tra Da_{oss} e Da , dovendo vigere le seguenti uguaglianze:

$$Da_{oss} = r_{oss} / k_L [S]_b = \eta V_{max} / (K+1) k_L [S]_b = \eta Da / (K+1) \quad (5.5.2)$$

Ne risulta quindi che un diagramma di η in funzione di Da_{oss} è di utilizzo pratico, poiché la sua ascissa dipende da misure sperimentali che prescindono dalla necessità di conoscere la cinetica intrinseca dell'enzima.

5.6) Diffusione all'interno di un solido poroso

Nei casi in cui il biocatalizzatore eterogeneo è costituito da un enzima immobilizzato all'interno di un solido poroso, affinché la reazione proceda occorre che il substrato venga trasportato attraverso i pori della struttura di supporto. La velocità di reazione che si osserva nel bulk dipende quindi dai fenomeni accoppiati di trasporto di materia intrafase (= nella stessa fase in cui è l'enzima) e reazione biochimica. Questi sistemi sono quindi diversi da quello analizzato in precedenza e necessitano di altre equazioni di modello.

Indipendentemente dalla tecnica di ottenimento della struttura di supporto, il moto delle molecole all'interno dei pori è regolato dagli stessi fenomeni. La fase liquida che permea il solido è per definizione stagnante, perchè qualunque sia la velocità relativa fra il liquido del bulk e la particella di catalizzatore, all'interno di essa i suoi effetti non possono manifestarsi. Ne consegue che il trasporto di substrato nella fase solida avviene esclusivamente per diffusione, ed è retto dalla legge di Fick:

$$N_S = - D_S \nabla[S] \quad (5.6.1)$$

dove N_S è il flusso di materia del substrato (moli di S per cm^2 per secondo) e D_S il coefficiente di **diffusività effettiva**, fattore di proporzionalità tra il flusso e il gradiente di concentrazione ($\nabla[S]$).

Il significato del termine D_S va approfondito. Esso è legato alla diffusività libera \mathcal{D}_S , ma non coincide con questa, essendone sempre minore. Infatti, sussiste la seguente relazione:

$$D_S = \mathcal{D}_S \varepsilon [1 - (r_S/r_p)^4] / \tau \quad (5.6.2)$$

Il termine ε è il grado di vuoto del solido, ed è definito come rapporto tra il volume dei pori e quello della particella. ε è sempre minore di uno (generalmente intorno a 0.3 - 0.5), e porta in conto la circostanza che non tutto il volume della particella solida è effettivamente disponibile per il moto delle molecole. Analogamente, poiché i pori non sono perfettamente rettilinei, per effettuare un certo spostamento nella direzione del gradiente le molecole devono compiere un cammino tortuoso: il termine τ , fattore di tortuosità del solido, rappresenta il rapporto tra cammino effettivo e spostamento netto ed è quindi sempre maggiore di uno (tipicamente, vale almeno due). Infine, il termine fra parentesi quadre è funzione del raggio medio molecolare (r_S) e di quello dei pori (r_p). Usualmente, si verifica che $r_S \ll r_p$ e quindi il termine non si discosta da uno. Quando però i due raggi sono comparabili, avvengono ulteriori fenomeni d'interazione che tendono a rallentare il moto delle molecole. Ciò si verifica allorché il cammino libero medio è maggiore del diametro dei pori e le collisioni tra le molecole e le pareti solide sono molto frequenti. A seguito degli urti, le molecole vengono adsorbite dalle pareti solide e successivamente desorbite in una direzione casuale, il che è fonte di rallentamento nel moto netto. Un tale regime prende il nome di **diffusione alla Knudsen**. Si osservi che le interazioni testé descritte possono divenire la causa frenante principale, perché dipendono dalla quarta potenza del rapporto tra le dimensioni caratteristiche.

Dalla discussione precedente si evince che non è molto agevole calcolare il D_S a partire dal \mathcal{D}_S , perché è richiesta la conoscenza dell'intima struttura del materiale di supporto e ciò non sempre è possibile. Per cui si preferisce, ove possibile, pervenire alla determinazione sperimentale del parametro mediante prove sul materiale.

