

Treball de Fi de Grau

Grau en Enginyeria Química

Bioreactor per a la obtenció de "building blocks" de fonts sostenibles

Disseny d'un bioreactor per a l'obtenció de 2,3-BDO, precursor del butadiè

MEMÒRIA

Autor: Alex Biosca Bosque
Director: Jordi Bou Serra
Convocatòria: Setembre 2018



Escola Tècnica Superior
d'Enginyeria Industrial de Barcelona

Agraïments

A nivell acadèmic, voldria agrair la realització d'aquest projecte principalment a en Jordi Bou, ja que a banda d'ajudar-me en la cerca d'informació, m'ha permès mantenir autèntics debats científics sobre els reactors, la química orgànica i fins i tot la microbiologia, tot plegat en el context del treball. També voldria destacar l'ajuda puntual que vaig necessitar del professor Miquel Casafont, que em va obrir la porta del despatx sense dubtar-ho.

A nivell professional, també voldria agrair la realització d'aquest projecte als meus companys de feina de Cetaqua i d'Aigües de Barcelona, ja que hi estic aprenent moltes coses i sobretot, m'està canviant la manera de afrontar problemàtiques o casos d'estudi, i això, de ben segur que ha afectat en el desenvolupament del projecte.

Finalment, a nivell personal, voldria agrair als meus pares i als meus amics la realització d'aquest projecte: la convivència amb ells m'ha ajudat molt a tirar endavant el projecte i en alguns casos fins i tot a debatre'n aspectes.

Resum

Aquest projecte és un disseny d'un sistema pilot de dos bioreactors i tots els seus components per a la producció de 2,3-butandiol a partir de glucosa en dissolució, mitjançant l'acció metabòlica del microorganisme *Bacillus vallismortis*, cenyint-se als principis i models de la Química Verda.

Tot i això, com que l'objectiu inicial d'aquest projecte era la producció de butadiè, seria necessari un segon projecte per al disseny del sistema de deshidratació del 2,3-butandiol per a l'obtenció de butadiè, i així, completar el disseny d'una alternativa de producció respecte a les rutes convencionals petroquímiques.

Actualment, el butadiè és un producte d'alt valor industrial, ja que és indispensable en el sector de la producció de cautxú sintètic. També té certa rellevància en altres sectors de la indústria química.

Una àmplia bibliografia s'ha emprat per a la realització d'aquest projecte, però són de destacar els articles científics que s'han consultat, entre els quals es destaca *Screening of novel bacteria for the 2,3-butanediol production*, que serveix com a principal referència pel que fa a conèixer la capacitat de producció del microorganisme escollit, i per tant, per conèixer la capacitat productiva del sistema a dissenyar.

Aquest projecte inclou plànols i dissenys en 3D del reactor mitjançant SolidWorks, així com l'explicació dels càlculs de les geometries i magnituds físiques del sistema. Fets els càlculs, es conclou una producció de 3000 kg de 2,3-butandiol per any mitjançant dos bioreactors cilíndrics de 425 L de volum que generen lots de 290 L. Les dimensions del reactors són de 1268 mm d'alçada per 685 mm de diàmetre, i tots dos compten amb els components auxiliars necessaris, dels quals se'n destaquen agitadors amb dos grups de pales Rushton, sistema d'aireació, control de pH i prescalfament d'entrada. Tot el conjunt es disposarà sobre una bastida mòbil.

També s'inclou un estudi de pressupost amb els diferents components i consums desglossats i un estudi de l'impacte ambiental.

Índex

AGRAÏMENTS	2
RESUM	3
ÍNDEX	4
1. PREFACI	7
1.1. Motivació del projecte	7
1.2. Abast del projecte	7
2. OBJECTIUS	8
2.1. Objectiu principal	8
2.2. Objectius particulars	8
3. INTRODUCCIÓ	9
3.1. Les biorefineries	9
3.2. La biomassa	9
3.2.1. Biomassa natural	10
3.2.2. Biomassa residual	11
3.2.3. Biomassa de cultius energètics	11
3.3. Green Chemistry	12
4. MICROORGANISMES	14
4.1. Caracterització	14
4.2. Fongs	15
4.3. Bacteris	16
4.4. Grups de risc	17
5. CREIXEMENT MICROBIÀ I SISTEMES DE REACCIÓ	19
5.1. Introducció al creixement microbià	20
5.2. Creixement microbià	20
5.3. Sistemes de reacció	23
5.3.1. Cinètica en reactor continu de mescla perfecta (CSTR)	25
5.3.2. Cinètica en reactor batch	26
5.3.3. Exemples de bioreactors	27
6. FONAMENTS DEL DISSENY	29
6.1. Butadiè	29
6.1.1. Ruta del petroli	30
6.1.2. Lébedev i Ostromislensky	31
6.1.3. Altre estratègies i els butandiols	32

6.2.	Ruta decidida	34
6.3.	2,3-Butandiol (2,3-BDO)	35
6.4.	Publicacions científiques.....	35
6.4.1.	<i>Screening of novel bacteria for the 2,3-butanediol production</i>	35
6.4.2.	<i>B. vallismortis sp. nov.</i>	39
6.5.	Influència de la quiralitat en la deshidratació	40
7.	CÀLCUL DEL SISTEMA I ELS SEUS COMPONENTS	42
7.1.	Producció desitjada.....	42
7.2.	Geometria del bioreactor	44
7.2.1.	Gruix del bioreactor	47
7.3.	Agitador.....	49
7.3.1.	Deflectors.....	53
7.4.	Control de pH.....	53
7.5.	Control de Temperatura.....	54
7.5.1.	Prescalfament	55
7.5.2.	Aïllant	56
7.6.	Aeració	58
7.6.1.	Obertura a l'atmosfera	60
7.7.	Sortida.....	60
7.7.1.	Ultrafiltració	60
7.7.2.	Destil·lació.....	61
7.7.3.	Deshidratació	62
7.8.	Aigua desionitzada i cultiu.....	64
7.9.	Glucosa	64
7.10.	Elements addicionals	64
7.10.1.	Ports.....	64
7.10.2.	Vàlvules	67
7.10.3.	Fixació casquet superior	67
7.10.4.	Estructura suport.....	67
7.10.5.	Soldadures.....	67
7.10.6.	Neteges.....	68
7.10.7.	Consum elèctric	68
7.10.8.	Consum d'aigua	69
7.10.9.	Personal tècnic.....	69
8.	DISSENY DEL BIOREACTOR	71
8.1.	Disseny 3D.....	71
8.2.	Plànols	75
9.	SEGURETAT	79

9.1. Equips de protecció individual (EPI)	79
9.2. Substàncies de risc.....	80
10. ESTUDI ECONÒMIC	82
10.1. Cost del projecte	83
11. ESTUDI DE L'IMPACTE AMBIENTAL	84
12. PLANIFICACIÓ DEL PROJECTE	85
13. CONCLUSIONS	86
13.1. Conclusions particulars	86
14. BIBLIOGRAFIA	87
15. ANNEX	91

1. Prefaci

1.1. Motivació del projecte

L'explotació del petroli i l'obtenció de productes a partir d'aquest ha suposat un canvi sense precedents en l'estil de vida de les persones, millorant enormement les condicions de vida i oferint noves oportunitats. No obstant, després d'un segle XX en el que el comportament genèric ha sigut de consum despreocupat tot i identificar efectes contaminants, al segle XXI hi ha l'obligació des de l'àrea de la Química, entre d'altres, de regular i controlar aquests aspectes nocius, així com de plantejar i dissenyar processos que permetin seguir obtenint els mateixos productes de maneres més amigables amb el medi ambient, tractant de mantenir el nivell de qualitat de vida assolit. La temàtica que tracta aquest projecte queda englobada totalment en aquest concepte, i de fet, d'una forma més profunda del que és habitual, ja que es planteja l'obtenció de productes mitjançant processos biològics, no simplement estratègies de síntesi.

