

## 6) REATTORI ENZIMATICI CONTINUI OMOGENEI ED ETEROGENEI

### 6.1) Introduzione

Nel capitolo dedicato alla reattoristica enzimatica sono state sviluppate le equazioni di progetto necessarie per il calcolo dei reattori ideali omogenei: lo studente non avrà mancato di osservare come il carattere biochimico del catalizzatore enzimatico non modifichi le equazioni rispetto a quelle comunemente impiegate nella pratica dell'ingegneria chimica tradizionale. D'altra parte, nulla è stato fino a questo punto mostrato circa le modalità di realizzazione dei reattori enzimatici continui, cioè di apparecchiature in grado di trattenere al loro interno il biocatalizzatore, impedendone la fuoriuscita con la corrente di prodotto e substrato non reagito che se ne allontana.

Nel presente capitolo verrà pertanto presentata qualche tecnica fra quelle più comunemente impiegate nell'industria biochimica per realizzare i reattori enzimatici continui; inoltre, verrà data una panoramica sui fenomeni fisici e chimici che avvengono in tali apparecchiature, evidenziandone con un certo dettaglio le implicazioni pratiche rispetto alla conduzione degli impianti. I lettori desiderosi di maggior approfondimento potranno senz'altro riferirsi ai testi classici di reattoristica eterogenea, da un attento esame dei quali essi potranno trarre fruttuosi collegamenti fra il presente corso ed alcuni altri, caratterizzanti il curriculum dell'ingegnere chimico.

### 6.2) Membrane di ultrafiltrazione e reattori enzimatici

Come si è visto, l'**immobilizzazione** degli enzimi consente di rendere il biocatalizzatore insolubile, e quindi facilmente separabile dalla miscela di reazione e trattenibile all'interno di un reattore continuo. Tuttavia, il ricorso ad enzimi immobilizzati non è scevro da alcuni inconvenienti: necessità di sviluppare una **tecnica di immobilizzazione** adeguata; costi aggiuntivi per la **preparazione** del biocatalizzatore eterogeneo; **perdite di attività** rispetto all'enzima libero spesso rilevanti; possibile insorgere di **resistenze al trasporto di materia** che, controllando la cinetica del processo, ne riducono l'**efficienza**. Per tutti questi motivi, potrebbe risultare conveniente impiegare l'enzima libero, posto ovviamente che la **stabilità operativa** del biocatalizzatore solubile fosse tale da consentirne l'utilizzo in un processo continuo che, per definizione, deve prolungarsi nel tempo. Se si adotta tale soluzione, occorre garantire il **confinamento** dell'enzima all'interno del reattore: pur configurandosi una tale situazione entro gli schemi della catalisi omogenea, essa, come si vedrà, non è scevra di particolarità che la situano al confine con la reattoristica eterogenea, perché

agendo sulle modalità operative si può rendere insolubile il biocatalizzatore, offrendo così il destro per applicazioni proprie della biocatalisi eterogenea.

Nella grande maggioranza dei casi, le reazioni enzimatiche coinvolgono substrati e prodotti di peso molecolare sensibilmente **inferiore** a quello del biocatalizzatore: questa osservazione spiega il largo impiego che si fa nelle applicazioni biotecnologiche di **membrane semipermeabili**, cioè di sistemi che si lasciano attraversare dalle specie chimiche a basso peso molecolare ma non dagli enzimi.

Un **membrana ultrafiltrante** è generalmente costituita da un **film polimerico a porosità controllata**, adagiato su un **materiale di supporto**, necessario per conferire al dispositivo soddisfacente resistenza meccanica, dato che lo spessore dello strato polimerico, ovvero della membrana vera e propria, è di poche decine di **micron**. Il **diametro** dei pori della membrana assicura l'**esclusione molecolare**: le specie chimiche le cui dimensioni sono **inferiori** ad esso **permeano** la membrana, quelle di dimensioni **maggiori** vengono **reiettate** verso la soluzione. Nel fluire attraverso la membrana, la soluzione incontra una **forte resistenza**, dovuta principalmente agli **sforzi viscosi** esercitati dal liquido sulle pareti dei pori dal diametro così esiguo. Per vincere tale resistenza, è necessario applicare una **differenza di pressione fra monte e valle** della membrana che, in prima approssimazione, può ritenersi regolata dalla **legge di Poiseuille**:

$$J = \epsilon_m (d_p^2 / 32 \mu L_p) \Delta \pi = (1/W_m) \Delta \pi \quad (6.2.1)$$

dove **J** è la **portata volumetrica** di liquido per **unità di area superficiale** della membrana,  $\epsilon_m$  la **porosità** della membrana,  $d_p$  ed  $L_p$  rispettivamente il **diametro** e la **lunghezza dei pori** (supposti tutti **identici, diritti e paralleli**),  $\mu$  la **viscosità** del liquido,  $\Delta \pi$  la **differenza di pressione** applicata. Si osservi che in  $W_m$ , **coefficiente di resistenza idraulica**, vengono accorpate tutte le caratteristiche della **coppia liquido-membrana**.

La (6.2.1) è valida nel caso, di scarso interesse pratico per gli scopi del presente corso, in cui si ultrafiltri un liquido puro. In presenza invece di un **soluto**, la fenomenologia si complica alquanto. Le membrane sono caratterizzate da un **taglio molecolare (cut-off)** e si è detto che, idealmente parlando, ogni specie chimica il cui peso molecolare è al disopra del cut-off viene reiettata dalla membrana, mentre ogni sostanza che ne sia al disotto la permea. Nei casi reali, tuttavia, la membrana **reietterà parzialmente** anche soluti di peso molecolare **inferiore** al cut-off e lascerà **fluire parzialmente** anche soluti di peso molecolare **superiore**. Ciò si deve ovviamente al fatto che non tutti i pori del film polimerico sono identici, ma esiste piuttosto una **distribuzione** di diametri, più o

meno dispersa attorno ad un valore medio. Dette quindi  $C_f$  e  $C_r$ , rispettivamente, la concentrazione di soluto nel **filtrato** e nel **ritentato**, si avranno i comportamenti **ideale** (linea continua) e **reale** (linea tratteggiata) illustrati nella Figura 6.2.1.

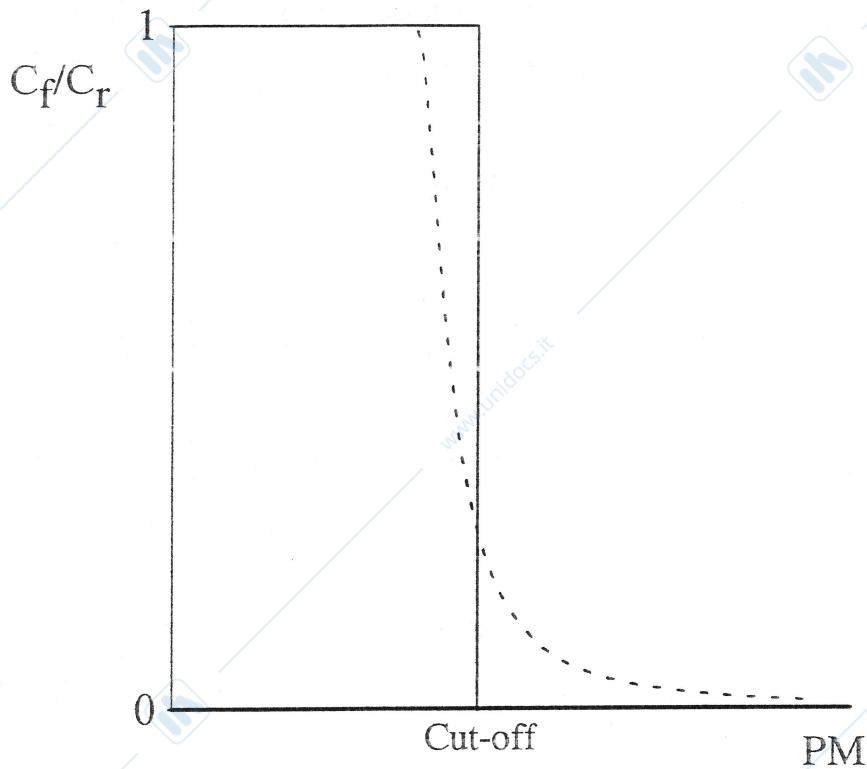


FIGURA 6.2.1: Reiezione ideale e reale di una specie chimica

La reiezione anche parziale della specie "i" fra quelle presenti in soluzione causa **il suo accumulo** in prossimità dell'interfase membrana-soluzione (**polarizzazione**). Conseguentemente, nello strato limite stagnante a contatto con la superficie della membrana, di spessore  $\delta$ , la concentrazione della specie reiettata è **maggiore** di quella che si riscontra nel **bulk perfettamente miscelato** ( $C_{i,b}$ ) ed assume il suo valore **massimo** ( $C_{i,m}$ ) in corrispondenza della superficie della membrana, secondo quanto illustrato dalla Figura <sup>6.2.2</sup> 59. Il sussistere di un gradiente di concentrazione nello strato limite innesca un **flusso controdifusivo** che, a regime, deve bilanciare la **differenza netta** tra quello **convettivo di apporto** e quello **convettivo filtrato** a valle della membrana:

$$J_{i,c} - J_{i,f} = J_{i,d} \quad (6.2.2)$$

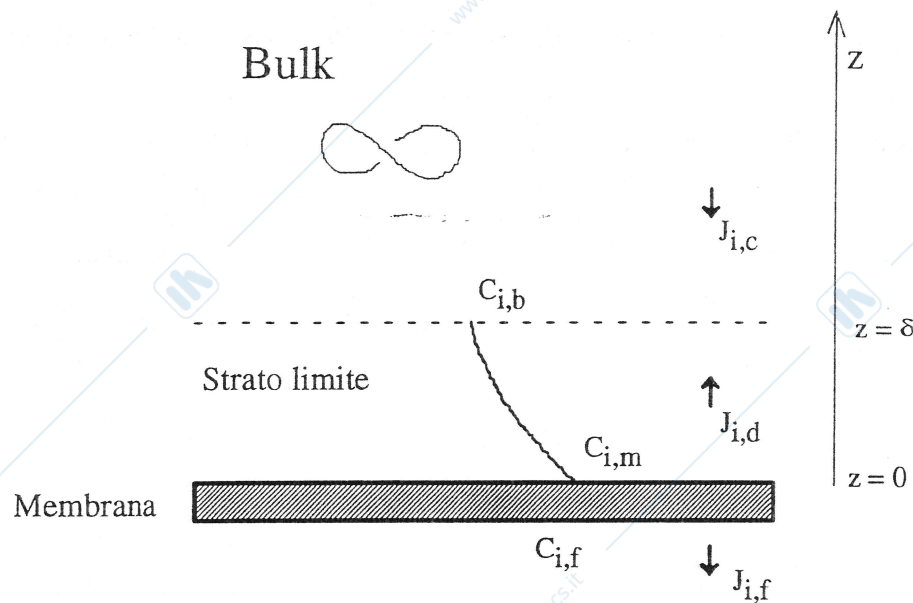


FIGURA 6.2.2: Polarizzazione su membrana ultrafiltrante

La (6.2.2) va particolarizzata introducendo le equazioni costitutive dei flussi. All'uopo, si può ritenere che la diffusione sia regolata dalla **legge di Fick** e che i flussi convettivi si ottengano moltiplicando il flusso del solvente per le concentrazioni locali della specie reiettata e filtrata. In altre parole, detto  $\mathcal{D}_i$  il coefficiente di diffusività libera della specie  $i$  in soluzione, si ottiene:

$$J(C_i - C_f) = -\mathcal{D}_i \frac{dC_i}{dz} \quad (6.2.3)$$

Integrando fra l'ascissa  $z = 0$  e  $z = \delta$ , si ricava:

$$J = (\mathcal{D}_i / \delta) \log[(C_{i,m} - C_{i,f}) / (C_{i,b} - C_{i,f})] \quad (6.2.4)$$

Il termine  $(\mathcal{D}_i / \delta)$ , che ha le dimensioni di una **lunghezza** divisa per un **tempo**, può essere interpretato come il **coefficiente di trasferimento  $k_i$**  del soluto. Se la specie "i" è **totalmente** reiettata, allora  $C_{i,f} = 0$  e la (6.2.4) degenera in:

$$J = k_i \log(C_{i,m} / C_{i,b}) \quad (6.2.5)$$

Il valore **limite** a cui può giungere la concentrazione di interfaccia sulla membrana è ovviamente la **solubilità** della specie reiettata: raggiunte queste condizioni, l'ulteriore apporto convettivo di soluto

comporta il crearsi di uno **strato di deposito** di precipitato sulla membrana. La reiezione si quantifica mediante il **coefficiente intrinseco di reiezione**  $R_m = 1 - C_{i,f}/C_{i,m}$  che però risulta di difficile misurazione, occorrendo determinare la concentrazione all'interfase membrana-soluzione. Si introduce perciò il **coefficiente apparente di reiezione**  $R = 1 - C_{i,f}/C_{i,b}$ , nella cui espressione figurano concentrazioni facilmente determinabili.

### 6.3) Polarizzazione di enzimi su membrane di ultrafiltrazione

Si consideri il sistema di Figura 60: un recipiente a **perfetta miscelazione**, di volume  $V_R$ , equipaggiato con una membrana **piana** ultrafiltrante di area  $A_m$ , e riempito con una soluzione acquosa nella quale sia sciolto enzima per una massa  $M_E$ . Si supponga inoltre che il recipiente sia attraversato da una portata volumetrica  $Q$  di soluzione **esente da ulteriore enzima**. L'apparecchiatura testé descritta, qualora venga alimentata con del substrato, si comporta da **reattore CSTR** e come tale viene correntemente impiegata nell'industria biotecnologica.

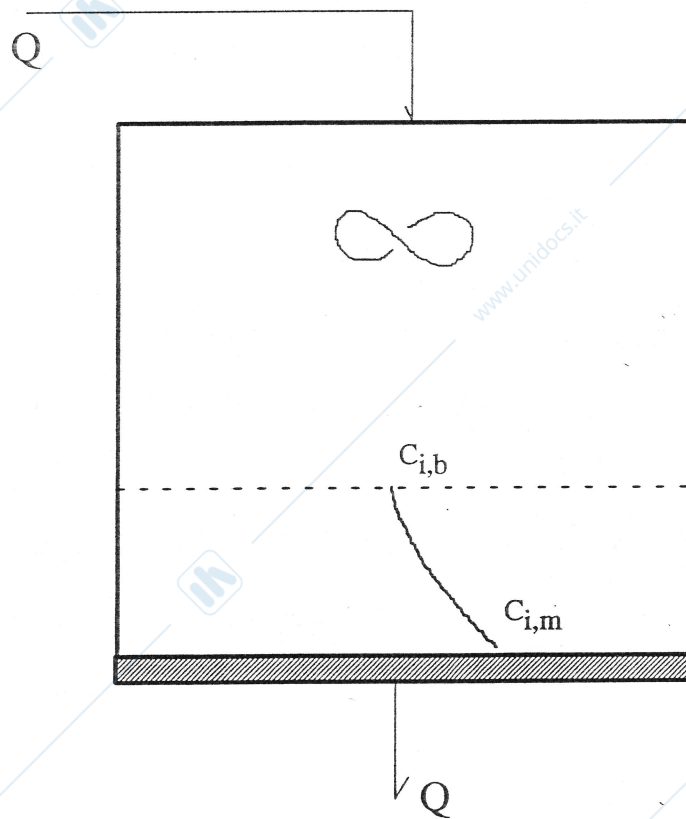


FIGURA 6.3.1: Ultrafiltrazione di una soluzione enzimatica

La basilare ipotesi di **perfetta miscelazione** è però particolarmente critica per l'enzima perché la proteina, **reiettata al 100%**, darà ovviamente luogo al fenomeno della polarizzazione. Infatti, per quanto sia efficiente la miscelazione, non potrà evitarsi l'esistenza di uno strato **stagnante** attiguo alla membrana. In condizioni di regime stazionario, non essendoci flusso di enzima filtrato, il profilo di concentrazione del catalizzatore nello strato limite proximale alla membrana sarà tale da garantire il bilanciamento fra il flusso convettivo, tendente a portare la proteina a ridosso della membrana, e la controdiffusione, che tende ad allontanarla da essa. Effettuando un bilancio di materia sull'enzima nel volume elementare compreso fra le ascisse  $z$  e  $z + dz$  e passando al limite si ottiene:

$$d^2[E]/dz^2 + (u_z/\mathcal{D}_E)d[E]/dz = 0 \quad (6.3.1)$$

dove con  $u_z$  si è indicata la **velocità media** del liquido verso la membrana, ovvero il rapporto  $Q/A_m$ .