5.7) Enzima immobilizzato all'interno di un particella sferica di solido poroso

Il trasporto intrafase di substrato accoppiato alla reazione biochimica causa l'insorgere di profili di concentrazione all'interno del solido poroso di supporto all'enzima immobilizzato. Ne consegue che la concentrazione di substrato assume valori dipendenti dalla **posizione** e, in generale, decrescenti dagli strati esterni verso le zone interne del solido. Questa circostanza è ovviamente indipendente dalla geometria del sistema. In questo paragrafo verrà pertanto trattato il pellet sferico, utilizzando una simbologia comune anche agli altri casi che verranno studiati. Si consideri la particella sferica di solido poroso illustrata in Figura 5.7.1.

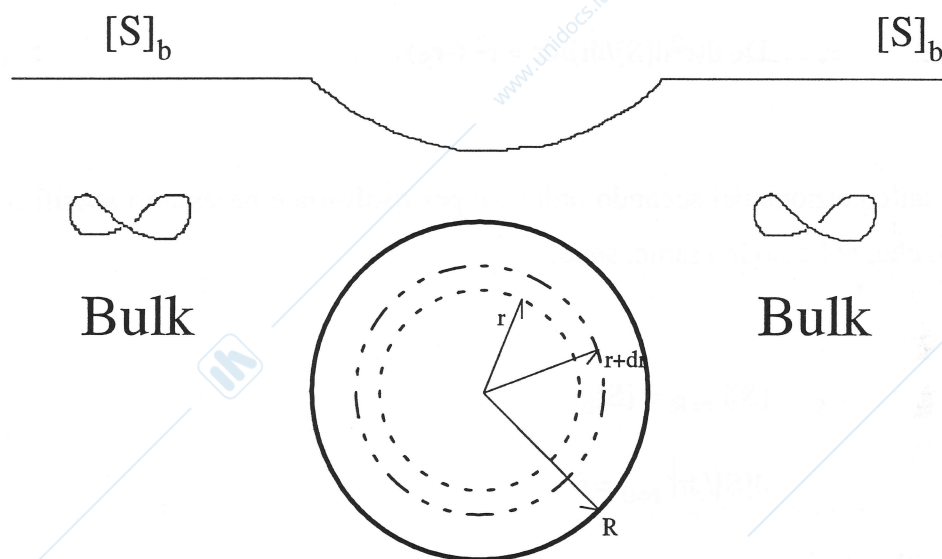


FIGURA 5.7.1: Pellet biocatalitico sferico

Nella parte superiore della figura è rappresentato l'andamento qualitativo del profilo di concentrazione di substrato che si instaura a regime, mentre nella parte inferiore si individua lo **shell** (= guscio) sferico elementare che costituisce il volume di controllo su cui effettuare il bilancio di materia. Per sviluppare l'equazione di bilancio, si faranno le seguenti assunzioni:

- L'enzima è **uniformemente distribuito** all'interno del pellet;
- Il sistema è **isotermo ed a regime**;
- Il D_S **non dipende** da $[S]$;
- Vale la **legge di Fick**;
- La **cinetica intrinseca** è di tipo Michaelis e Menten;

- Le resistenze esterne al trasporto sono **trascurabili**.

Ciò posto, il bilancio sul substrato si scrive:

$$-D_S(4\pi r^2 d[S]/dr)|_{r+\Delta r} + D_S(4\pi r^2 d[S]/dr)|_r = 4\pi r^2 \Delta r (r_S) \quad (5.7.1)$$

("IN")
("OUT")
("GEN")

Facendo tendere a zero lo spessore dello shell si ottiene l'equazione differenziale di bilancio:

$$D_S d(r^2 d[S]/dr)/dr = r^2 (-r_S) \quad (5.7.2)$$

Essa è un'equazione del secondo ordine, e per risolverla è necessario specificare due condizioni al contorno che, nel caso in esame, sono:

$$\begin{aligned} [S]|_{r=R} &= [S]_b \\ d[S]/dr|_{r=0} &= 0 \end{aligned} \quad (5.7.3)$$