El producte que tractarà aquest treball és el butadiè, molt important en la indústria del cautxú sintètic. A dia d'avui s'obté majoritàriament a partir del *cracking* del petroli, i per tant, es requereixen noves vies d'obtenció per tal d'adaptar-se als nous temps. Algunes empreses punteres ja n'estan plantejant i han posat recentment en funcionament plantes de producció de petita escala per tal d'anar explorant el comportament productiu i el rendiment d'aquestes opcions. El major repte és poder competir amb el butadiè obtingut per la via del petroli, doncs cada litre obtingut per aquesta via és enormement més econòmic que un litre obtingut a través de qualsevol altra via.

1.2. Abast del projecte

Davant d'aquesta situació en la indústria del butadiè, l'objectiu d'aquest treball serà trobar una via de producció basada en els principis de la Química Verda i en la participació de microorganismes en el procés.

Tot i que en un principi el propòsit del projecte era trobar una ruta directa que permetés la producció del butadiè, més endavant es descobreix que només es coneix un cas, en una col·laboració entre dues empreses, en el que s'està aconseguint una ruta d'aquest estil, i com era d'esperar, aquesta es troba totalment sota secret empresarial.

A partir d'aquest punt, l'abast del treball es modifica i es passa d'elaborar un projecte de disseny de bioreactor per a la producció de butadiè a un projecte que busca la producció de 2,3-butandiol, producte intermediari per a l'obtenció de butadiè.

No obstant, certs aspectes sobre la següent etapa a dur a terme després de l'obtenció de butadiè es comenten en apartats finals del projecte per poder conèixer de manera aproximada quines serien les operacions a seguir i el sistema a dissenyar. Per tant, aquesta segona etapa queda fora de l'abast del projecte.

2. Objectius

2.1. Objectiu principal

L'objectiu principal d'aquest projecte és l'estudi i disseny d'un bioreactor que permeti l'obtenció de butadiè o un producte intermig, per exemple el 2,3-butandiol, a partir de biomassa complint amb dos requisits: seguir els principis de la Green Chemistry i emprar participació microbiana per tal de reduir els passos fins obtenir els producte final. A efectes generals, aquest treball permet mostrar les capacitats adquirides pel que fa a les temàtiques de química, tecnologies del medi ambient o disseny gràfic, entre d'altres, realitzades durant el grau universitari.

2.2. Objectius particulars

Si es divideix l'objectiu principal en les diferents fases del treball, podem definir una sèrie d'objectius parcials que serien els següents:

- Estudiar i comprendre les diferents estratègies que existeixen avui en dia per a la producció de butadiè i apreciar perquè algunes tenen més èxit al mercat que d'altres.
- Investigar quins bacteris s'han utilitzat i se sap que poden funcionar per a la producció de butadiè, intentant que la conversió de biomassa a producte final es pugui realitzar en un sol pas, o en cas contrari, en el mínim número de passos possibles. Si l'obtenció de butadiè no pot ser directa, estudiar quins microorganismes podrien ser útils per a compostos intermitjos.
- Escollir un microorganisme que permeti una producció de butadiè òptima complint amb els principis de la Green Chemistry i estudiar la seva cinètica i conversió metabòlica. De la mateixa manera, si l'obtenció de butadiè no és directa, escollir un microorganisme adequat per al compost intermig en qüestió.
- Plantejar un ritme de producció anual, per tal d'oferir una alternativa a les estratègies actuals de mercat.
- Com a conseqüència dissenyar el bioreactor que haurà de tenir les característiques necessàries per tal de complir amb aquest ritme de producció i definir amb concreció els seus diferents elements.
- Realitzar un estudi econòmic per observar si es tracta d'una opció rendible.
- Realitzar un estudi d'impacte ambiental.

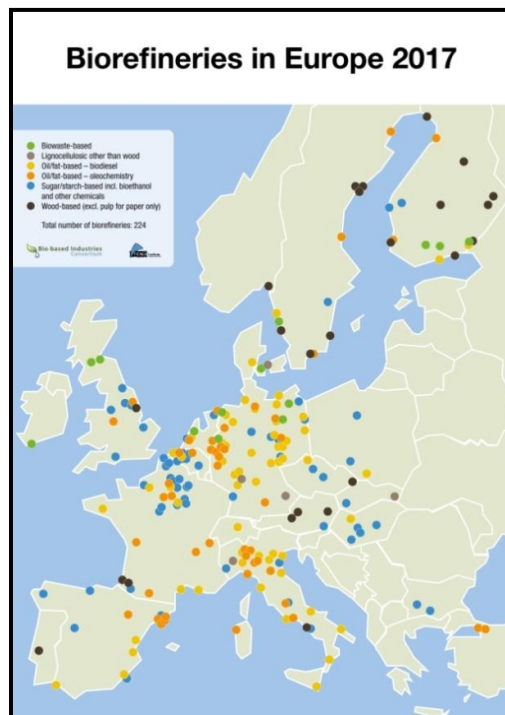
3. Introducció

3.1. Les biorefineries

Les biorefineries són la contrapart de les refineries convencionals del petroli, és a dir, són un altre mitjà per a l'obtenció de productes químics i energia. Més concretament, constitueixen una via de producció que parteix de la biomassa, i per tant, esdevenen un dels pilars de la sostenibilitat energètica.

Aquesta filosofia ha de ser present en tota l'existència de la biorefinera. En altres paraules, no n'hi ha prou amb practicar un mètode sostenible durant el procés productiu de matèria i energia pròpiament, sinó que la construcció, manteniment, logística i la resta d'accions addicionals que giren entorn la biorefineria han de tractar de millorar els nivells de contaminació, impacte mediambiental i consum de recursos respecte les refineries de petroli convencionals.

El concepte de les biorefineries va aparèixer a finals del segle XX, quan la conscienciació de l'impacte ambiental generat a partir de les fonts de recursos no renovables començava a ser efectiva. Davant la necessitat d'assolir processos més sostenibles i econòmics, va començar la investigació i millora d'obtenció de productes i energia per aquestes noves vies alternatives.