La (6.3.1) necessita di due condizioni al contorno che, non possedendosi informazioni sullo stato del sistema in  $z = 0$ , non sono ivi agevolmente ponibili. Piuttosto, si osservi come debba esistere tutta una zona di reattore, l'ascissa del cui inizio **non è nota a priori**, che risulta del tutto **esente da enzima**. Ciò suggerisce una prima condizione:  $z \rightarrow \infty, [E] = 0$ . D'altra parte, l'intero ammontare di enzima deve essere presente nella volume di reattore **compreso** tra  $z = 0$  e l'inizio di tale zona. La seconda condizione può quindi scriversi:

$$M_E = \int_0^{\infty} A_m[E](z)dz \quad (6.3.2)$$

L'equazione differenziale di bilancio manca del termine in  $[E]$  ed è pertanto agevolmente integrabile, ottenendosi:

$$[E](z) = -C_1(\mathcal{D}_E/u_z)\exp[-(u_z/\mathcal{D}_E)z] + C_2 \quad (6.3.3)$$

La costante  $C_2$  è, per la **prima** delle condizioni al contorno, **nulla**. La  $C_1$  si ricava effettuando l'integrazione indicata dalla condizione (6.3.2). Dopo alcuni passaggi, che per brevità si omettono, si ricava l'equazione del profilo di concentrazione dell'enzima in prossimità della membrana:

$$[E](z) = (M_E u_z / A_m \mathcal{D}_E) \exp[-(u_z / \mathcal{D}_E)z] \quad (6.3.4)$$

Definendo lo strato limite come la **porzione di spazio** in cui è contenuto il **99% del totale dell'enzima** caricato nel reattore, se ne può calcolare lo spessore  $\delta$ :

$$0.99M_E = \int_0^{\delta} A_m[E](z) dz \quad (6.3.5)$$

da cui:

$$\delta = \log(100) \mathcal{D}_E / u_z \quad (6.3.6)$$

Ora, essendo le proteine specie altomolecolari, le **diffusività in acqua degli enzimi** sono abbastanza basse, tipicamente dell'ordine di  $10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$ ; circa  $u_z$ , si osservi che questo è dato dal rapporto  $Q/A_m$ : pur variando le permeabilità a secondo del **tipo** di membrana e delle **condizioni operative**, un valore tipico può essere considerato  $3 \times 10^{-4} \text{ cm}^3/(\text{s cm}^2)$ . Inserendo tali quantità nella (6.3.6) si calcola uno **spessore dell'ordine della decina di micron**: in altri termini, lo strato in cui è effettivamente contenuto il biocatalizzatore può essere parte estremamente esigua rispetto al totale.

Possedendo lo spessore dello strato limite, il valor medio della concentrazione proteica al suo interno si calcola come rapporto tra  $0.99M_E$  ed il **volume** dello strato: lo studente verifichi che esso risulta circa il 21% della concentrazione massima, la quale si ottiene dalla (6.3.4) ponendo  $z = 0$ :

$$[E]_{\max} = M_E u_z / A_m \mathcal{D}_E \quad (6.3.7)$$

Assumendo che la **concentrazione nominale**, ovvero il rapporto tra la **massa totale** di enzima ed il **volume** del recipiente, sia dell'ordine di  $1 \text{ mg/cm}^3$ , stanti le espressioni testè ricavate si può stimare che la concentrazione dell'enzima all'interfacie liquido-membrana sia **centinaia** di volte maggiore. Ciò non deve sorprendere, in quanto il modello sviluppato presuppone che il profilo dinamico di concentrazione si sviluppi interamente nello strato limite, cioè in uno spessore di qualche decina di micron. Naturalmente, va richiamato che la formulazione precedente è descritta in termini di una velocità  $u_z$ , cioè ammettendo che il flusso convettivo sia a **pistone**: è chiaro che **migliore sarà l'efficacia della miscelazione** all'interno del reattore, **minore** risulterà la probabilità che localmente si verifichi tale condizione fluidodinamica, con la conseguente riduzione delle concentrazioni enzimatiche all'interno dello strato limite.

#### 6.4) Fenomeni di gelificazione degli enzimi

Come si è visto, il flusso convettivo di solvente tende a "schiacciare" il biocatalizzatore in prossimità della superficie della membrana ultrafiltrante: in presenza del fenomeno della polarizzazione, quindi, la concentrazione dell'enzima all'interno dell'apparecchiatura tende per definizione ad essere **disomogenea**. Se però il dispositivo di agitazione meccanica è ben progettato, esso imporrà alla soluzione una **velocità caratteristica** (quella di rimescolamento del liquido) sufficiente a garantire che la convezione forzata trasporti la proteina allontanandola dalla membrana. E' quindi possibile realizzare un reattore CSTR enzimatico impiegando sistemi in flusso a membrana ultrafiltrante, a patto che si ponga la dovuta cura, in fase di progetto e di conduzione, atta a garantire la perfetta miscelazione in ogni punto del reattore.

Tuttavia, esistono circostanze nelle quali espressamente **non** si impiega la miscelazione, ed è particolarmente interessante entrare nel dettaglio dei fenomeni che in tale condizione si manifestano. Se il bulk è privo di agitazione, lo sviluppo del profilo di concentrazione nello strato limite è del tutto indisturbato, e la concentrazione proteica in prossimità dell'interfacie con la membrana può agevolmente attingere il limite di solubilità  $C_{i,g}$ , in corrispondenza del quale si verifica la **gelificazione**. Le interazioni **intermolecolari**, normalmente inefficaci per l'elevata distanza fra le singole molecole, divengono significative a causa della concentrazione **localmente** elevatissima. Le singole molecole di enzima si associano, formando un reticolo **tridimensionale insolubile**, il quale intrappola elevate quantità d'acqua fra le sue maglie: ha luogo a formarsi un **idrogelo**, che precipitando ricopre in strato sottile la superficie della membrana, e nel quale il biocatalizzatore è presente in forma **eterogenea**, perché esso costituisce una fase separata e distinta rispetto alla soluzione che fluisce attraverso l'apparecchiatura. Il passo delle maglie reticolari è sufficientemente ampio da consentire il trasporto di substrato all'interno del gel, dove la presenza di acqua garantisce un microambiente propizio all'atto catalitico: il sistema eterogeneo conserva quindi aliquote **molto significative** dell'attività posseduta **inizialmente** dalla proteina in forma **solubile**. Inoltre, l'instaurarsi di legami fra le singole molecole rende queste meno libere di oscillare: ne consegue che spesso la stabilità termica dell'enzima così **immobilizzato** risulta molto migliorata rispetto a quella del biocatalizzatore libero.

L'utilizzazione pratica di una tale tecnica richiede però ulteriori interventi. Infatti, proprio per la scarsa intensità delle interazioni che ne causano la formazione, l'idrogelo è **reversibile**, e può facilmente verificarsi il processo inverso di **solubilizzazione**, secondo i meccanismi di seguito illustrati. La deposizione avviene perché il moto convettivo d'insieme continua ad accumulare proteina anche quando questa ha raggiunto il limite di solubilità: da quell'istante in poi, la portata

massica di enzima in arrivo è bilanciata da una eguale velocità di gelificazione e **dalla controdiffusione** che tende ad allontanare la proteina verso il bulk. Il fenomeno si arresta quando la superficie del gel, **in contatto con la soluzione al limite di gelificazione**, è sovrastata da uno **strato limite residuo**, nel quale il gradiente di concentrazione promuove la controdiffusione, bilanciando così il flusso convettivo. La situazione dinamica che si instaura in tale condizione nell'ambiente prossimale alla membrana è schematizzata in Figura 6.4.1.

