

3) REATTORISTICA ENZIMATICA

3.1) Introduzione

Nell'industria biotecnologica è necessario condurre le reazioni catalizzate da enzimi su scala maggiore di quella di laboratorio. A tal fine si impiegano **reattori enzimatici**, i quali non differiscono sostanzialmente da quelli dell'industria chimica tradizionale. La natura biologica del catalizzatore induce però la necessità di un opportuno adeguamento delle apparecchiature, dei sistemi di controllo e delle modalità di conduzione degli impianti alle specifiche caratteristiche degli enzimi.

In questo capitolo verranno pertanto esaminate le equazioni di bilancio relative ai principali modelli di **reattori ideali**, mettendo in risalto le peculiarità che insorgono a causa della presenza in essi di un biocatalizzatore. I reattori eterogenei verranno invece trattati a valle della parte di corso che riguarda l'immobilizzazione degli enzimi.

Un processo di trasformazione può essere a **basso valore aggiunto** oppure ad **alto** valore aggiunto, a seconda della differenza di valore commerciale fra prodotto e reagente. Se il valore aggiunto è basso, la convenienza economica si basa sulla **grande scala** ed occorre realizzare alte **produttività**. Tali processi hanno usualmente luogo in reattori **continui**, ovvero apparecchiature in grado di scambiare materia col mondo esterno. Quando invece il valore del prodotto di reazione è molto elevato rispetto al reagente, la scala è usualmente molto minore e si devono ottenere elevate purezze. Reazioni del genere vengono condotte spesso in reattori discontinui di dimensioni relativamente piccole. L'industria biotecnologica opera sia processi a basso che ad alto valore aggiunto, e fa largo uso di ogni tipologia di reattore.

3.2) Reattore batch

Il reattore viene riempito con un certo volume V di soluzione contenente il substrato alla concentrazione $[S]_0$ ed il conteggio del tempo di reazione parte dall'istante in cui viene introdotto l'enzima. Non essendo il reattore interessato da ulteriori scambi di materia col mondo esterno, il bilancio sul substrato può scriversi:

$$r_s = \frac{d[S]}{dt} \quad (3.1)$$

Definendo la **conversione** del substrato $X_S = ([S]_0 - [S])/ [S]_0$ ed introducendo tale relazione nella (3.1) si perviene all'equazione differenziale di bilancio:

$$r_S = [S]_0 \frac{dX_S}{dt} \quad (3.2)$$

che va integrata con la condizione iniziale $t = 0$, $[S] = [S]_0$. La risoluzione dell'equazione consente il progetto del reattore, cioè il calcolo del tempo di reazione richiesto per una determinata conversione del substrato. Per risolvere la (3.2) occorre specificare la **forma dell'equazione costitutiva** per $-r_S$. Cionondimeno, è possibile trarre importanti informazioni generali senza ancora specificare l'equazione cinetica di scomparsa del substrato. Infatti, se al tempo di reazione t_R si è raggiunta la conversione finale X_f , allora in forma simbolica deve risultare:

$$\frac{t_R}{[S]_0} = \int_0^{X_f} \frac{dX_S}{(-r_S)} \quad (3.4)$$

Il tempo di reazione è proporzionale all'area sottesa dalla curva $(-1/r_S)$ fra le ascisse $X_S = 0$ e $X_S = X_f$ (Figura 3.1).

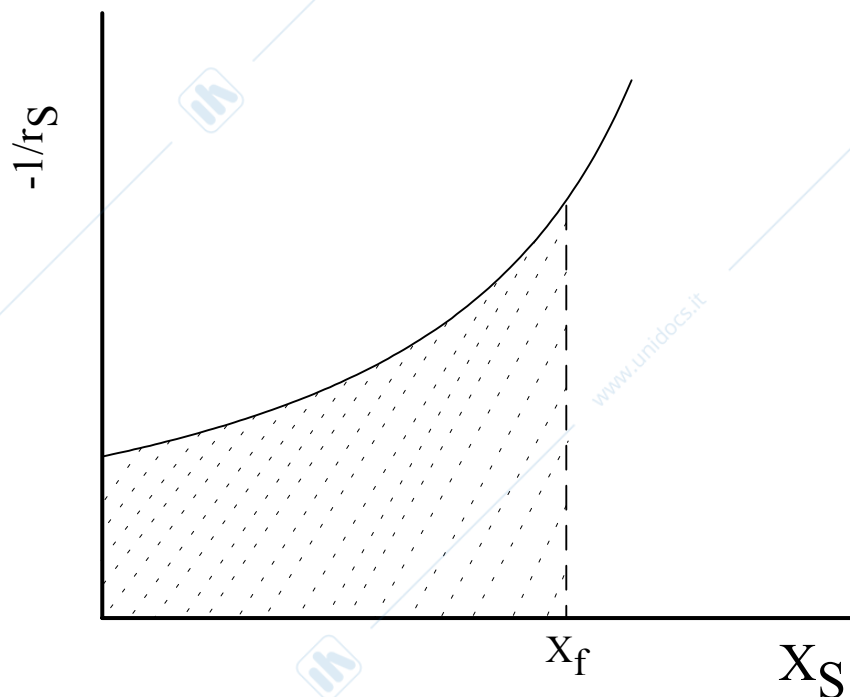


FIGURA 3.1. Calcolo grafico per il progetto del reattore batch

3.3) Reattore CSTR

C'è un modello a perfetta miscelazione anche per i reattori continui, indicato con l'acronimo **CSTR** (= **C**ontinuous **S**tirred **T**ank **R**eactor) e rappresentato in Figura 3.2.