Il·lustració 1. Biorefineries a Europa l'any 2017 [1]

A dia d'avui, totes les activitats amb marcat caràcter sostenible estan proliferant, i pel que fa als sistemes sostenibles de producció de l'àmbit de la indústria química, es tenen dades del 2017 d'una presència de 224 biorefineries a Europa, de diferents tipologies.

3.2. La biomassa

És el recurs base i motiu d'existència del sector del biorefinament. S'entén com a biomassa tot aquell conjunt de matèria de tipus orgànic que s'empra per a la generació d'energia i compostos químics. Actualment s'estima que anualment es produeixen 120 bilions de tones de biomassa d'origen terrestre, el 50% de la qual prové de la lignocel·lulosa, i 50 bilions de tones d'origen oceànic.

A banda, cal deixar clar que segons la composició de cada tipus de biomassa, es requereix un cert tractament previ a l'activitat que decideixi realitzar la biorefineria que l'empri com a font primària. A continuació una taula amb exemples referents a aquesta classificació de tractaments:

Substrat	Tractament
Canya de sucre, remolatxa, melassa, suc de fruites	Mínims requeriments de dilució i esterilització
Midó (cereals, arròs, verdures, aigües residuals)	Algunes mesures d'hidròlisi i separació de components sense midó
Lignocel·lulosa (panotxes, civada, palla, bagàs, restes de fusta o paper)	Pretractament de certa complexitat que inclou reducció de la mida de partícules, costós energèticament

Taula 1. Exemples de tractament de tipus de biomassa [2]

Efectivament la composició de la biomassa pot ser molt variable, degut a que trobem biomassa que prové de diferents fonts. Distingim entre biomassa natural, residual i cultius energètics [3].

3.2.1. Biomassa natural

És tota aquella biomassa que s'obté sense l'acció directa de l'home. Comprèn principalment restes d'origen forestal, degut a desprendiments, i acció meteorològica o animal, i també accions de neteja de boscos. En altres paraules, qualsevol resta orgànica que pugui trobar l'home.

Precisament cal destacar que aquest tipus de biomassa es genera sense que l'home exploti els recursos forestals, si no, es tractaria d'altres tipus de pràctiques, malauradament més convencionals.



Il·lustració 2. Netejes de bosc

3.2.2. Biomassa residual

Aquella biomassa generada per tots els tipus de residus orgànics, que no són pocs. N'hi ha que es generen degut a l'activitat industrial (la indústria paperera n'és un exemple destacable) en tenim també degut a tota la indústria ramadera i agrícola: el bagàs, les restes de closques i pel·lofes o fins i tot excedents de la producció agrícola. També en generen tots els ciutadans a partir dels productes alimentaris que consumeixen o a les aigües residuals que produeixen. Són moltes les subcategories dins d'aquesta classificació, i per tant, major precisió es requereix per al seu tractament degut a la variabilitat de composicions.

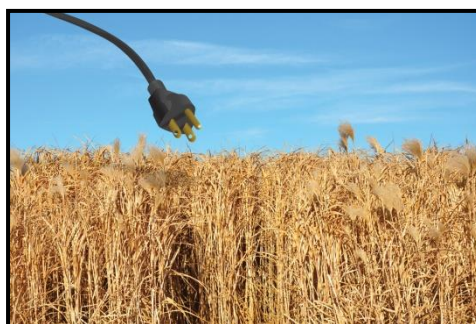


Il·lustració 3. Residus orgànics

3.2.3. Biomassa de cultius energètics

Recentment, degut a la conscienciació i incorporació de valors ecològics en les activitats humanes, va augmentant la tendència a plantejar cultius ecològics [4]. Aquests parteixen d'una base similar a la dels cultius convencionals però amb dues característiques diferents:

La primera és que el tipus d'espècies cultivades s'escullen per la seva composició, el seu poder calorífic o el format en el que es vol obtenir la biomassa (sòlid o líquid), entre d'altres. Certs conreus, com el blat de moro, la soja, la colza i fins i tot tipus concrets d'algues d'alt poder calorífic serveixen com a producte base de les biorefineries.



Il·lustració 4. Cultius energètics

La segona característica és que aquests cultius no requereixen la mateixa vigilància i cura que els cultius amb finalitat alimentària, ja que no serà aquest el seu propòsit. Això afecta a nivell de tractament del sòl o protecció de les condicions ambientals, fet que facilita molt el creixement d'aquests conreus.

Ara però, la proliferació dels cultius energètics comporta certa polèmica, ja que dediquen esforços en el cultiu de productes de funció alimentària sense tal finalitat, i ocupant terrenys que sí podrien ajudar a aquesta. En països del primer món aquest dilema no resulta massa problemàtic, però quan terrenys de països més pobres s'empren per fer aquest tipus de cultius, la divisió d'opinions pot arribar a ser conflictiva, i més, quan són empreses externes les que duen a terme tals activitats, fent que el preu d'aquests conreus s'incrementi.

3.3. Green Chemistry

Aquest concepte va sorgir als anys 90, quan començava la conscienciació dels efectes contaminants dels productes químics i els seus processos, així com el principi de l'esgotament dels recursos fòssils. Davant la necessitat de trobar noves estratègies per a seguir mantenint la indústria química com a sector punter, va sorgir a Europa i Amèrica del Nord l'idea de la Green Chemistry, segurament consolidada degut a una revista científica anglesa que es va començar a publicar amb el mateix nom. A diferència de la química ambiental que se centra en els efectes de la contaminació en l'ambient, la química verda planteja noves vies tecnològiques per evitar tals conseqüències, així com l'ús de fonts no renovables.



Il·lustració 5. Paul T. Anastas

Paul T. Anastas, conegut afectuosament com “el pare de la Green Chemistry” és un químic i divulgador científic que va definir el concepte de Green Chemistry mentre estava a l'Agència de Protecció Ambiental (EPA) [4]. Juntament amb John Warner, també químic i divulgador científic, van definir els 12 principis de la Green Chemistry, un conjunt de pautes a seguir per tal de progressar en l'evolució de la indústria química [5]:

- Prevenió: Sempre és millor no dur a terme un procés contaminant que intentar tractar els seus efectes posteriorment.
- Eficiència atòmica: S'ha d'intentar aconseguir que el màxim de matèries emprades en un procés formin part del producte final (minimitzant productes no desitjats).
- Síntesi segura: S'ha d'intentar que les vies d'obtenció de productes no siguin perillosos per la salut o l'ambient.
- Productes segurs: L'ús dels productes químics obtinguts ha de mantenir la seva funcionalitat minimitzant alhora la nocivitat.
- Dissolvents segurs: S'ha de tractar de minimitzar la presència de participants auxiliars en les vies d'obtenció i a la vegada que aquests siguin innocus.
- Eficiència energètica: Cal fixar-se en l'energia emprada en les vies d'obtenció, i d'aquestes tractar de potenciar aquella que en requereixi la mínima possible.
- Fonts renovables: Els recursos inicials han de ser el més renovables possible, sempre que això no comprometi el procés químic des dels àmbits econòmic o tècnic.
- Evitar derivats: Cal tractar d'evitar la formació innecessària de derivats, com els grups de protecció.