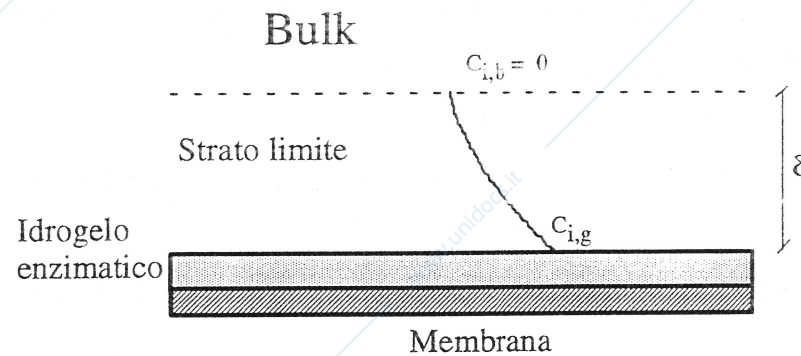


FIGURA 6.4.1: Gelificazione di un enzima su membrana ultrafiltrante

Si supponga ora di arrestare il flusso convettivo cessando così di alimentare l'apparecchiatura: il gradiente di concentrazione permarrà, e la controdiffusione ne promuoverà l'annullamento mercé il moto retrogrado diffusivo di enzima verso il bulk. Conseguentemente, la concentrazione in corrispondenza della superficie di separazione tra gel e fase liquida **decrenerà**, ed il sistema tenderà a ripristinare il valore di equilibrio sottraendo ulteriore proteina al gel per portarla in fase liquida. Il processo si arresterà solamente quando si ripristineranno le condizioni iniziali, allorquando tutta la proteina si sarà ridisciolta e avrà dato luogo ad una soluzione omogenea identica a quella di partenza.

Dalla precedente disamina, lo studente avrà senza dubbio compreso che le caratteristiche di stabilità dell'idrogelo **dinamico** non sono tali da consentirne un uso pratico in un dispositivo industriale continuo: anche se l'alimentazione non venisse mai arrestata, infatti, basterebbe **variarne la portata** per alterare lo stato di **equilibrio** precedentemente raggiunto. Per ovviare a questo inconveniente, si può adottare la seguente procedura (si faccia riferimento alla Figura 6.4.2). La cella di ultrafiltrazione C, termostata a 4 °C, è alimentata dalla **pompa P** che preleva la soluzione di deposizione (usualmente tampone a pH intorno a 3) dal **serbatoio S** e genera la differenza di pressione necessaria a vincere la resistenza transmembrana. Fra pompa e cella è interposta una **valvola a due vie V** la quale consta di un percorso di by-pass tra i punti **2 e 3** e di un collegamento

diretto tra i punti **1** e **4**. In condizioni iniziali la soluzione segue il cammino **S-P-1-4-C**. Il tubo di by-pass può quindi essere **rimosso**, **riempito** della necessaria soluzione di enzima, e **ricollegato** senza interrompere il flusso né rilasciare la **pressione** nella cella. Dopodiché si devia la valvola: il flusso segue ora la via **S-P-1-2-3-4-C**, trascinando all'interno della cella la proteina, che dà luogo alla deposizione secondo quanto prima descritto. Il fenomeno è **favorito** dalla bassa temperatura e questa prima fase dura in genere il tempo necessario a far eluire dal sistema soluzione per un volume pari a circa dieci volte quello della cella. A questo punto, la valvola viene nuovamente deviata, ed il by-pass riempito con una soluzione in grado di gelificare **irreversibilmente** (ad esempio, **albumina preventivamente reticolata con glutaraldeide**) e che viene immessa in cella con le stesse modalità di prima. Una volta immessa in flusso, la seconda soluzione gelifica irreversibilmente al **disopra** del precostituito gel enzimatico e dà luogo ad un sistema a **doppio strato**, molto più stabile del semplice idrogel enzimatico. Infatti, è ora possibile sostituire la soluzione di deposizione con una di substrato al pH di reazione, innalzare la temperatura fino al valore desiderato, ed il sistema lavorerà allora come **reattore eterogeneo a membrana ultrafiltrante**, esprimendo attività catalitica spesse volte del tutto stabile per estesi lassi temporali.

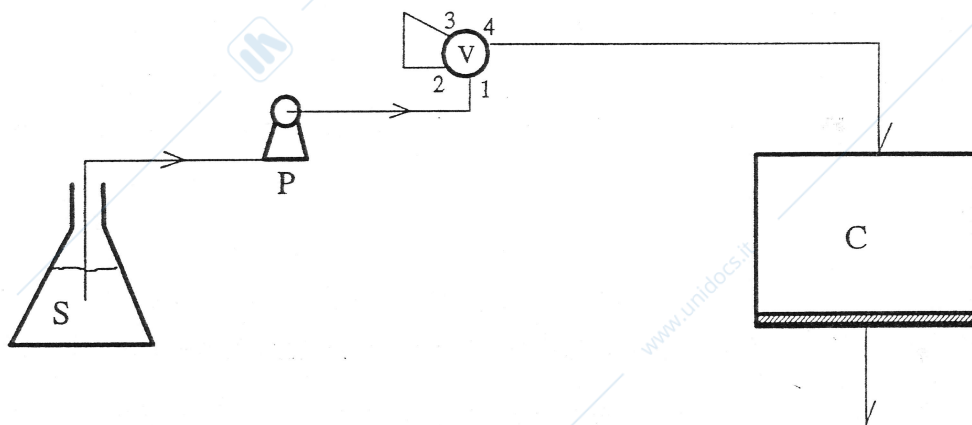


FIGURA 6.4.2: Schema dell'apparecchiatura per la gelificazione controllata di enzimi

6.5) Reattori PFR a membrana ultrafiltrante

Nei precedenti paragrafi si sono descritti l'impiego di membrane ultrafiltranti per realizzare reattori CSTR ad enzima solubile ed un dispositivo continuo operante in catalisi eterogenea. Queste configurazioni, impiegando **membrane piane**, soffrono di un difetto basilare: l'area della **superficie ultrafiltrante** coincide con la **sezione** dell'apparecchiatura, ed è quindi ridotta. Per realizzare elevati flussi transmembrana senza imporre al sistema proibitive sovrappressioni, l'unica possibilità è riposta nell'incremento dell'area di base del reattore, ma ciò ne varia in proporzione anche il **volume**.

Grandi superfici di filtraggio possono essere **compattate** in volumi di apparecchiatura relativamente **ridotti** impiegando membrane di ultrafiltrazione a **configurazione tubolare**: si tratta di **capillari** di polimero filtrante ricoperti da un rivestimento **concentrico** di materiale di supporto (vedi Figura 6.5.1).

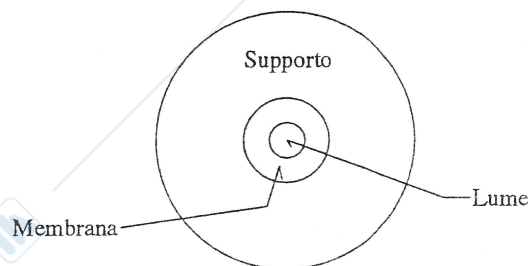


FIGURA 6.5.1: Vista in sezione trasversa di una membrana ultrafiltrante tubolare

Questi sistemi, se sottoposti ad una pressione **interna** maggiore di quella **esterna**, danno luogo ad un flusso di attraversamento della membrana diretto in senso **radiale**. Il procedimento di gelificazione degli enzimi sulla superficie ultrafiltrante può essere soddisfacentemente realizzato anche per le membrane tubolari e quindi, a causa della loro geometria cilindrica, esse si prestano alla realizzazione di reattori di tipo PFR. Per stipare elevata superficie filtrante all'interno di volumi ridotti di apparecchiatura si ricorre ad un disposizione in tutto simile a quella di uno **scambiatore di calore a tubi e mantello**, esemplificata in Figura 6.5.2 per soli quattro capillari, ma che nella pratica si realizza impiegando anche un **centinaio** di elementi. Come si può osservare, le membrane sono disposte in **parallelo** nel reattore ed alloggiare nel mantello. Applicando una differenza di pressione tra ingresso (A) ed uscita (B) del reattore, si promuove il flusso **assiale** nel **lume** delle membrane. Nel **vano** del mantello (V) dell'apparecchiatura vige una pressione **inferiore** a quella dell'interno delle membrane, per cui la soluzione di substrato è forzata a permeare i capillari in senso radiale. Se

ne realizza così l'intimo contatto con il gel enzimatico, preventivamente deposto secondo la tecnica del doppio strato, ed avviene una conversione a prodotto molto spinta. La portata volumetrica complessiva transmembrana è ovviamente inferiore a quella assiale tra A e B e la soluzione permeata, raccolta nel vano del mantello, viene scaricata in continuo dal punto C. Il grosso della soluzione esce dal punto B e contiene un' aliquota di prodotto anch'essa, ma principalmente del **substrato non reagito**, per cui può essere **ricircolata** in testa all'apparecchiatura, provvedendo a reintegrarla con una corrente di rinfresco in ammontare pari alla portata permeata.