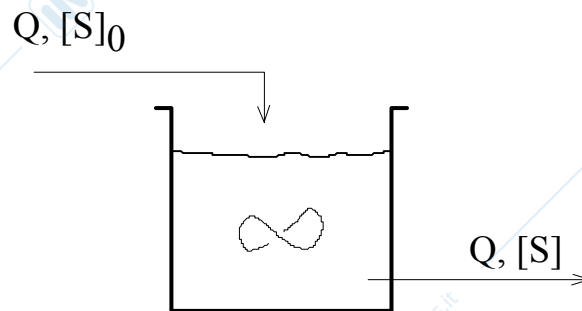


FIGURA 3.2. Rappresentazione schematica del reattore CSTR

Anche questo è un sistema a parametri concentrati rispetto allo spazio. Considerandone il funzionamento in condizioni di regime stazionario si concentra anche rispetto al parametro tempo, e quindi il bilancio di materia sul substrato genera un'equazione **algebraica**:

$$Q[S]_0 = Q[S] + V(-r_s) \quad (3.5)$$

(Velocità di Ingresso) = (Vel. Uscita) + (Vel. di Reazione)

dove Q è la portata volumetrica, V il volume del reattore ed il pedice "0" indica condizioni di ingresso al reattore. Introducendo anche in questo caso la conversione del substrato e raggruppando i termini si ottiene:

$$\frac{\tau}{[S]_0} = \frac{X_s}{(-r_s)} \quad (3.6)$$

dove $\tau = V/Q$ rappresenta il **tempo medio di permanenza** nel reattore. L'equazione di progetto (3.6), rappresentata nel piano $(X_s, -1/r_s)$, stabilisce che per un CSTR il tempo di permanenza (e quindi il volume del reattore, assegnata la portata) è proporzionale all'area del rettangolo avente per base la porzione di asse delle ascisse compresa tra l'origine e la conversione in uscita dal reattore X_f e per altezza l'ordinata corrispondente a quest'ultima sulla particolare curva cinetica (Figura 3.3).

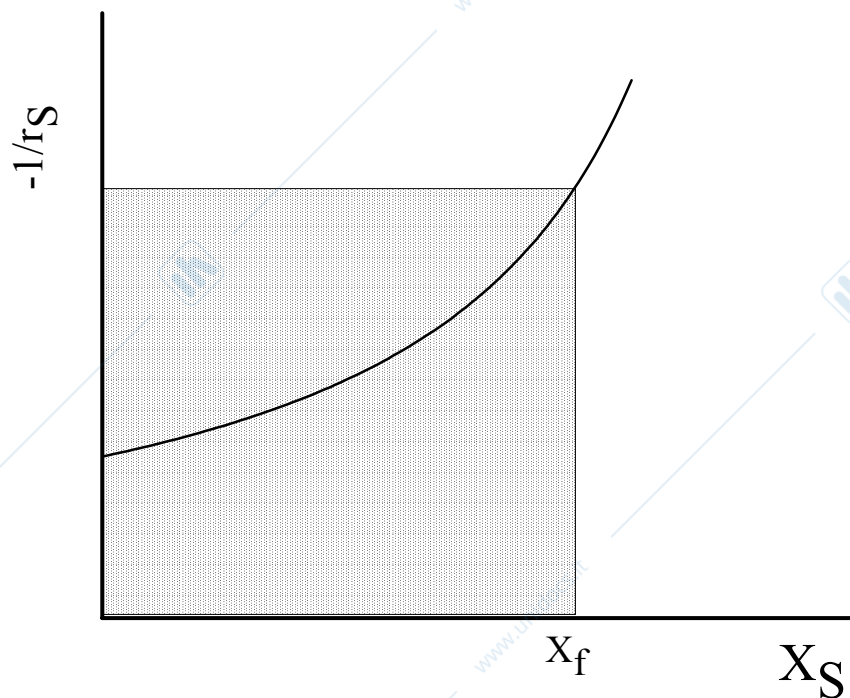


FIGURA 3.3. Calcolo grafico per il progetto del reattore CSTR

Il CSTR, per definizione, **lavora alle condizioni di uscita**: ossia, per l'ipotesi di perfetta miscelazione, la concentrazione di qualsiasi specie chimica all'interno del reattore è pari a quella che si registra all'uscita.

3.4) Reattore PFR

Esiste un secondo modello di reattore ideale continuo: il **PFR o reattore tubolare con flusso a pistone (Plug-Flow Reactor)**, così denominato perché si ammette per esso perfetta miscelazione lungo una qualsiasi sezione, e miscelazione nulla lungo la coordinata assiale (vedi Figura 3.4).