Il·lustració 6. John Warner

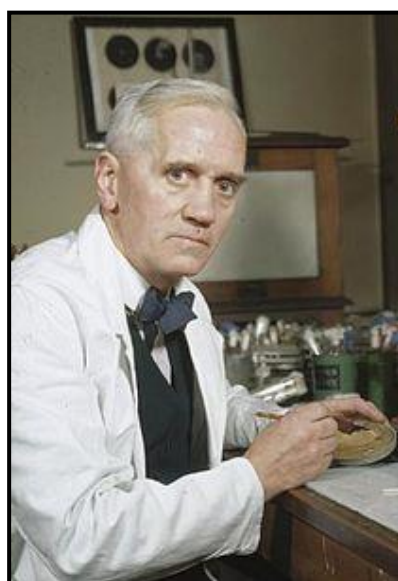
- Catalitzadors: Els reactius catalítics són superiors als reactius estequiomètrics, i han de ser el més selectius possible.
- Biodegradibilitat: Els productes químics han de ser concebuts per a que, un cop hagin complert la seva funció, es descomponguin en l'ambient de forma no nociva.
- Pol·lució: S'han de poder desenvolupar estratègies per al control i seguiment de possible toxicitat en la producció de productes químics.
- Prevenció d'accidents: Tots els factors participants en una estratègia d'obtenció s'han d'escollir tractant de minimitzar les probabilitats d'accident.

4. Microorganismes

Tot i que des de les civilitzacions antigues s'han utilitzat microorganismes, especialment els llevats, en processos de fermentació principalment per a l'obtenció d'aliments (pa, vi, cervesa), no va ser fins a mitjans del segle XIX que es va començar la investigació en el fenomen de la producció d'aquests aliments, degut segurament al creixent nivell d'industrialització de la producció alimentària. Inevitablement, això va dur a l'estudi dels microorganismes i la biotecnologia.

Concretament, va ser la producció de cervesa la primera que va disparar la investigació en zimologia, davant la creació de les primeres grans cases cerveseres, especialment a països centreeuropeus i americans. Diferents consultories i instituts de recerca i investigació van anar-se fundant.

Més tard, com gran part dels avenços tecnològics de la primera meitat del segle XX, durant la Segona Guerra Mundial moltes estratègies noves de producció es van idear per tal de no dependre a nivell d'aliments o productes químics de les altres potències, especialment degut a la dedicació quasi total pel que fa a l'obtenció de carburants a partir dels recursos petrolífers. Nos microorganismes es van aconseguir aïllar: per exemple, a Anglaterra es va obtenir acetona a partir de blat de moro durant la guerra gràcies a l'organisme *Clostridium acetobutylicum*. Poc després de la guerra va tenir lloc el gran descobriment de la penicil·lina, per part d'Alexander Fleming, que va donar origen a l'Era dels Antibiòtics, un abans i després per a la medicina moderna.



Il·lustració 7. Alexander Fleming

Tal ventall de possibilitats i tals ritmes de producció gràcies a la industrialització dels processos fermentatius van portar a que es passés de la zimotecnologia a la biotecnologia.

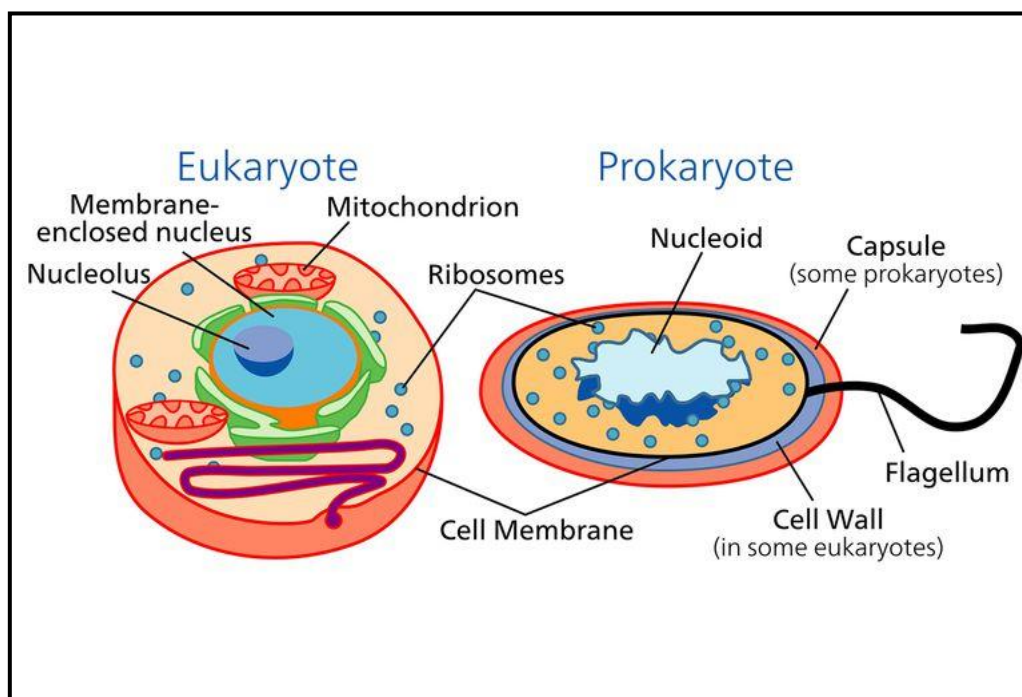
Actualment la situació és que, especialment els països del primer món, estan dedicant molts esforços a trobar vies alternatives de producció de compostos, productes i carburants que no generin alts nivells de contaminació ambiental o suposin un risc per a la salut; i això, passa inevitablement per a la utilització de microorganismes, en alguns casos genèticament modificats, que permeten la obtenció d'aquests químics en un menor nombre d'operacions, menys despeses d'energia, menys risc...en definitiva, seguint els principis de la Green Chemistry.

4.1. Caracterització

Els microorganismes són formes de vida unicel·lulars o formen colònies de dimensió molt reduïda (normalment observables amb microscopi), que es troben en la terra, l'aigua,

l'aire i també en els altres éssers vius. Molts d'ells participen en processos beneficiosos per als altres éssers vius i fins i tot pel planeta, com la descomposició de restes o la digestió d'aliments, però d'altres poden ser perillosos i origen de patologies.

En tractar-se d'organismes unicel·lulars, es comporten de la mateixa manera que cèl·lules que es poden trobar en un organisme pluricel·lular (a excepció dels virus), realitzant totes les funcions vitals. Hi ha un gran ventall de microorganismes, trobem arqueobacteris i bacteris (procariotes) i per altra banda, protozous, fongs, algues i les cèl·lules dels éssers animals i vegetals (eucariotes) [6].