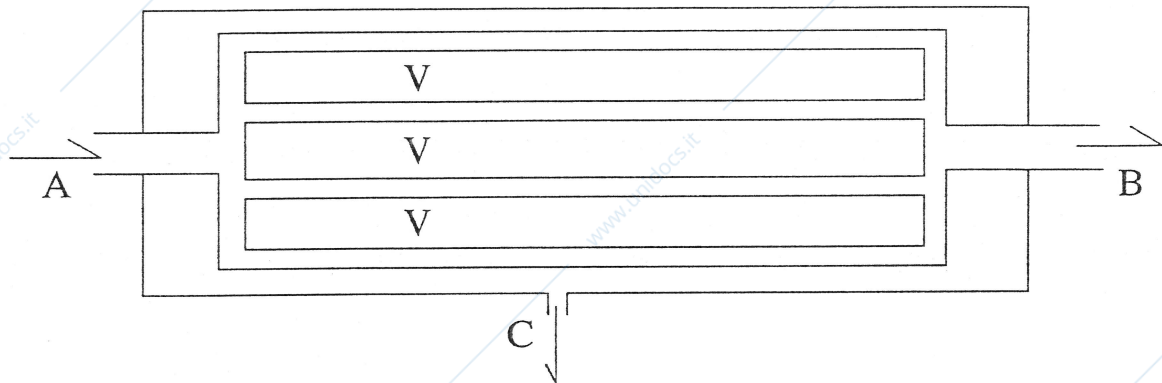


FIGURA 6.5.2: Rappresentazione schematica di un modulo a membrane tubolari

Adottando configurazioni simili a quella testé descritta si riesce a caricare il reattore con elevati ammontari di gel enzimatico, concentrando così grandi attività catalitiche in piccoli volumi di apparecchiatura. Anche i reattori PFR a membrana non sono però esenti da difetti: ad esempio, essi sono sicuramente più **complessi** da **realizzare** e da **gestire** dei sistemi a membrana piana ed i ridotti **diametri interni** dei capillari ingenerano rilevanti **perdite di carico** per realizzare le richieste portate volumetriche di soluzione. Il progettista orienterà quindi la sua scelta tra le due configurazioni di reattore valutando attentamente i pro e i contro di ciascuna di esse.

#### 6.6) Sforzi meccanici e disattivazione degli enzimi

E' a questo punto opportuno soffermarsi su una delle tipiche considerazioni imposta dalla natura biochimica del catalizzatore all'attenzione di chi intenda sviluppare una **ingegneria delle reazioni enzimatiche**. Si è precedentemente evidenziato che, per evitare i fenomeni di polarizzazione nei

reattori ad enzimi solubili, bisogna realizzare elevate **velocità relative** tra **soluzione** e **superficie ultrafiltrante**. L'enzima verrà quindi sottoposto ad elevati **stress meccanici** a causa del gradiente di velocità all'interfaccia, e ne può conseguire una **disattivazione** dovuta alle **distorsioni** subite dalla macromolecola, a contatto con **filetti fluidi** contigui ed animati da **velocità** diverse.

A titolo d'esempio, si consideri una soluzione enzimatica di viscosità  $\mu$ , in moto **laminare** attraverso un **tubo** di raggio **R** e lunghezza **L**, sotto una differenza di pressione  $\Delta\pi$  tra la sezione di ingresso e quella di uscita. Ovviamente, si instaura un profilo di velocità assiale **parabolico** rispetto all'ascissa radiale **r**:

$$u_z(r) = [1 - (r/R)^2]R^2\Delta\pi/4\mu L \quad (6.6.1)$$

Il gradiente di velocità, dato da:

$$-du_z/dr = (\Delta\pi/2\mu L)r \quad (6.6.2)$$

risulta **dipendere** da **r**, assume il suo valore **massimo** in corrispondenza della **parete** e quello **minimo** all'asse. Se la perdita di attività enzimatica si può ritenere direttamente correlata all'esistenza del gradiente di velocità, è allora evidente che **non tutte le molecole in flusso attraverso il sistema sperimenteranno la stessa disattivazione**, perché lo stress meccanico che subiranno dipenderà dall'ascissa radiale in corrispondenza della quale si muovono.

La disattivazione da stress meccanico si può con buona approssimazione ritenere un **processo attivato**. Detta  $k_d$  la sua costante, si ha allora:

$$k_d = k_{d0}\exp[-(E_a/\tau \Delta V)] \quad (6.6.3)$$

dove  $\Delta V$  rappresenta la differenza di **volume molare** tra lo stato molecolare **attivo** e quello **disattivato** e  $\tau$  lo **sforzo di taglio** che, per la legge di **Newton**, è dato dal prodotto della viscosità per il gradiente locale di velocità calcolato secondo la (6.4.2). Inserendo tale equazione costitutiva nella (6.4.3) si ottiene:

$$k_d(r) = k_{d0}\exp[-(2E_a L/\Delta\pi \Delta V)(1/r)] \quad (6.6.4)$$

Questa funzionalità evidenzia che la disattivazione da stress meccanico all'interno del sistema cresce **non linearmente dall'asse del tubo verso la parete**. Per ottenere la **velocità di disattivazione media**, occorre pesare i  $k_d$  **locali** sul corrispondente valore della **portata massica** che a quella ascissa radiale si verifica. Dette  $\underline{w}$  e  $w$  rispettivamente le portate massiche **medie** e **puntuali**, la funzione di peso è allora:

$$(1/\underline{w})dw/dr = (4/R)[(r/R)-(r/R)^3] \quad (6.6.5)$$

Lo studente può verificare che vale anche la:

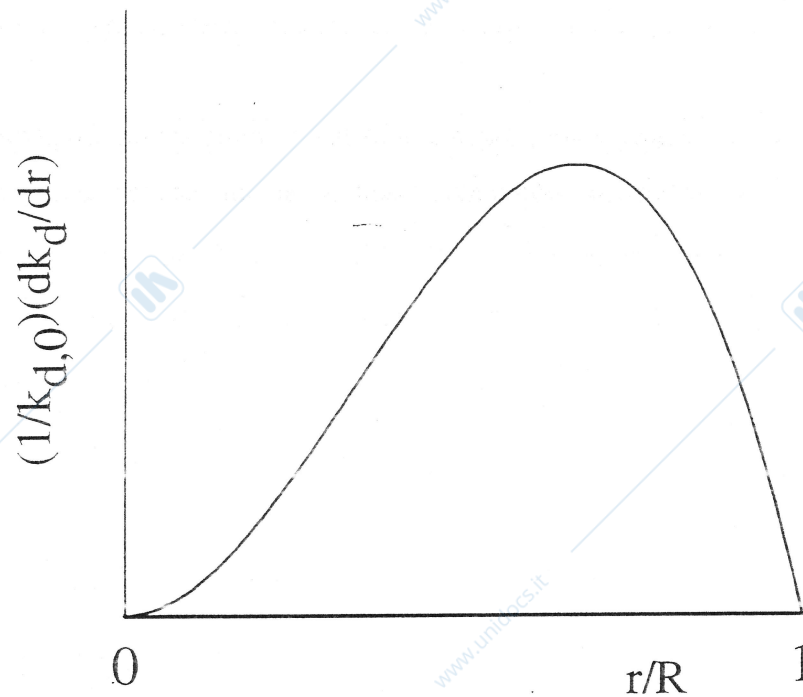
$$dw/\underline{w} = (u_z(r)/\underline{u} [E])(dA/A) = [(2u_z(r)/\underline{u} R^2)rdr] \quad (6.6.6)$$

con  $A$  area della **sezione trasversa** del tubo,  $dA$  **area elementare**,  $\underline{u}$  **velocità assiale media**,  $[E]$  **concentrazione della soluzione enzimatica**.