In altri termini, l'unica variabile spaziale distribuita è la coordinata z ; si postula cioè che la corrente che attraversa il reattore avanzi lungo l'asse assumendo valori di $[S]$ dipendenti solo dalla posizione z , né più né meno di come avanza la testa di un pistone all'interno di un cilindro. Per specificare la posizione di un punto qualsiasi della testa di un pistone non occorre definire altro che di quanto essa è avanzata all'interno del cilindro. Analogamente, per specificare il valore della concentrazione del substrato in un punto all'interno del

reattore PFR non occorre specificare altro che l'ascissa z misurata lungo l'asse del sistema dal punto di imbocco.

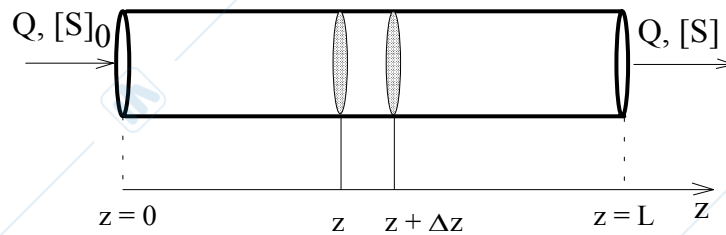


FIGURA 3.4. Rappresentazione schematica del reattore PFR

In regime stazionario l'equazione di bilancio sul substrato nel volume di controllo compreso fra le due sezioni all'ascissa z e $z + \Delta z$ (vedi Figura 3.4) dà luogo ad un'equazione differenziale nella variabile z . Infatti essa si scrive:

$$Q[S]_z - Q[S]_{z+\Delta z} = A(\Delta z)(-r_s) \quad (3.7)$$

$$\text{(Vel. di Ingresso)} - \text{(Vel. di Uscita)} = \text{(Vel. di Reazione)}$$

dove A è l'area della sezione del reattore. Facendo tendere a zero lo spessore del volume di controllo, si ottiene l'equazione differenziale di bilancio:

$$v_z \frac{d[S]}{dz} = r_s \quad (3.8)$$

con v_z velocità assiale ($v_z = Q/A$). L'integrazione formale della (3.8), effettuata con la condizione al contorno $z = 0$, $[S] = [S]_0$, fornisce l'equazione di progetto del reattore PFR. Introducendo la conversione essa può essere scritta nei termini:

$$\frac{\tau}{[S]_0} = \int_0^{x_f} \frac{dX_S}{(-r_s)} \quad (3.9)$$

Il tempo medio di permanenza è in questo caso definito come rapporto tra la lunghezza del reattore e la velocità assiale. Si osservi che la (3.9) è formalmente identica alla (3.4). Per l'ipotesi di totale assenza di miscelazione assiale, infatti, l'insieme di particelle di fluido che imboccano ad un certo istante il reattore lo percorrono tutte con la stessa velocità e senza interagire con altri elementi. Ai fini pratici, quindi, ognuno di quegli elementi di corrente fluida è un reattore batch il quale funziona per un tempo di reazione pari al tempo

τ che la particella impiega a percorrere l'intero reattore. L'equazione di bilancio globale, esprimendo la risultante di tutte le storie chimiche che competono alle singole particelle, non potrà che essere la stessa di quella relativa al reattore batch. E così il criterio grafico di progetto. **Riferendosi alla Figura 3.1, infatti, nel caso del PFR basterà sostituire t_R con τ .**

3.5) Confronto tra le prestazioni dei reattori continui

Laddove sia possibile impiegare indifferentemente un reattore PFR od un CSTR per realizzare un certo processo, a parità di altre condizioni è generalmente più conveniente usare il PFR. Infatti, confrontando le due Figure 3.1 e 3.3, si osserva che l'area sottesa alla curva cinetica è minore di quella del rettangolo relativo al CSTR. Poiché queste aree sono proporzionali al tempo di permanenza, se ne deduce che **a parità di portata volumetrica in alimentazione per raggiungere una certa conversione del substrato in uscita occorre un volume minore di reattore PFR rispetto a quello di CSTR.** Quest'affermazione è però valida se la curva cinetica è monotonamente crescente: cioè purché la r_S decresca al crescere di X_S . Questo dipende ovviamente dall'ordine di reazione rispetto al substrato. Nei casi in cui si registri eventualmente un ordine di reazione negativo la situazione si ribalta, come si può osservare in Figura 3.4.