Il·lustració 8. Estructura i semblances entre cèl·lules [8]

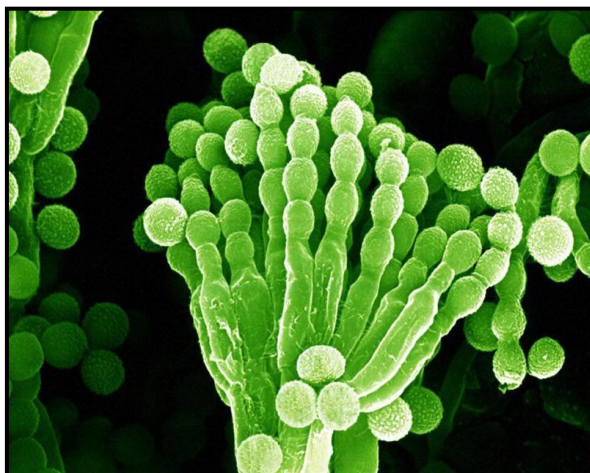
Les cèl·lules o microorganismes procariotes característicament són d'una dimensió menor a les eucariotes, però l'aspecte més important és que tenen el material genètic repartit pel citoplasma, en el que s'anomena nucleoid; no disposen de nucli com a tal, cosa que sí tenen les eucariotes.

A continuació es presentaran més extensament els fongs i els bacteris, que són els que participen més habitualment en processos de producció de compostos químics.

4.2. Fongs

Tot i presentar nombroses morfologies i estructures, es classifiquen en tres subgrups: filamentosos, bolets (fongs multicel·lulars) i llevats. Aquests últims van ser els primers microorganismes que va emprar l'home per a la producció d'aliments com el pa, el vi i la cervesa, tal i com s'ha comentat anteriorment en la introducció d'aquest apartat.

La situació actual respecte als llevats és d'una enorme especialització i cura, ja que es tracta de la indústria alimentària i la normativa a complir és més estricta que en altres àmbits de la producció de productes químics. Ara però, els llevats no són només emprats amb aquestes finalitats, també s'utilitzen per a l'obtenció de bioetanol, que pot ser emprat com a combustible d'automoció, o per a l'obtenció de xilosa, un sucre que permet l'obtenció de furfural, entre d'altres. També s'empen per a la fabricació de suplementos nutricionals o probiòtics.



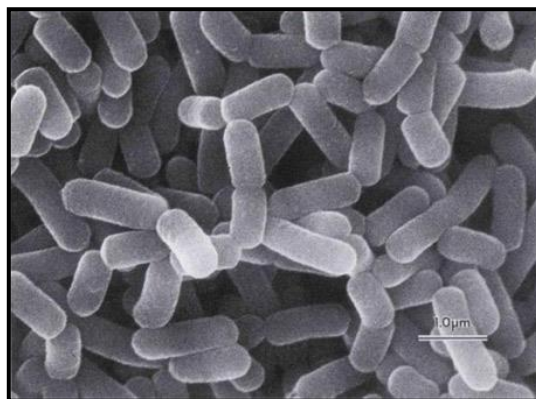
Il·lustració 9. Fongs [8]

A més, no tots els fongs d'ús industrial són els llevats. Es troben les floridures, que també participen en l'obtenció de certs productes alimentaris, per no parlar de les seves aplicacions en medicina, com la famosa floridura *Penicillium*.

I un llistat inacabable d'usos i aplicacions: els bolets japonesos shiitake permeten l'obtenció de polisacàrids utilitzats per a tractaments contra el càncer, *Penicillium roqueforti* que s'empra per a l'obtenció de formatges blaus, hi ha fongs que es poden utilitzar per protegir cultius dels agents invasors i les plagues, alguns per a la producció d'àcids com el làctic o el cítric, d'altres que s'empen per a dur a terme la bioremediació per tal de degradar i eliminar insecticides, herbicides, carburants i fins i tot òxids d'urani.

4.3. Bacteris

Les cèl·lules o microorganismes procarotes majoritaris, es troben en qualsevol ambient, fins i tot en l'interior d'altres formes de vida, ja que participen en molts dels processos biològics d'aquests o poden tenir un comportament parasitari. Presenten diferents formes: de bastó, esfera o espiral. Poden existir individualment o formar conjunts de fins a dos milions de cèl·lules individuals. Es caracteritzen també per disposar de flagels.



Il·lustració 10. Bacteris amb morfologia de bastó [8]

Tradicionalment es considera que en un gram de terra se solen trobar al voltant de 40 milions de bacteris i en un mil·lilitre un milió d'aquests. Suposen una gran part de la biomassa del planeta i duen a terme importants activitats per a aquest, com les tasques de descomposició, digestió de nutrients o fixació de gasos a l'atmosfera.

A nivell productiu, s'han emprat des de l'antiguitat per a la producció d'altres productes alimentaris com la salsa de soja, formatges, iogurts o vinagre, sovint combinant-se amb d'altres microorganismes. Actualment s'utilitzen també per a funcions de reciclatge, per exemple, es coneix que per a l'oxidació microbiana d'hidrocarburs en un vessament al mar, es poden emprar *Micrococcus*, *Pseudomona*, *Mycobacterium* y *Nocardia* per captar i eliminar els contaminants.

Actualment està augmentant la investigació i els esforços en el disseny genètic de bacteris per tal de ser utilitzats a nivell industrial i produir els compostos desitjats.

4.4. Grups de risc

El tractament o modificació genètica de microorganismes comporta un treball de laboratori que ha de ser vigilat i regulat, ja que alguns dels microorganismes a tractar poden ser altament patògens i provocar efectes devastadors.

És per això que és necessària la classificació dels microorganismes en grups de risc, per tal de conèixer també la complexitat necessària per a les operacions que es duren a terme. A la vegada, treballar amb organismes de grups de risc baixos són un indicatiu de que el projecte en qüestió té un comportament que segueix la tendència de conducta marcada per les pautes de la Green Chemistry [10].

	Grup de Risc 1	Grup de Risc 2	Grup de Risc 3	Grup de Risc 4
Exemples	<i>S. cerevisiae</i> (llevat de la cervesa) o <i>Lactobacillus</i>	<i>Streptococcus</i> (neumònies, amigdalitis...) o el virus de l'herpes	<i>Yersinia pestis</i> (pesta negra) o el virus de la SIDA	Virus de l'Ebola o virus del Zika
Descripció	No afecten a la salut de les persones	Poden generar malalties tractables	Poden causar malalties fortes que poden ser tractables o no	Poden causar malalties mortals i són molt contagioses
Nivell de seguretat i condicions de laboratori	Laboratori obert	Cabina de bioseguretat o campana de flux laminar	Cabina de bioseguretat	Vestits d'aïllament total
Green Chemistry ?	Sí	Depèn	No	No

Taula 2. Classificació dels grups de risc [11]

Els grups de risc 3 i 4 inclouen els patògens més mortífers del planeta i requereixen laboratoris que estiguin molt ben equipats amb totes les mesures de seguretat necessàries i en constant compliment de totes les normatives.