La prima delle (5.7.3) è di immediata interpretazione: a causa dell'ipotesi di assenza di resistenze esterne, la concentrazione di **interfase coincide con quella di bulk**. La seconda condizione al contorno necessita di una discussione. Essa esprime la circostanza che la derivata di [S] al centro della sfera è nulla. Ora, se è pur vero che il sistema è a simmetria radiale, la semplice ipotesi di simmetria per conseguenza del profilo non basta a soddisfare tale condizione al contorno. Infatti, un qualunque profilo simmetrico, ma che presentasse una **cuspide** per $r = 0$ violerebbe la condizione, non essendo addirittura ivi derivabile. La condizione al centro del pellet deriva piuttosto dal seguente ragionamento. Si consideri un elemento sferico di volume di solido, concentrico al pellet e di raggio $r < R$: in condizioni di regime stazionario, l'integrale del flusso di materia del substrato esteso alla superficie di contorno del volume deve eguagliare il tasso di scomparsa volumetrica:

$$4\pi D_S r^2 d[S]/dr|_r = (4/3\pi) r^3 (-r_S) \quad (5.7.4)$$

L'equazione di bilancio (5.7.4) deve valere **indipendentemente** dal valore che assume il raggio dell'elemento di volume, e quindi anche nel limite in cui questo **tende a zero**, allorquando l'espressione degenera nella seconda delle condizioni al contorno (5.7.3).

Esplicitando nell'equazione differenziale di bilancio la legge costitutiva di Michaelis e Menten si ottiene:

$$D_S d(r^2 d[S]/dr)/dr = r^2 V_{\max} [S]/(K_M + [S]) \quad (5.7.5)$$

La quale è un'equazione differenziale del secondo ordine **non lineare in [S]** e pertanto non se ne conoscono soluzioni analitiche. Sono ovviamente possibili soluzioni numeriche, le quali, per essere di utilizzo pratico, richiedono la conoscenza del valore assunto dai parametri cinetici V_{\max} e K_M . Si osservi che la velocità massima è espressa in termini volumetrici rispetto al **solido** ($\mu\text{moli di S}$ convertito per secondo e per cm^3 di pellet). Ciò non costituisce un problema, in quanto essa può essere calcolata sulla base della relazione:

$$V_{\max} = e_{\text{imm}} \rho_p A_{\text{imm}} \quad (5.7.6)$$

dove e_{imm} è l'**ammontare di enzima immobilizzato** (mg di enzima per grammo di pellet), ρ_p è la **densità del supporto** (grammo di pellet per cm^3 di pellet) ed A_{imm} è l'**attività specifica dell'enzima immobilizzato** ($\mu\text{moli di S}$ convertito per secondo e per grammo di enzima). La difficoltà di stimare il parametro V_{\max} consiste piuttosto nell'ottenere il dato di attività specifica del biocatalizzatore essendo sicuri di operare in controllo cinetico, allorquando si manifesta la cinetica intrinseca. Analoga considerazione vale per la stima del K_M .

Ora, per essere sicuri di effettuare le misure sperimentali in condizioni di controllo cinetico, bisognerebbe essere certi di operare con efficienza catalitica unitaria. Per calcolare il valore assunto da η , bisognerebbe possedere il profilo di concentrazione $[S] = f(r)$ all'interno del pellet. Per avere il profilo, occorrerebbe risolvere l'equazione di bilancio, la quale non è risolvibile analiticamente. Tuttavia, un opportuno utilizzo dell'efficienza catalitica consente di superare questi ostacoli. Per il sistema in esame, la definizione di efficienza si particolarizza come rapporto tra la velocità di reazione **effettivamente osservata** (R_{oss}) e quella che si osserverebbe se tutto il pellet fosse permeato da substrato alla **concentrazione di bulk** ($R([S]_b)$). In altri termini:

$$\eta = (\int r dV)/(V_p r([S]_b)) \quad (5.7.7)$$

dove V_p è il volume del pellet. Il calcolo dell'integrale volumetrico a primo membro della (5.7.7) richiede, ancora una volta, la conoscenza del profilo di concentrazione all'interno del pellet. Tuttavia, a regime, la velocità di reazione osservata deve anche essere uguale al flusso di materia di substrato ad $r = R$ moltiplicato per la superficie esterna del pellet, e cioè si può porre:

$$r_{\text{oss}} = (A_p/V_p)D_S \left. \frac{d[S]}{dr} \right|_{r=R} \quad (5.7.8)$$

dove si è introdotto il rapporto tra l'area della superficie esterna ed il volume del pellet (A_p/V_p) per considerare anche particelle non perfettamente sferiche. Osservando le relazioni (5.7.7) e (5.7.8), si nota che per il calcolo dell'efficienza catalitica **non è necessario** conoscere l'intero profilo di concentrazione, bensì sarebbe sufficiente possedere il valore del **gradiente di concentrazione all'interfase**.

Nell'impossibilità di risolvere il bilancio, ma dovendosi comunque ricercare relazioni utili alla comprensione del fenomeno, si seguirà la pratica, usuale in ingegneria chimica, di adimensionalizzare l'equazione al fine di trarne indicazioni di carattere generale. Nel caso in esame, si introducono le seguenti variabili adimensionali: $\sigma = [S]/[S]_b$, $\rho = r/R$, $\beta = [S]_b/K_M$. Sviluppando la derivata a primo membro della (5.13) ed effettuando le sostituzioni delle variabili adimensionali, si ottiene:

$$([S]_b/R^2)d^2\sigma/d\rho^2 + ([S]_b/R^2)(2/\rho) d\sigma/d\rho = [S]_b (V_{\text{max}}/(D_S K_M)) \sigma/(1+\beta\sigma) \quad (5.7.9)$$

Ed in definitiva l'equazione adimensionale di bilancio e le relative condizioni al contorno possono essere scritte:

$$d^2\sigma/d\rho^2 + (2/\rho) d\sigma/d\rho = 9\phi^2 \sigma/(1+\beta\sigma) \quad (5.7.10)$$

$$\sigma(1) = 1; \quad \left. \frac{d\sigma}{d\rho} \right|_{\rho=0} = 0$$

Si noti la comparsa dell'importante **gruppo adimensionale ϕ** , che prende il nome di **modulo di Thiele**. Esso raffronta i due fenomeni **intrafase** di trasporto e reazione, e svolge pertanto ruolo analogo al numero di Damköhler, con il quale non deve però essere confuso. La formulazione analitica del modulo di Thiele per particelle sferiche è:

$$\phi = R/3 (V_{\text{max}}/(K_M D_S))^{1/2} \quad (5.7.11)$$

Ovviamente, per una particella non perfettamente sferica il fattore $R/3$ viene sostituito dal termine V_p/A_p . Si osservi che sussiste la seguente uguaglianza:

$$\phi^2 = (R^2/9)V_{\max}/(K_M D_S) = (1/9)(R^3 (V_{\max}/(K_M)[S]_b)/(R D_S[S]_b) \quad (5.7.12)$$

Cioè il quadrato del modulo di Thiele raffronta la **massima velocità di reazione del primo ordine** con la **massima velocità di trasporto intrafase**. Se ne deduce che per $\phi \gg 1$, il **trasporto controlla e l'efficienza catalitica sarà bassa per conseguenza, e viceversa si verifica per $\phi \ll 1$** . Il gruppo adimensionale β , invece, misura le deviazioni della cinetica dal primo ordine: per $\beta \rightarrow 0$, il biocatalizzatore esibisce cinetica del primo ordine rispetto al substrato, per $\beta \rightarrow \infty$, di ordine zero.