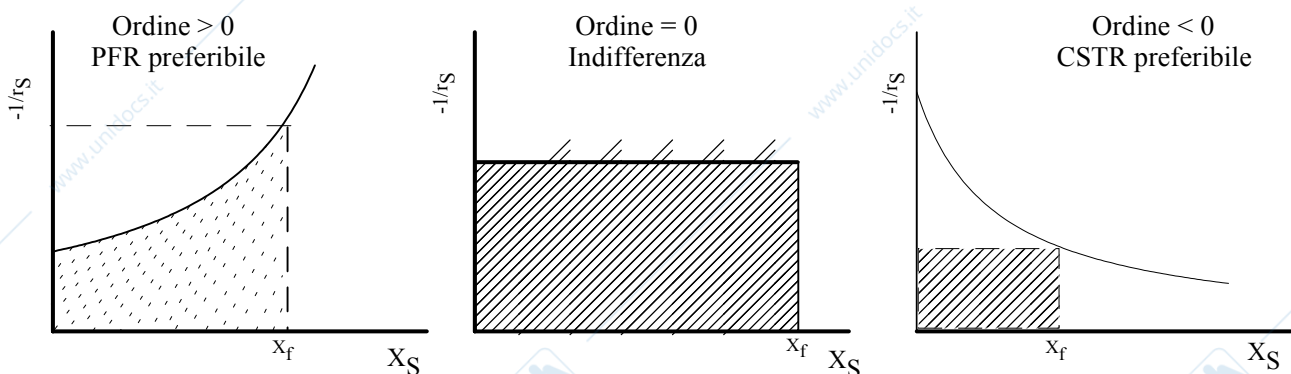


FIGURA 3.4. Dimensionamento dei reattori continui: effetto della cinetica

Per ordine zero di reazione ciascuno dei due tipi di reattore assicura lo stesso servizio, perché le due aree coincidono. Per ordine maggiore di zero il PFR è preferibile. Se l'ordine di reazione è negativo, risulta migliore il CSTR. Il "risparmio" di volume di reattore è in ogni caso indicato in bianco. Nel caso dell'inibizione da eccesso di substrato l'ordine di

reazione dipende dal livello di substrato residuo nel reattore e quindi dalla conversione. Il diagramma di progetto assume l'aspetto rappresentato in Figura 34, nella quale si osserva che la scelta del tipo ottimale di reattore dipende dal grado di conversione desiderato all'uscita. Si vede facilmente che esiste un valore X_i tale che, per conversioni minori di esso, conviene impiegare il CSTR, per conversioni maggiori il PFR. Se la conversione desiderata è proprio X_i , infine, si registra nuovamente l'indifferenza rispetto al tipo di reattore, perché le due aree non tratteggiate si equivalgono.

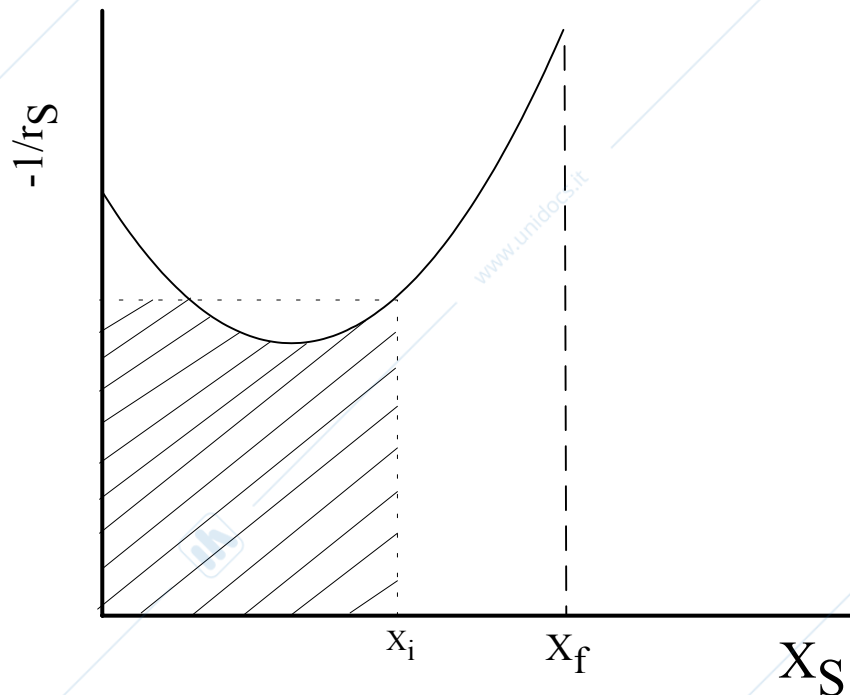


FIGURA 3.5. Progetto del reattore per l'inibizione da eccesso di substrato

3.6) Ottimizzazione di due CSTR in serie

Le considerazioni sviluppate circa il progetto grafico di reattori ideali singoli valgono anche per due o più reattori in serie. Ad esempio, ci si può chiedere se impiegando due CSTR in serie, dei quali il secondo abbia in alimentazione la corrente in uscita dal primo, a parità di X_f si possa impiegare un minor volume complessivo di apparecchiature.