Cal destacar que no existeix cap llista de conveni internacional per definir quins microorganismes pertanyen a cada grup de risc, de manera que és responsabilitat de

països, empreses o laboratoris definir la seva classificació pròpia. Algunes de les classificacions més fiables són les Canadian PSDS (publicades per l'Agència de Salut Pública de Canadà), NIH Guidelines (no inclou el grup de risc 1) o DSMZ (Col·lecció Alemanya de microorganismes i cultius cel·lulars).



Il·lustració 11. Condicions de treball amb nivell de seguretat 4

5. Creixement microbià i sistemes de reacció

Un cop definits els tipus d'organismes que es poden fer servir o trobar en la indústria i entendre que s'empren per obtenir un determinat i concret producte a partir d'una matèria inicial, a continuació s'explicarà en que es basa la reacció d'estudi del projecte.

La reacció en qüestió és una reacció de fermentació. Una fermentació no deixa de ser un procés de metabolisme que experimenta un microorganisme: absorbeix certa substància o substrat i allibera un cert producte, amb la finalitat d'alliberar energia.

Aquesta reconfiguració dels compostos químics participants i aquest alliberament d'energia succeeixen degut a una reacció redox, una reacció química en la que una espècie s'oxida i una altra es redueix, sent aquesta diferència energètica entre espècies la que activa la reacció.

Aquest és el fonament de les reaccions de fermentació, i és una reacció que succeeix de manera contínua al planeta des dels inicis de la vida, de manera totalment natural i desinteressada.

Ara bé, aquí és on està el gran repte: identificar tots els microorganismes, participants d'aquesta reacció, estudiar-los, assegurar que no siguin perillosos pel medi ambient o la salut, conèixer a partir de quins substrats poden realitzar la reacció de fermentació. Tanmateix, conèixer quins productes es generen, classificar quins microorganismes donen millors rendiments per a la producció d'un mateix producte, optimitzar els sistemes, infraestructura, bioreactors, cultius... per tal d'aconseguir les màximes conversions possibles. En resum, utilitzar-los per obtenir un gran ventall de productes químics d'una manera respectuosa i segura amb la natura, en definitiva, seguint els principis de la Green Chemistry.

I això no és tot el que s'està plantejant i estudiant en els últims temps. Recentment ja s'està aconseguint entendre genèticament aquests microorganismes i s'estan dissenyant modificacions genètiques que permetin millors conversions, millors sistemes reactius, i sobretot, triatge del producte desitjat a obtenir.

Aquests microorganismes s'han passat a designar com a GMM (Genetically Modified Microorganisms), el primer gran exemple dels quals va ser l'*Escherichia coli*, un bacteri a la que se li va afegir el gen humà de la insulina per tal de produir insulina humana sintètica, dirigit per Herbert Boyer l'any 1978 [9]. Des de llavors, nous productes, especialment mèdics, han començat a ser produïts mitjançant GMM tals com l'hormona de creixement o vacunes en contra del virus de l'hepatitis B, cosa que fa pensar que es pugui arribar a aconseguir vacunes en contra d'altres virus, com per exemple, el de la SIDA.

Cal destacar també que les companyies que controlen aquestes biotecnologies solen mantenir en alt secret les característiques dels microorganismes que empren en els seus processos, ja que són la clau també de l'èxit empresarial. No obstant, existeixen organismes governamentals que ofereixen informació de fàcil accés en format de base

de dades de cultius microbians per a aquelles companyies que volen començar a fer-se un lloc en la indústria.

5.1. Introducció al creixement microbià

El creixement microbià s'entén com l'augment de matèria cel·lular expressada en concepte de massa o en concepte de quantitat de cèl·lules individuals. El creixement dependrà de que totes les condicions externes a la cèl·lula siguin les apropiades: disponibilitat de nutrients, pH, temperatura, oxigenació... i que es mantinguin en el temps de la manera apropiada. Tard o d'hora però, sempre hi haurà algun paràmetre que deixarà de ser suficient i serà limitant. A partir de llavors, el potencial de creixement disminueix.

La quantitat de biomassa (referit al cultiu de microorganismes) es pot especificar per gravimetria o numèricament comptant la quantitat de cèl·lules individuals. A més, cal senyalar que una altra mesura important sol ser el temps de generació de microorganismes, que es defineix com el temps necessari per a que una certa quantitat de biomassa de cultiu es dupliqui, en altres paraules, que el nombre de cèl·lules passi a ser el doble. Un factor important que afecta considerablement a aquest temps és el tipus d'organisme en qüestió, trigant entre 15 minuts i 1 hora pel que fa als bacteris, fins trigant entre 20 i 48 hores amb algunes cèl·lules de eucariotes, fet que explica també perquè se solen preferir els bacteris a l'hora d'experimentar i dissenyar modificacions genètiques.

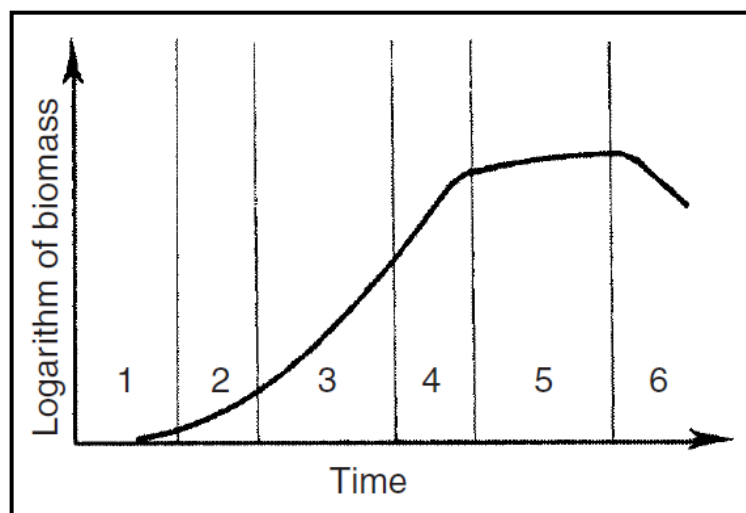
5.2. Creixement microbià

Es distingeixen les diferents fases del creixement microbià com [12]:

- Fase de demora o latència: és el període d'adaptació que les cèl·lules necessiten al ser transferides d'un medi a un altre abans de començar el seu creixement. En aquesta fase es produeixen els enzims necessaris per a que puguin créixer en un nou ambient. En aquesta fase no hi ha increment del nombre de cèl·lules, però hi ha gran activitat metabòlica, augment de la mida individual de les cèl·lules, contingut proteic, ADN i pes sec de les cèl·lules.
- Fase exponencial: és aquella en la que els microorganismes creixen i es divideixen el màxim possible, en funció del seu potencial genètic, tipus de medi i condicions en les que creix. En aquest període hi ha una relació lineal entre el logaritme del nombre de cèl·lules (o qualsevol altra propietat mesurable de la població) i el temps. El microorganismes es divideixen i dupliquen en nombre en intervals de temps regulars. Com que cada cèl·lula es divideix en un moment de temps lleugerament diferent a la resta, la corba de creixement augmenta suaument, en lloc de realitzar salts apreciables. La fase exponencial inclou una acceleració transitòria a l'inici, partint de la fase de latència, i una desacceleració prèvia a la fase estacionària.
- Fase estacionària: és resultat de l'esgotament de nutrients disponibles o de l'efecte de l'acumulació de productes del metabolisme tòxics, que tenen com a conseqüència la disminució de la velocitat de creixement. La transició entre la fase exponencial i la fase estacionària es caracteritza per un creixement

desequilibrat durant el qual els diversos components cel·lulars son sintetitzats a diferents velocitats.