Esaminando l'equazione di bilancio (5.7.10) si osserva che, indipendentemente dalle difficoltà risolutive che essa pone, la funzione σ **dipenderà solo da ρ , ϕ e β** . Si consideri ora la definizione di efficienza catalitica. Nel caso in esame, valgono le seguenti relazioni:

$$\begin{aligned} \eta &= R_{\text{oss}}/R([S]_b) = \\ &= ((A_p/V_p)D_S([S]_b/R)d\sigma/d\rho|_{\rho=1}) / (V_{\max}[S]_b/(K_M(1+\beta))) \end{aligned} \quad (5.7.13)$$

che, considerando particelle sferiche ($A_p/V_p = 3/R$) è possibile semplificare. Infatti, si ottiene:

$$\eta = d\sigma/d\rho|_{\rho=1} / (3\phi^2/(1+\beta)) \quad (5.7.14)$$

Ora, poiché il gradiente di concentrazione adimensionale è calcolato nel punto $\rho = 1$, esso sarà funzione solo di ϕ e di β e, quindi, anche il **fattore di efficienza η dipenderà solo da ϕ e β** .

Ciononostante il fattore di efficienza catalitica, così come introdotto in base alle relazioni sin qui sviluppate, risulterebbe di scarso utilizzo pratico perché esso dipende da parametri quantificabili solo conoscendo la **cinetica intrinseca**. Tuttavia, dalla (5.7.14) si può ricavare:

$$\phi = [d\sigma/d\rho|_{\rho=1}(1+\beta)/3\eta]^{1/2} \quad (5.7.15)$$

D'altra parte, il gradiente di concentrazione all'interfase è legato alla velocità di reazione osservata:

$$d\sigma/d\rho|_{\rho=1} = (V_p/A_p)r_{oss}/(D_S[S]_b/R) \quad (5.7.16)$$

Combinando queste due ultime relazioni si ottiene:

$$\phi = [R^2(1+\beta)r_{oss}/(9\eta D_S[S]_b)]^{1/2} \quad (5.7.17)$$

Il che assicura che esiste una **relazione implicita fra η , β , ed il modulo di Thiele osservabile**, definito come:

$$\Phi = (V_p/A_p)^2 r_{oss}/(D_S[S]_b) \quad (5.7.18)$$

Quest'ultimo gruppo adimensionale deriva il suo attributo dalla circostanza di essere funzione esclusivamente di quantità facilmente misurabili: **caratteristiche geometriche del pellet (V_p/A_p), velocità di reazione (r_{oss}) e concentrazione di substrato ($[S]_b$) misurate nel bulk, diffusività effettiva del substrato nel solido poroso di supporto (D_S).**

Si è ora in possesso di tutte le informazioni necessarie. La risoluzione numerica dell'equazione di bilancio (5.7.10) fornisce il gradiente di concentrazione di interfase; tramite questo, è calcolabile il fattore di efficienza catalitica; tramite le (5.7.15) - (5.7.16), si mette η in relazione al modulo di Thiele osservabile, e si costruiscono i **diagrammi di efficienza**, recanti in ascissa Φ ed in ordinata η .

L'uso di tali diagrammi consente il calcolo dell'efficienza di un biocatalizzatore: dalla misura di alcune grandezze ad esso relative è possibile valutare il modulo di Thiele osservabile ed entrando in ascissa con tale valore, si valuta η e cioè, in ultima analisi, **che aliquota rispetto alle prestazioni massime realizzabili il sistema sta esprimendo.**

Il tipico andamento dei diagrammi di efficienza per particelle sferiche è illustrato in Figura 5.7.2. Si osservi che è corretto parlare di diagrammi perché η dipende parametricamente dal livello di saturazione: per ogni valore di β esiste formalmente una curva di efficienza. Tuttavia, vanno rilevate alcune importanti caratteristiche del diagramma.