Combinando le equazioni (6.6.5) e (6.6.6) si ottiene il richiesto valore della costante di disattivazione media:

$$\underline{k}_d = \int_0^R k_{d0} e^{-(2E_a L / \Delta \pi \Delta V)(1/r)} (4/R)[(r/R)-(r/R)^3] dr \quad (6.6.7)$$

Pur senza pervenire all'integrazione della (6.6.7) è però importante rilevare le caratteristiche della distribuzione radiale della disattivazione, la quale è rappresentata in Figura 65. All'asse del tubo ( $r/R = 0$ ), **non c'è contributo** alla disattivazione, perchè ivi il gradiente di velocità è **nullo**. Anche l'enzima che si trova alla parete ( $r/R = 1$ ) **non contribuisce** alla disattivazione globale, pur essendo in quel punto **massimo** il gradiente di velocità, perchè ivi è **nulla** la **portata massica**. Per un noto teorema di analisi, allora, la funzione deve attingere un **estremo** nell'intervallo che, come si può osservare dalla Figura, non si presenta in corrispondenza dell'ascissa 0.5 perchè **la distribuzione non è simmetrica**. Va infine rilevato che l'area sottesa dalla curva di distribuzione rappresenta ovviamente la ricercata costante media di disattivazione. Le argomentazioni qui sviluppate rappresentano solo un primo approccio al problema, che presenta aspetti molto complessi: lo studente desideroso di approfondire l'argomento troverà utili spunti nella letteratura scientifica specializzata.

FIGURA 6.6.1: Distribuzione radiale del  $k_d$  da stress meccanico

### 6.7) Reattori tubolari privi di membrana ultrafiltrante

Il PFR enzimatico può essere realizzato anche senza ricorrere all'impiego di membrane capillari, semplicemente **immobilizzando** la proteina sulla **superficie interna della parete** di un tubo. Nel seguito verrà presentata una semplice modellazione del comportamento di questo tipo di sistema. Non potendo ovviamente sussistere flusso convettivo radiale, il campo di velocità può ritenersi ad **una sola componente**, quella **assiale**: in particolare, poiché per definizione vigono condizioni di **flusso a pistone**, il moto sarà in **regime turbolento**. (Vedi Figura 6.7.1). Il film deposto è di **spessore così ridotto** da poter considerare che esista un **solo strato molecolare** di enzima: conseguentemente, il **diametro del reattore** coincide con quello del **tubo di supporto**. Ad ogni ascissa  $z$ , il liquido a diretto contatto con la superficie reattiva sperimenta un depauperamento di substrato, che innesca la formazione di un gradiente di concentrazione di substrato **lungo  $r$  nello strato limite** fra il **bulk**, in moto di attraversamento dell'apparecchiatura, e la superficie reattiva. Pur essendo evidente che i fenomeni di trasporto associati all'atto reattivo sono complessi, è tuttavia

possibile adottare alcune semplificazioni per rendere analiticamente risolvibile il bilancio di materia nel reattore, pervenendo tuttavia ad un'equazione di utilizzo pratico.

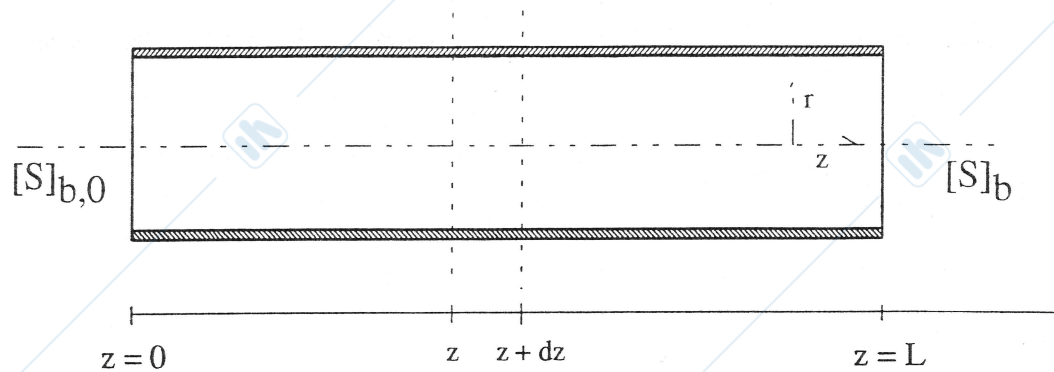


FIGURA 6.7.1: Rappresentazione schematica di un PFR ad enzima immobilizzato

Si assuma che ad ogni ascissa  $z$  la concentrazione nel bulk sia **uniforme**, talché sussista un profilo di concentrazione **assiale** nel **bulk**,  $[S]_b(z)$ , al quale è **associato** un analogo profilo di concentrazione assiale in corrispondenza dell'**interfase** fra liquido e superficie enzimatica (cioé, per  $r = R$ ), e sia quest'ultimo  $[S](z)$ . Al profilo di interfase competono concentrazioni **minori** di quelle **corrispondenti** nel bulk: in tal modo è promosso il flusso radiale di substrato nello stato limite stagnante necessario a **bilanciare** il tasso di conversione **locale** a prodotto. Effettuando quindi un bilancio sul volume di controllo delimitato dalle ascisse  $z$  e  $z + dz$ , si ottiene:

$$\begin{aligned} u_z(\pi D^2/4)([S]_b|_z - [S]_b|_{z+dz}) &= \pi D dz (-r_S) & (6.7.1) \\ \text{in - out} &= \text{gen} \end{aligned}$$

dove con  $-r_S$  si è indicata la velocità **superficiale** di scomparsa del substrato che si supponrà descrivibile in termini di una cinetica di Michaelis e Menten e con  $u_z$  la velocità assiale della soluzione. Passando al limite, si ottiene allora l'equazione differenziale di bilancio:

$$-d[S]_b/dz = (4/Du_z)V_{max}[S]/(K_M+[S]) \quad (6.7.2)$$

Si osservi che la (6.7.2), pur rappresentando un'equazione semplificata, **non** è integrabile, perché contiene le **due** funzioni incognite  $[S]$  e  $[S]_b$ . E' tuttavia opportuno adimensionalizzarla, introducendo le seguenti variabili:  $\xi = z/L$ ,  $\sigma = [S]/[S]_{b,0}$ ,  $\sigma_b = [S]_b/[S]_{b,0}$ ,  $K = K_M/[S]_{b,0}$ , ed ottenendo:

$$-d\sigma_b/d\xi = (4\tau V_{max}/D[S]_{b,0})\sigma/(K+\sigma) \quad (6.7.3)$$

dove  $\tau$  è il tempo medio di permanenza nel reattore. La (6.7.3) va risolta con le condizioni al contorno  $\xi = 0$ ,  $\sigma_b = \sigma = 1$ .