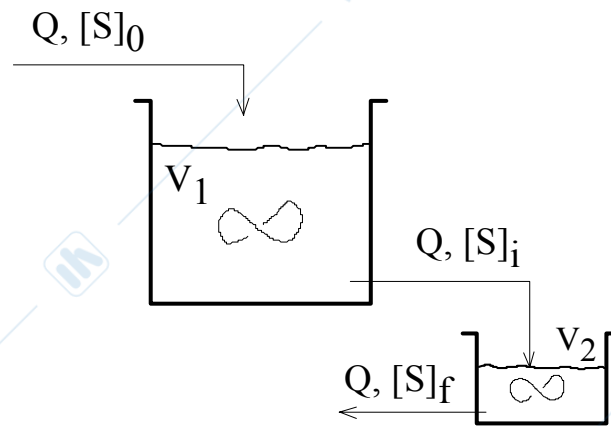


FIGURA 3.6. Schema di due CSTR in serie

Il primo reattore, di volume V_1 , lavora alla conversione intermedia X_i ed il secondo, di volume V_2 , non necessariamente uguale a V_1 , porta la conversione sino a X_f .

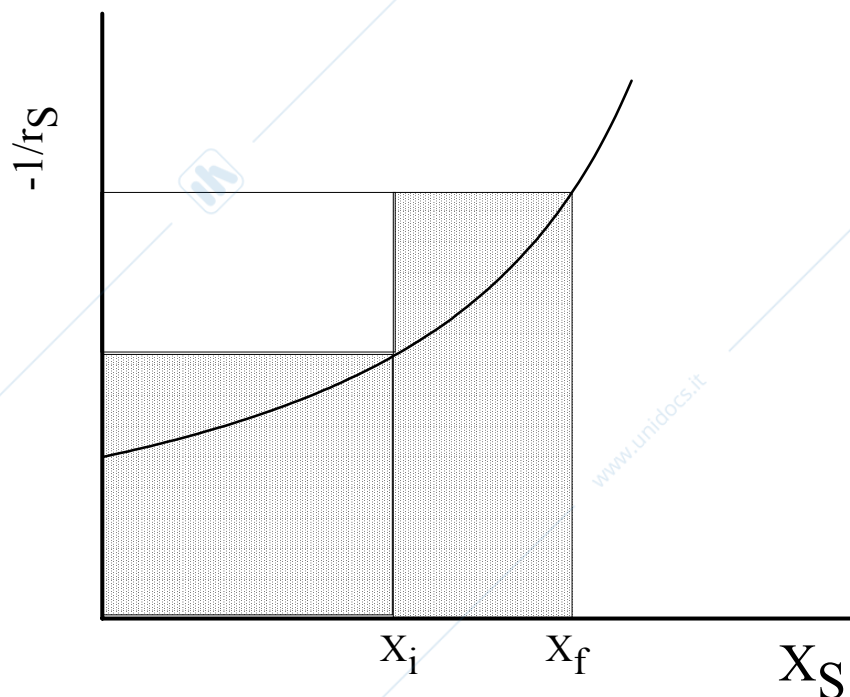


FIGURA 3.7. Progetto grafico per due CSTR in serie

Si considerino le aree tratteggiate in Figura 3.7. E' evidente che il sistema dei due reattori ha un volume complessivo minore di quello di un singolo reattore, perché si realizza un "risparmio" pari al rettangolo in bianco. Se ne deduce che due CSTR in serie sono sempre meglio di uno solo, purché i costi di impianto siano direttamente proporzionali al volume totale impiegato. Si osservi che n reattori in serie tendono a rendere la somma

delle aree dei rettangoli pari a quella sottesa dalla curva cinetica: cioè tendono a funzionare come un PFR di pari volume.

Circa la serie di due reattori, infine, ha significato chiedersi se esista un valore ottimo di X_i che renda minima la somma dei volumi dei reattori a parità di X_f . Se questo valore esiste, allora esso deve rendere massima l'area del rettangolo ABCD di Figura 3.8.

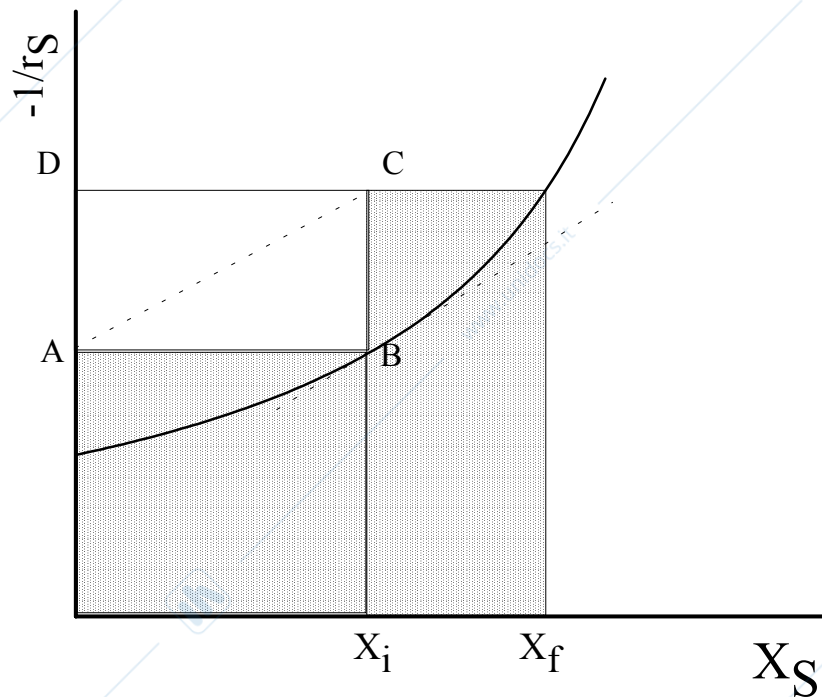


FIGURA 3.8. Ottimizzazione grafica di due CSTR in serie

L'area in questione si calcola dal prodotto $(\overline{AB}) \times (\overline{BC})$ ossia:

$$(\overline{AB}) \times (\overline{BC}) = (X_i) \left[\left(\frac{1}{-r_s} \right)_f - \left(\frac{1}{-r_s} \right)_i \right] \quad (3.10)$$

Derivata l'area rispetto a X_i ed uguagliando a zero si trova il massimo. Deve risultare:

$$\frac{d[(\overline{AB}) \times (\overline{BC})]}{dX_i} = \left(\frac{1}{-r_s} \right)_f - \left(\frac{1}{-r_s} \right)_i - X_i \frac{d\left(\frac{1}{-r_s} \right)}{dX_i} \quad (3.11)$$

ovvero:

$$\frac{d\left(\frac{1}{-r_s} \right)_i}{dX_i} = \frac{\left[\left(\frac{1}{-r_s} \right)_f - \left(\frac{1}{-r_s} \right)_i \right]}{X_i} \quad (3.12)$$

ovvero l'ottimo si trova nella posizione in cui la corda AC è parallela alla derivata alla curva cinetica.

3.7) Stabilità dei CSTR enzimatici

Il bilancio di materia in un CSTR può anche essere scritto sul prodotto. In condizioni di regime stazionario si avrà:

$$\begin{aligned} Q[P] = V(r_p) \\ \text{(Velocità di uscita)} = \text{(Vel. di generazione)} \end{aligned} \quad (3.13)$$

La (3.13) può essere scritta:

$$r_p = \frac{[P]}{\tau} \Rightarrow r^+ = r^- \quad (3.14)$$

dove si è indicato con r^+ e r^- rispettivamente la **velocità di generazione** di prodotto nel reattore e quella di **smaltimento** con la corrente uscente. E' chiaro che il CSTR lavorerà in regime stazionario in corrispondenza dell'esatto bilanciamento dei termini della (3.14). La rappresentazione grafica di ciò consiste nel fatto che il punto di funzionamento si trova in corrispondenza dell'intersezione delle due curve r^+ e r^- nel piano $(r, [P])$. Ora, in tale piano la r^- è rappresentata da una **retta passante per l'origine e di coefficiente angolare $1/\tau$ (retta di lavoro)**. L'andamento della curva r^+ , invece, dipende dall'equazione costitutiva specifica della cinetica enzimatica che si manifesta nel reattore. Tale legge dovrà ovviamente essere espressa in termini di $[P]$ e non di $[S]$, ma ciò è immediato perché tra prodotto e substrato deve verificarsi la **relazione stechiometrica**:

$$[S]_0 = [S] + \frac{[P]}{n} \quad (3.15)$$

dove n è il coefficiente stechiometrico. Espressa in termini differenziali la (3.15) fornisce:

$$d[S] = -\frac{1}{n}d[P] \quad (3.16)$$

Si consideri per esempio una cinetica di Michaelis e Menten. Risulta:

$$\frac{d(r_P)}{d[S]} = \frac{V_{\max}K_m}{n(K_m + [S])^2} > 0 \Rightarrow \frac{d(r_P)}{d[P]} < 0 \quad (3.17)$$

In altre parole, la curva r_P è **monotonamente decrescente**. Tutte le cinetiche di inibizione studiate, tranne quella da substrato, danno luogo a curve r_P monotonamente decrescenti, per cui **l'intersezione con la retta di lavoro non potrà che essere unica** e la concentrazione di prodotto in uscita dipenderà ovviamente dal tempo di residenza nel reattore, aumentando al crescere di quest'ultimo (Figura 3.9).