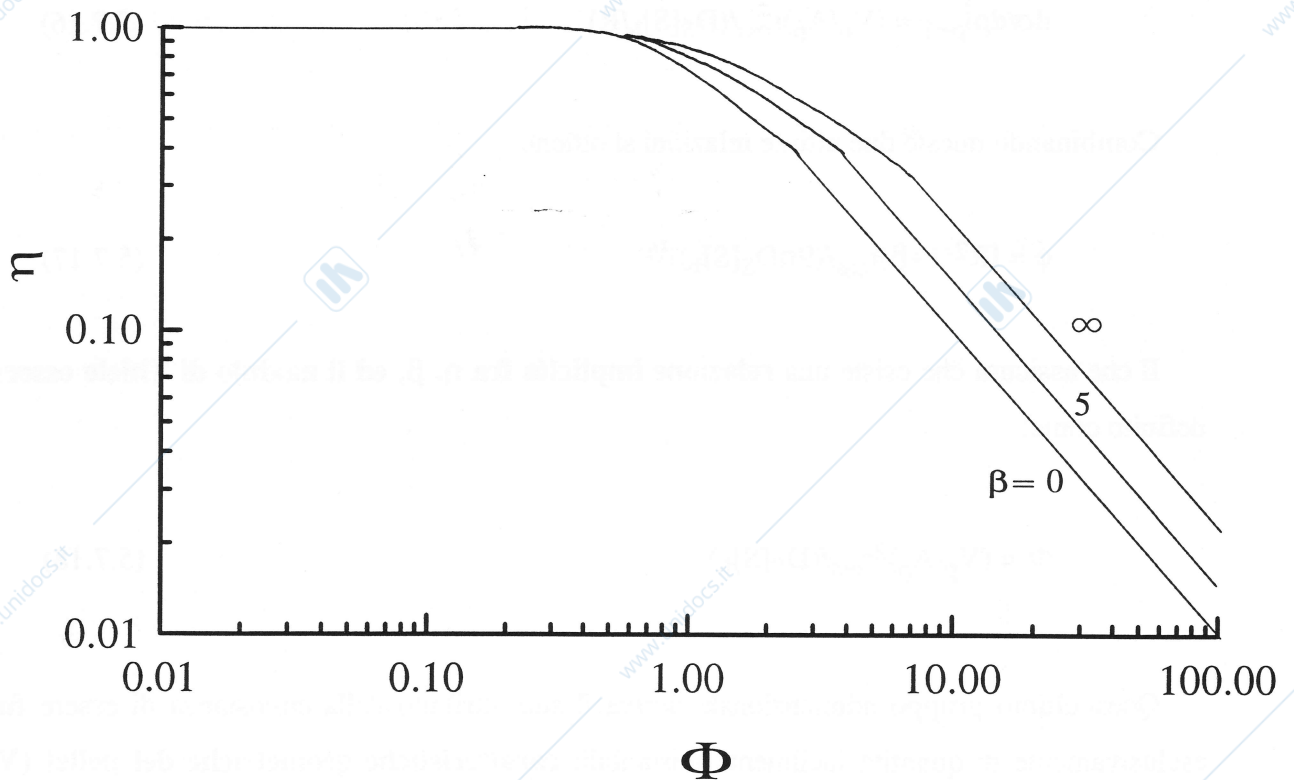


FIGURA 5.7.2: Diagramma di efficienza per pellet biocatalitico sferico

Nella zona di figura caratterizzata da $\Phi < 0.3$ ed indipendentemente da β , l'efficienza è praticamente unitaria, e quindi ci si trova in controllo cinetico. Nella zona in cui $0.3 < \Phi < 3$, si è in regime di controllo misto. Nella zona per la quale $\Phi > 3$, l'efficienza diminuisce rapidamente al crescere del modulo di Thiele osservabile, divenendo asintoticamente proporzionale ad $1/\Phi$ (in rappresentazione logaritmica, le curve divengono rette di pendenza -1): **controlla il trasporto di materia**. Per alti valori di Φ , si osserva anche la massima dipendenza da β , ma questa è comunque modesta. Si suole infatti dire che il diagramma di efficienza è **insensibile all'ordine di reazione**: la curva relativa a $\beta = \infty$ (ordine zero) e quella a $\beta = 0$ (ordine uno) non sono molto discoste. Si vedrà nel seguito che η è anche **insensibile alla geometria del pellet**: infatti, il diagramma d'efficienza che si ottiene per catalizzatori a lamine piane è molto simile a quello illustrato dalla Figura 5.7.2.

5.8) Fattore d'efficienza per reazione in strato sottile

Le curve di efficienza degenerano, per alti valori di Φ , in rette parallele. L'equazione del fascio si può ricavare dalla **risoluzione analitica di una forma semplificata del bilancio**, valida nel limite di