Si osservi che, ad ogni ascissa  $z$ , si riproducono i fenomeni descritti nel capitolo sulla **catalisi eterogenea** modellando il sistema con **enzima immobilizzato sulla superficie esterna** di una lamina di solido, ovvero un **trasporto interfase di materia in serie ad una reazione superficiale**. In perfetta analogia con quel caso, allora, la richiesta relazione **locale** tra  $\sigma$  e  $\sigma_b$  è:

$$\sigma_b = \sigma + Da\sigma/(K+\sigma) \quad (6.7.4)$$

in cui il **numero di Damköhler** risulta **funzione di  $z$** . Differenziando la (6.7.4) si ricava:

$$d\sigma_b = [1 + DaK/(K+\sigma)^2]d\sigma \quad (6.7.5)$$

Sostituendo la (6.7.5) nella (6.7.3) e separando le variabili si perviene alla:

$$\int_{\sigma}^1 [K/\sigma + 1 + Da/\sigma - Da/(K+\sigma)]d\sigma = \int_0^1 (4\tau V_{max}/D[S]_{b,0})d\xi \quad (6.7.6)$$

Effettuando gli integrali indicati, infine, si ottiene l'equazione del profilo di concentrazione all'**interfase enzima-soluzione**:

$$1-\sigma-(K+Da)\log(\sigma)-\sigma-Da(\log[(K+1)/(K+\sigma)]) = 4\tau V_{max}/D[S]_{b,0} \quad (6.7.7)$$

Si osservi che il profilo è ottenuto in forma **implicita**. Inoltre, come prevedibile, esso dipende da **tutti i parametri** che hanno ruolo nel regolare il sistema, ossia la **saturazione** rispetto alle **condizioni di ingresso**, il numero di **Damköhler** (in cui, si ricordi, si annida il **coefficiente di trasporto di materia**), il **tempo di residenza** nell'apparecchiatura continua, l'**attività dell'enzima**, la **geometria del reattore**. Infine, si osservi attentamente il gruppo adimensionale a secondo membro della (6.7.7): si vede agevolmente che esso misura il **rapporto** tra la velocità di reazione **massima** ( $V_{max}$  moltiplicato la superficie laterale del tubo) e la velocità **massima di apporto convettivo** di substrato al sistema (portata volumetrica per concentrazione di substrato all'ingresso del reattore).

Nel seguito verranno illustrate le forme assunte dall'equazione di bilancio in corrispondenza dei due casi limiti della cinetica di Michaelis e Menten.

### Ordine 1 di reazione

In questo caso risulta  $K \gg 1$ , per cui la relazione (6.7.4) si riduce a  $\sigma_b = (1+Da/K)\sigma$  ed è agevole dimostrare che il corrispondente profilo di velocità nel bulk risulta:

*concentrazione*

$$\log(1/\sigma_b) = (4\tau V_{max}/[D[S]_{b,0}]/(Da + K)) \quad (6.7.8)$$

Ma, poiché risulta  $X_S = 1 - \sigma_b$ , si ricava la seguente relazione fra la **conversione** ed i parametri operativi:

$$X_S = 1 - \exp[4\tau V_{max}/(D[S]_{b,0}(K+Da))] \quad (6.7.9)$$

L'equazione (6.7.9) necessita di alcune osservazioni. Intanto, se il reattore è in condizioni di cinetica del primo ordine all'**ingresso**, lo sarà a maggior ragione ad ogni **successiva ascissa assiale**, stante l'**inevitabile consumo di substrato** che si verifica: quindi, la correttezza dell'equazione del profilo è in questo caso garantita dal valore di  $[S]_{b,0}$ . Inoltre, se  $Da \rightarrow 0$ , non sussistendo resistenza al trasporto, le concentrazioni di **bulk** e di **interfase coincidono**, e tutto avviene come se l'ammontare di enzima, **distribuito sulla superficie laterale** del cilindro elementare tra  $z$  e  $z+dz$ , fosse uniformemente **disciolto nel volume** di esso. Il gruppo  $4\tau V_{max}/D$  rappresenta allora un **termine di velocità di reazione assimilabile al  $V_{max}$  volumetrico**, e la (6.7.9) degenera nella:

$$X_S = 1 - \exp[\tau V_{max}/[S]_{b,0}K] = 1 - \exp(-\tau \mathbf{1}k) \quad (6.7.10)$$

in cui  $\mathbf{1}k$  è la pseudo costante del primo ordine. Si osservi, peraltro, che la relazione così ricavata tra **conversione** e **tempo di residenza** è quella valida per un normale reattore PFR, nel quale il sistema in esame degenera con le ipotesi semplificative fatte.

### Ordine zero di reazione

In questo caso risulta  $K \ll 1$  e  $-r_S = V_{max}$ , e quindi la (6.7.4) si riduce a  $\sigma_b - \sigma = Da$ : sostituendo queste relazioni nel bilancio ed integrando, si otterrà:

$$(1 - \sigma_b) = X_S = 4\tau V_{max}/(D[S]_{b,0}) \quad (6.7.11)$$

Si tenga presente che il vigere all'**ingresso** del reattore della condizione di **ordine zero** non garantisce che ciò si mantenga fino all'**uscita**, a causa ovviamente del depauperamento di substrato indotto nella corrente dalla reazione. Inoltre, lo studente rilevi come nell'equazione del profilo (6.7.11) **non** compaia  $Da$ , ovvero il sistema **prescinde** dalle condizioni di **trasporto** di materia. Infatti, da un lato, in perfetta analogia con il caso sviluppato per la lamina piana nel capitolo sulla catalisi eterogenea, ad ogni ascissa lungo il reattore vale la relazione  $\eta = (1 - \sigma)(K+1)/Da$ , dall'altro per cinetica di ordine zero risulta  $1 - \sigma = Da$ . Dal che si evince che  $\eta = K + 1 = 1$  e cioè si sperimenta ovunque efficienza unitaria, per cui il trasporto di materia non può pesare sul funzionamento del sistema.

## 6.8) Reattori a letto fisso

Esiste un'ulteriore configurazione reattoristica che, sotto alcune ipotesi, si comporta in modo molto simile ad un PFR: il reattore **tubolare a letto fisso**. Si supponga di disporre di pellet porosi di diametro  $d$ , recanti all'interno un enzima immobilizzato, e di impaccarli dentro un tubo di lunghezza  $L$  e diametro  $D$ . Nella ragionevole ipotesi in cui risulti  $d/D \ll 1$ , le caratteristiche del letto

biocatalitico risulteranno allora uniformi all'interno di tutta l'apparecchiatura. Per esempio, esso sarà caratterizzato dal **grado di vuoto**  $\epsilon$ , ossia dal **rapporto** tra il **volume interparticellare** e quello del **reattore**: orbene, si ammette che questa sia una proprietà **globale**, e quindi che le caratteristiche dell'impaccamento **non** dipendano dalla **posizione**.

Alimentando l'apparecchiatura con una soluzione di substrato, il liquido, nel percolare attraverso il letto per effetto della differenza di pressione applicata tra ingresso ed uscita, percorrerà un cammino **tortuoso**, dettato dalla conformazione degli spazi vuoti tra un pellet e l'altro. Il campo di moto risulterà allora molto complesso e non descrivibile localmente. Tuttavia, **mediamente** il liquido tenderà a muoversi in direzione assiale ed in ogni sezione esso incontrerà molti pellet: ne consegue che si può ritenere il flusso a **pistone**, con un'unica componente  $u_z$ . Sotto questo insieme di ipotesi, è dunque possibile trattare lo spazio all'interno del dispositivo come un **continuum**, ed effettuare un bilancio di materia in termini **differenziali** (vedi Figura 6.8.1).