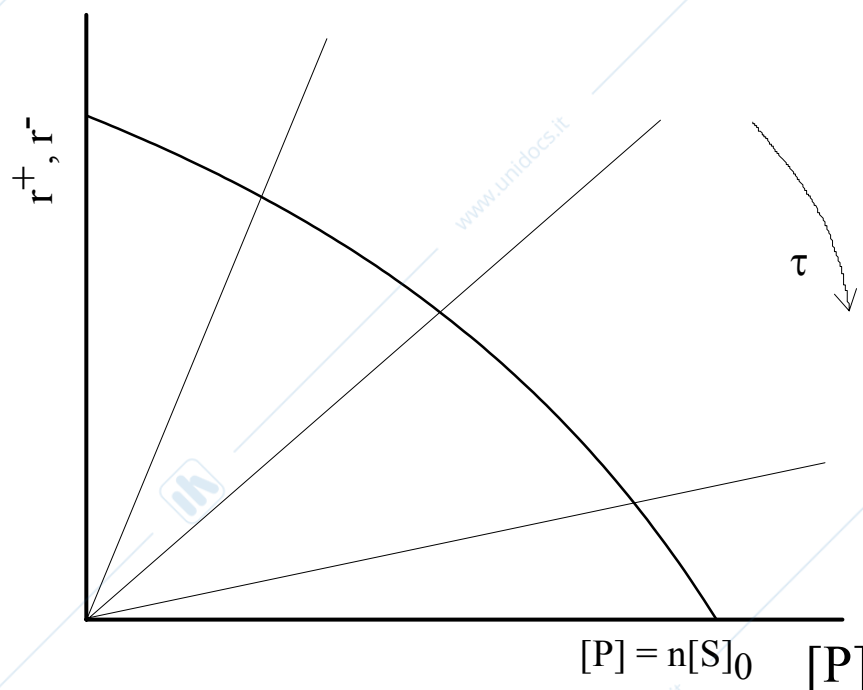


FIGURA 3.9. Risoluzione grafica del bilancio di materia in un CSTR

La legge cinetica dell'inibizione da **eccesso di substrato** dà luogo nel piano $(r, [P])$ ad una curva che non è monotona, e dunque possono aversi intersezioni multiple con la retta di lavoro (Figura 3.10). Ciò significa che **a regime esistono condizioni di funzionamento del reattore che possono realizzarsi con più di un valore della concentrazione di prodotto in uscita**. Se il sistema ammette più di una soluzione, è lecito chiedersi se tutte siano egualmente realizzabili ed in corrispondenza di quale di esse il reattore effettivamente funzionerà.

Quando un sistema ammette più di una soluzione di funzionamento, si pone un problema di **stabilità**. Una soluzione si definisce **localmente** stabile se, perturbando il sistema con una sollecitazione tendente ad allontanarlo dal punto di funzionamento, esso

reagisce annullandola. L'aggettivo locale implica che la sollecitazione deve essere **limitata**: nessun sistema è stabile a prescindere dall'entità del disturbo che subisce.

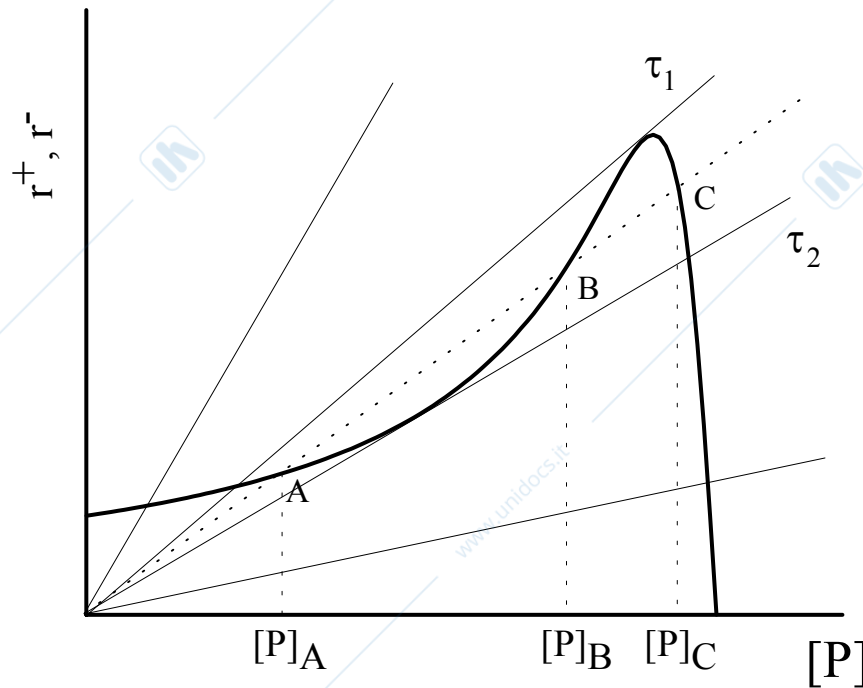


FIGURA 3.10. Soluzioni multiple per il CSTR con inibizione da substrato

Una soluzione si dice **instabile** se il sistema reagisce alla perturbazione **amplificandola, allontanandosi definitivamente** dal punto di funzionamento.

Il concetto di stabilità può essere ben spiegato da un'analogia meccanica. Ci si riferisca alla Figura 3.11, che rappresenta la traccia dell'intersezione di una superficie curva con il piano del foglio. La superficie è dotata di "valli", di "pianure" e di "picchi".