- Fase de mort: És conseqüència de diversos factors; un d'important es l'esgotament de les reserves cel·lulars d'energia. Igual que el creixement, la fase de mort també pot assumir una funció exponencial que pot ser representada per una disminució lineal del nombre de cèl·lules viables al llarg del temps.



Il·lustració 12. Cicle de vida batch

Tot i que sembli que el cicle de vida del cultiu hagi d'estar limitat a una certa durada, es poden seguir estratègies per tal d'augmentar la capacitat de conversió del substrat, com anar afegint components concentrats, de manera que va augmentant el volum del cultiu, adoptant doncs, una filosofia *fed batch*, amb entrades externes puntuals.

De totes les fases, la fase de creixement exponencial és habitualment la que presenta major interès per ser la fase en la que l'increment del nombre de microorganismes es màxim. El temps de generació dels microorganismes (g), ja definit anteriorment, es manté constant durant aquesta fase.

Se sol representar de manera logarítmica per resultar més entenedora i per poder calcular el pendent de la linealització en qüestió. Aquest pendent es coneix com a constant de la velocitat específica de creixement (μ) i depèn de la base logarítmica que s'hagi triat per a la representació. En base logarítmica natural, es defineix:

$$\mu = \frac{\ln(N) - \ln(N_0)}{t - t_0} = \frac{\ln 2}{g} = \frac{0,639}{g} \quad (1)$$

On N és el doble del número d'individus a t_0 , és a dir, el doble de N_0 , ja que tot plegat es basa en la generació de nous bacteris per bipartició.

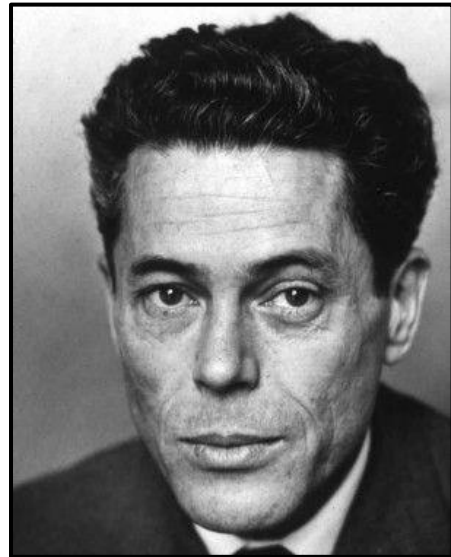
L'estudi de la velocitat de creixement, és a dir, de la cinètica microbiana és massa complex com per limitar-se a definir-ho amb una aproximació logarítmica. Noves relacions teòriques o empíriques es van desenvolupar durant el segle XX, i noves se

segueixen definint.

La base teòrica més emprada actualment per a l'estudi del creixement de poblacions microbianes és la cinètica de Monod. Aquest cèlebre bioquímic francès, va establir la següent relació:

$$\mu = \frac{dx}{dt} = \mu_{max} \cdot \frac{s \cdot x}{k_s + s} \quad (2)$$

On μ és la velocitat específica de creixement, definida com la variació de biomassa (entesa com a microorganismes) en el temps. Per altra banda, μ_{max} és la velocitat màxima de creixement que s'assoleix (és a dir, on el pendent és màxim a la corba de creixement), s és la concentració del substrat per als organismes, i finalment, k_s és la constant de velocitat mitjana, també coneguda com constant de Monod, corresponent a la concentració de substrat quan la velocitat específica de creixement és la meitat del pendent màxim de la corba de creixement.



Il·lustració 13. Jacques L. Monod

Per altra banda, es defineix el rendiment de la reacció, en altres paraules, el coeficient entre la quantitat de microorganismes generats i la quantitat de substrat consumit per a tal fi. Degut a que el terme del denominador esdevé negatiu (ja que es consumeix substrat) s'afegeix un signe negatiu per definir aquest rendiment:

$$Y = -\frac{dx}{ds} \quad (3)$$

Es coneix també que aquest augment en el nombre de microorganismes i el decrement de concentració de substrat depenen del temps, de manera que si es torna a expressar l'equació anterior, queda:

$$\frac{dx}{dt} = -Y \cdot \frac{ds}{dt} \quad (4)$$

De manera que en integrar a dreta i esquerra en funció del temps, s'obté:

$$x = x_o + Y \cdot (s_o - s) \quad (5)$$

Si s'aïlla la concentració de substrat en un moment específic i se substitueix en l'expressió de Monod, es té:

$$s = s_o + \frac{x_o - x}{Y} \quad (6)$$

$$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{\left(s_o + \frac{x_o - x}{Y}\right) \cdot x}{k_s + \left(s_o + \frac{x_o - x}{Y}\right)} \quad (7)$$

$$\mu = \mu_{max} \cdot x \cdot \frac{(Y \cdot s_o + x_o - x)}{Y \cdot s_o + Y \cdot k_s + x_o - x} \quad (8)$$

Si s'aïlla el terme de la velocitat màxima de creixement i s'integra en funció del temps, mentre la resta de termes s'integren en funció de la quantitat de microorganismes, s'obté:

$$\mu_{max} \cdot \int_{t_0}^{t_1} dt = \int_{x_0}^{x_1} \frac{dx}{x} \cdot \left(\frac{Y \cdot s_o + Y \cdot k_s + x_o - x}{Y \cdot s_o + x_o - x}\right) \quad (9)$$

$$\mu_{max} \cdot (t_1 - t_0) = \frac{Y \cdot s_o + Y \cdot k_s + x_o}{Y \cdot s_o + x_o} \cdot \ln\left(\frac{x_1}{x_0}\right) + \frac{Y \cdot k_s}{Y \cdot s_o + x_o} \cdot \ln\left(\frac{Y \cdot s_o}{Y \cdot s_o + x_o - x_1}\right) \quad (10)$$

Aquesta complexa expressió final ens permet obtenir una formulació teòrica a partir de l'equació de Monod en la que el creixement microbià depèn exclusivament de la concentració de substrat inicial. Tot i que no deixa de ser una aproximació teòrica, sol ser emprada en el disseny de bioreactors.

5.3. Sistemes de reacció

En els processos biotecnològics, a grans trets, es consideren tres tipus de processos per al creixement microbià en un bioreactor: *Batch*, semicontinu i continu. Altres característiques d'aquests bioreactors poden ser:

- Decidir entre un sistema agitat o estàtic.
- Dur a terme el procés de forma aeròbica o anaeròbica (amb o sense presència d'oxigen).
- Treballar en condicions líquides o de substrat sòlid (condicions de baixa humitat).
- Treballar amb el cultiu en llibertat o subjectat a superfícies de manera natural o forçosament immobilitzada.