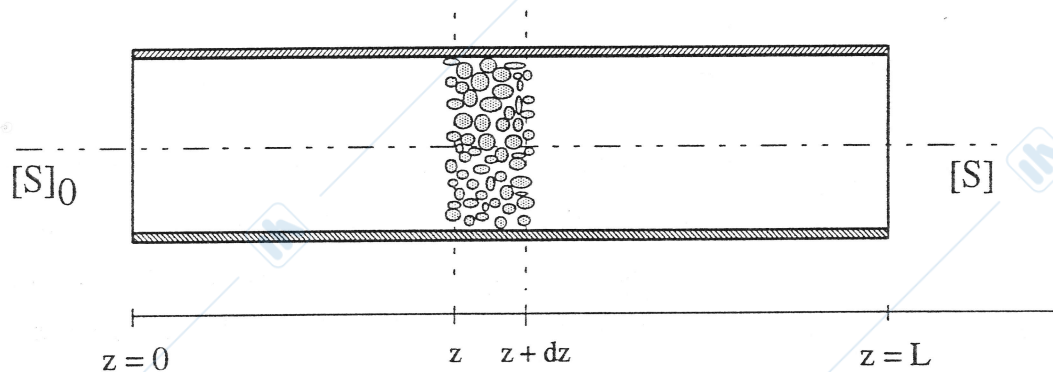


FIGURA 6.8.1: Rappresentazione schematica di un reattore a letto fisso

Naturalmente, l'atto catalitico avverrà esclusivamente all'interno dei pellet. La **discontinuità** spaziale tra fase solida e liquida viene portata in conto tramite  $\epsilon$ , e quindi il bilancio sul substrato si particolarizza in:

$$u_z(\pi D^2 \epsilon / 4) ([S] \Big|_z - [S] \Big|_{z+dz}) = (-r_S)(1 - \epsilon)(\pi D^2 / 4) dz \quad (6.8.1)$$

Si osservi come, nella (6.8.1), il grado di vuoto entri a **primo membro** per ottenere la vera **sezione** di attraversamento a partire da quella del tubo, ed a **secondo membro** per computare il vero **volume** di reazione a partire da quello dell'elemento di controllo entro cui si opera il bilancio: il

termine di reazione  $r_S$  risulta pertanto espresso per **unità di volume di pellet**. Passando al limite si ottiene:

$$-d[S]/dz = (1/u_z)[(1-\epsilon)/\epsilon](-r_S) \quad (6.8.2)$$

La (6.8.2) va integrata con l'ovvia condizione al contorno  $z = 0$ ,  $[S] = [S]_0$ . Lo studente può verificare che, ipotizzando una legge cinetica di Michaelis e Menten, il risultato è:

$$-(K_M/V_{\max})\log([S]/[S]_0) + (1/V_{\max})([S]_0 - [S]) = (L/u_z)[(1-\epsilon)/\epsilon] \quad (6.8.3)$$

Osservando il secondo membro dell'equazione testé ottenuta, si vede che valgono le relazioni:

$$\begin{aligned} (L/u_z)[(1-\epsilon)/\epsilon] &= [(1-\epsilon)L(\pi D^2/4)]/[\epsilon u_z(\pi D^2/4)] \\ &= [\text{VOLUME}]/[\text{PORTATA VOLUMETRICA}] \quad (6.8.4) \\ &= \tau \end{aligned}$$

Ossia, compare il **tempo medio di permanenza** talché, in termini di **conversione** del substrato, può scriversi:

$$\tau = (K_M/V_{\max})\log[1/(1-X_S)] + ([S]_0/V_{\max})X_S \quad (6.8.5)$$

La (6.8.5), come prevedibile, è in tutto e per tutto identica all'equazione che si è ottenuta trattando il **PFR ideale ad enzima solubile**. Ciò implica che le prestazioni dei due reattori, a parità dei parametri che caratterizzano l'equazione di funzionamento che hanno in comune, sono **identiche**.

Tuttavia, il reattore a letto fisso può discostarsi dalle condizioni di funzionamento del PFR ideale qualora una o più delle ipotesi che ne hanno consentito il trattamento qui esposto venisse a mancare. In particolare, quando il moto della fase liquida non possa essere assimilato ad un flusso ideale a pistone (**cammini preferenziali, zone di ristagno**), e se ci fosse resistenza al trasporto nel film esterno alle particelle e/o all'interno di esse. Per quanto attiene il **flusso**, si rimanda ai testi di

**ingegneria delle reazioni chimiche**, nei quali le apparecchiature non ideali vengono ampiamente trattate: la natura biochimica del catalizzatore nulla altera rispetto a questo aspetto. Più consona agli scopi del presente corso è invece la trattazione delle problematiche connesse al trasporto di materia. Si consideri il caso in cui la resistenza al trasporto sia **concentrata nel film**. In letteratura esistono molte correlazioni mediante le quali, per quanto il campo di moto sia complesso, è possibile stimare un **coefficiente di trasporto di materia interfase**: naturalmente, l'**analisi dimensionale** garantisce che questo coefficiente dipende, tra l'altro, dalla **velocità relativa** tra **fase mobile** (il liquido) e **fase stazionaria** (il letto di particelle), cioè dalla **portata volumetrica** di alimentazione. Allora, se la cinetica espressa dal reattore è controllata dal trasporto di materia, **aumentando** la portata si dovrebbe osservare un corrispondente aumento della **velocità di reazione**, ovvero della **conversione all'uscita**. Tuttavia, aumentando la portata si **riduce il tempo di permanenza** del substrato nel reattore e, come per ogni apparecchiatura continua, ciò tende a far **diminuire** la conversione. I due effetti essendo **contrastanti**, è chiaro che non è possibile per questa via discriminare se un reattore a letto fisso sia o non sia controllato dal trasporto.

La procedura più corretta è allora la seguente. Si riscriva il bilancio di materia in questi termini:

$$\varepsilon u_z d[S]/dz = -(1 - \varepsilon)\rho_p A_{sp}[E]f([S]) \quad (6.8.6)$$

dove con  $f([S])$  si indica la **dipendenza dalla concentrazione di substrato** della legge cinetica costitutiva, con  $\rho_p$  la **densità delle particelle** ( $\text{g/cm}^3$ ), con  $[E]$  la **concentrazione intraparticellare di enzima** ( $\text{mg/g}$  di particella), con  $A_{sp}$  l'attività specifica ( $\text{UE/mg}$  enzima). Adimensionalizzando l'ascissa mediante la lunghezza  $L$  del reattore e separando le variabili si ottiene:

$$\int_{[S]_0}^{[S]} (1/f[S])d[S] = [(1 - \varepsilon)[E] L \rho_p A_{sp}]/(\varepsilon u_z) \int_0^1 d\xi \quad (6.8.7)$$

Si osservi che l'integrale a **primo membro** della (6.8.7) accorpa tutta la **funzionalità cinetica**, mentre a **secondo membro** compaiono le **proprietà del letto biocatalitico**. A destra del segno di uguaglianza, l'integrale vale ovviamente uno, mentre, moltiplicando e dividendo la restante quantità per la sezione del reattore, comparirà a numeratore la **massa del letto** ( $\rho_p \pi D^2 L(1 - \varepsilon)/4$ ) ed a denominatore la **portata volumetrica** ( $\varepsilon u_z \pi D^2/4$ ). In altri termini, a secondo membro

dell'equazione di bilancio è presente a denominatore la **portata volumetrica per unità di massa catalitica**: essa rende il nome di **velocità spazio**, e si indica con  $\alpha$ .

Ecco allora una procedura sperimentale adeguata a discriminare se le condizioni operative siano tali da rendere significativa la resistenza interfase. Si approntano due reattori di lunghezza **diversa**, alimentati da una portata in **proporzione** alla massa catalitica che contengono. La (6.8.7) predice allora che i due sistemi devono dar luogo allo **stesso** valore dell'integrale a primo membro, cioè alla stessa **conversione in uscita**. Tuttavia, il reattore contenente più massa catalitica sperimenta una  $u_z$  **maggiore**, e quindi un miglior **coefficiente di trasferimento interfase**. Se vigono condizioni di controllo al trasporto, allora, esso deve dar luogo ad una conversione maggiore.

L'apparente incongruenza è dovuta al fatto che il modello sviluppato non considera affatto i fenomeni di trasporto, per portare in conto i quali, l'equazione cinetica costitutiva contenuta nell'integrale a primo membro della (6.8.7) dovrebbe contenere, oltre ai fattori squisitamente cinetici, anche quelli di trasporto: in particolare, un'efficienza non unitaria, che moltiplica l'espressione della legge cinetica, e che tende ad aumentare al crescere del coefficiente di trasporto.

Infine, per quanto attiene la verifica della sussistenza di controllo da parte del trasporto **interfase**, basterà **ridurre la pezzatura delle particelle**, mantenendo **fisso** ogni altro parametro operativo. Se controlla il trasporto, la riduzione della dimensione caratteristica dei pellet, comportando la diminuzione del **modulo di Thiele** ad essi relativo, darà luogo ad un **aumento** della conversione in uscita al reattore.