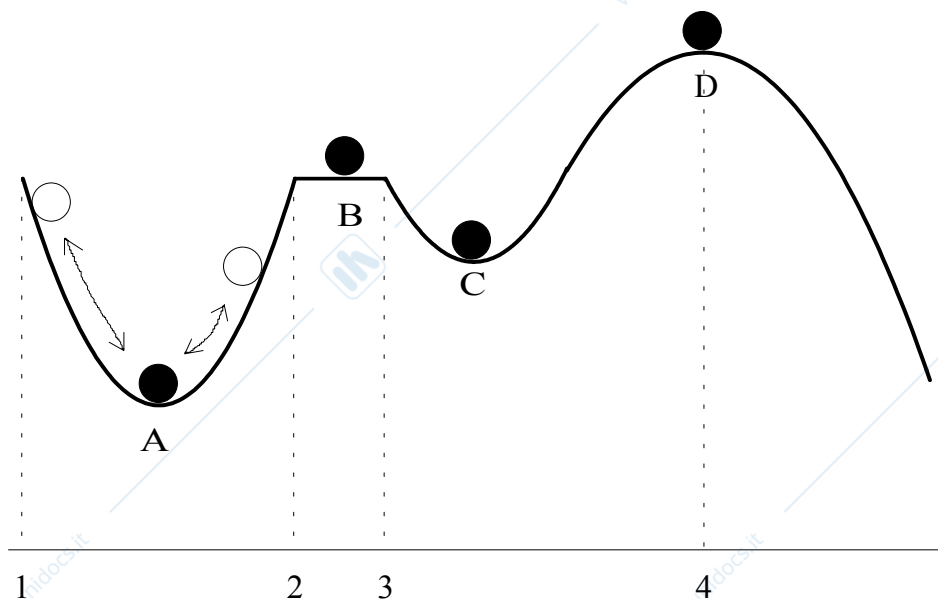


FIGURA 40. Esempificazione meccanica del concetto di stabilità

Una sferetta posta nella valle "A" è in una posizione di equilibrio localmente stabile poiché se la perturbiamo spostandola leggermente dal fondo valle essa tenderà spontaneamente a tornarvi. Se però lo spostamento è tale da farle varcare i limiti del segmento 1-2, essa abbandonerà la posizione di equilibrio. Per una sferetta posta in "C" la zona di stabilità è più ampia coincidendo essa con il segmento 3-4. La sferetta posta in "D" è in una posizione di equilibrio instabile perché uno spostamento anche infinitesimo dalla posizione in cui si trova verrà amplificato: se lo spostamento è verso sinistra, essa troverà la sua nuova posizione di equilibrio in "B", altrimenti in "C". Infine, la sferetta sita in "B" è in posizione di equilibrio localmente **indifferente**, perché per spostamenti compresi entro i limiti del segmento 2-3 essa tenderà a rimanere nella nuova posizione.

Riconsiderando ora il CSTR ed il relativo diagramma di Figura 3.10, sono evidenti le analogie. Nel caso delle sferette, il "motore" che le spinge a reagire alle perturbazioni è il potenziale gravitazionale che tende ad assumere spontaneamente il minor valore possibile. Nel caso del reattore, il motore è la **differenza netta fra le velocità di generazione e smaltimento del prodotto**. Si consideri la retta di lavoro tratteggiata ed il punto di intersezione "A". Se per un motivo qualsiasi il reattore è perturbato nel senso di aumento della concentrazione di prodotto $[P]$, esso reagirà tendendo ad annullare il disturbo. Ciò si deve al fatto che a destra del punto "A" la velocità di smaltimento è maggiore di quella di generazione, dato che la retta di lavoro si trova al disopra della curva cinetica. Se dal sistema esce prodotto ad un tasso maggiore di quello a cui viene generato, allora la concentrazione all'interno del CSTR tende ad abbassarsi, annullando così il disturbo. Se poi il sistema venisse perturbato nel senso di portarlo a sinistra del punto "A", trovandosi la curva di generazione al disopra della retta di smaltimento, la concentrazione tende ad aumentare ed ancora una volta il disturbo è annullato. E' facile convincersi che anche il punto di intersezione "C" gode di queste proprietà ed è quindi localmente stabile. Se l'entità della perturbazione nei punti stabili è tale da spostare la $[P]$ oltre il valore che compete al punto "B", allora il reattore si porterà a lavorare in corrispondenza dell'altro punto stabile. In "B" vi è instabilità. Infatti, se la perturbazione tende a spostare il punto di lavoro a destra, la velocità di generazione è maggiore di quella di smaltimento, e il reattore reagirà amplificando l'aumento di $[P]$ fino al punto "C". Se la perturbazione tende a spostare il punto di lavoro a sinistra, la situazione si inverte ed il reattore tenderà a portarsi in "A".

L'analisi di stabilità del CSTR enzimatico può essere generalizzata: si dimostra che un punto di funzionamento è stabile se nel suo intorno **la derivata della retta di smaltimento è maggiore di quella della curva di generazione**.

Non è naturalmente detto che un CSTR sede di catalisi enzimatica inibita dall'eccesso di substrato presenti sempre molteplicità di punti di funzionamento. Riferendosi alla Figura 3.10, è evidente che per tempi di permanenza $\tau \leq \tau_1$ e $\tau \geq \tau_2$ le intersezioni sono univoche. Ovviamente, una soluzione unica non può che essere stabile. Le rette di lavoro relative a $\tau = \tau_1$ ed a $\tau = \tau_2$ rappresentano situazioni limite in cui due delle soluzioni coincidono.