En processos de fermentació, com és el cas que ocupa a aquest projecte, el més habitual és tractar els microorganismes participants com un solut més d'un volum líquid agitat, i sovint, solen ser microorganismes aerobis, fet que sol requerir un sistema d'oxigenació.

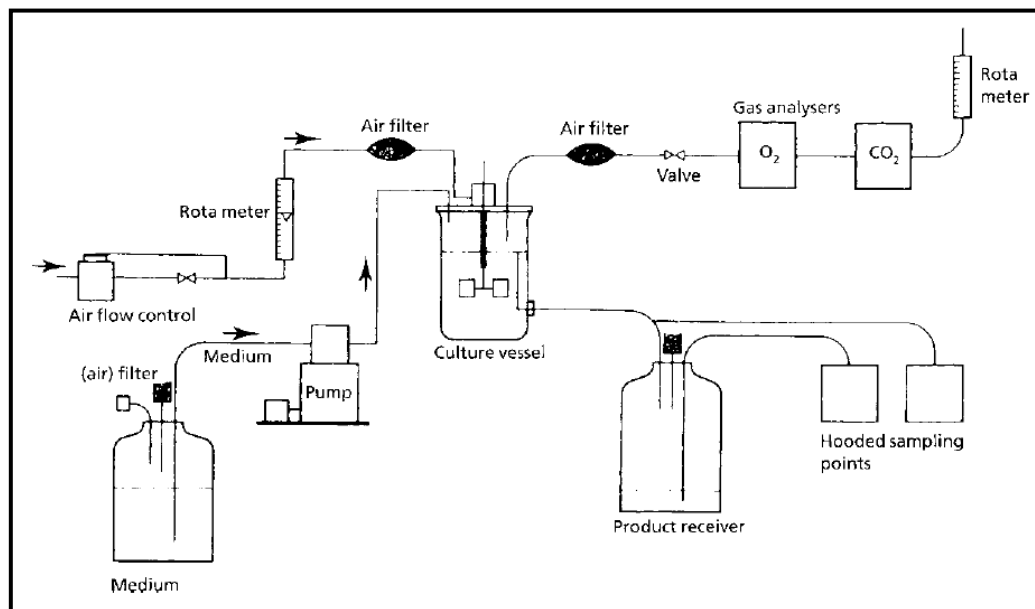
A continuació una taula que defineix les propietats i les utilitats dels reactors més habituals i posteriorment es detallen més profundament els sistemes *batch* i CSTR, els sistemes de reacció més característics.

Tipus de cultiu	Característiques operacionals	Aplicacions
Sòlid	Simple, Selecció senzilla de colònies d'un mateix tipus de cèl·lula, control de procés limitat	Manteniment d'espècies, estudis genètics, producció d'enzims, composició
Pel·lícula	Diversos tipus de bioreactors, filtres lents, discs rotatius, llit comprimit, reactor d'esponja, tub rotatiu	Tractament d'aigües residuals, cultius d'una capa (cèl·lules animals), filtratge de bacteris, producció de vinagre
Submergit, distribució homogènia de cèl·lules, <i>batch</i>	Reacció 'espontània' (curta durada), diversos tipus de reactors: bioreactors de tanc agitat, en suspensió, de canya fonda, etc. Agitació amb pales, aire, control de procés líquid per als paràmetres físics possibles, més difícil pel que fa a paràmetres químics i biològics	Tipus estàndard de cultius: antibiòtics, dissolvents, àcids, etc
<i>Fed-batch</i>	Mètode simple per al control d'efectes reguladors, per exemple, la regulació de la glucosa	Producció de llevat pel pa
Continu, d'estat homogeni	Adequat control de la reacció, excel·lent actuació dels estudis de regulació i cinètica, costos més alts pel fet d'experimentar, problemes per operar asèpticament, necessitat per tenir operaris qualificats	Pocs casos d'aplicació a escala industrial, producció de SCP i tractament d'aigües residuals

Taula 3. Diferents formats de cultiu [7]

5.3.1. Cinètica en reactor continu de mescla perfecta (CSTR)

A diferència del reactor *batch*, un CSTR es basa en tenir una entrada i sortida constants, fent que el volum del reactor també romangui constant. L'estratègia consisteix en incorporar de manera contínua l'alimentació de nutrients i oxigen i recollir el producte per la sortida i, sota aquestes condicions, assolir un estat estacionari.



Il·lustració 14. Sistema de reactor agitat en continu [8]

El balança de matèria d'un CSTR és el següent [13]:

$$M_{acumulada} = M_{entrada} + M_{sortida} + M_{reacció} \quad (11)$$

En ser un sistema estacionari, no té lloc acumulació en el volum del reactor, per tant:

$$M_{entrada} + M_{sortida} + M_{reacció} = 0 \quad (12)$$

$$QC_{A0} - QC_A = -r_A V \quad (13)$$

On r_A és la velocitat de la reacció i aquesta pot tenir diferents formulacions depenent del tipus de reacció, la seva reversibilitat, l'ordre o la quantitat de reactius.

Una altre variable present en el sistema és el temps de retenció hidràulica, que s'entén com el quocient entre el volum del reactor i el cabal que hi transcorre. Per exemple, definint una cinètica de reacció d'ordre 1, irreversible i d'un sol reactiu, s'obté:

$$-r_A = kC_A \quad (14)$$

$$C_{A0} - C_A = kC_A \frac{V}{Q} = kC_A t \quad (15)$$

$$\frac{C_A}{C_{A0}} = \frac{1}{1 + kt} \quad (16)$$

Aquest mètode continu de cultiu permet als organismes créixer sota condicions estables. Factors com el pH i les concentracions de nutrients i productes metabòlics que inevitablement varien en un reactor *batch*, es poden mantenir pràcticament constants en aquests sistemes [14].

5.3.2. Cinètica en reactor batch

En un reactor *batch* es treballa en lots i sol ser característic de sectors relacionats amb la investigació, equips de prova, pilot o de petita escala. Això és degut a que durant el procés de reacció no hi ha entrada ni sortida de fluxos del sistema, fet que en facilita l'estudi i control. Això a la vegada també permet ser més versàtil en aquest tipus de sistemes.

Per tant, en sistemes *batch*, el balança de matèria té un aspecte com el següent [14]:

$$M_{acumulada} = M_{entrada} + M_{sortida} + M_{reacció} \quad (17)$$

En no haver entrada ni sortida:

$$M_{acumulada} = 0 + 0 + M_{reacció} \quad (18)$$

De manera que la matèria acumulada dins del reactor haurà de ser per força un volum fix multiplicat per la variació en la concentració dels elements en el seu interior, que això en altre paraules, és equivalent a l'evolució de la reacció dins del seu interior. Senzillament això queda expressat com:

$$V \left(\frac{dC}{dt} \right) = -kC^n V \quad (19)$$

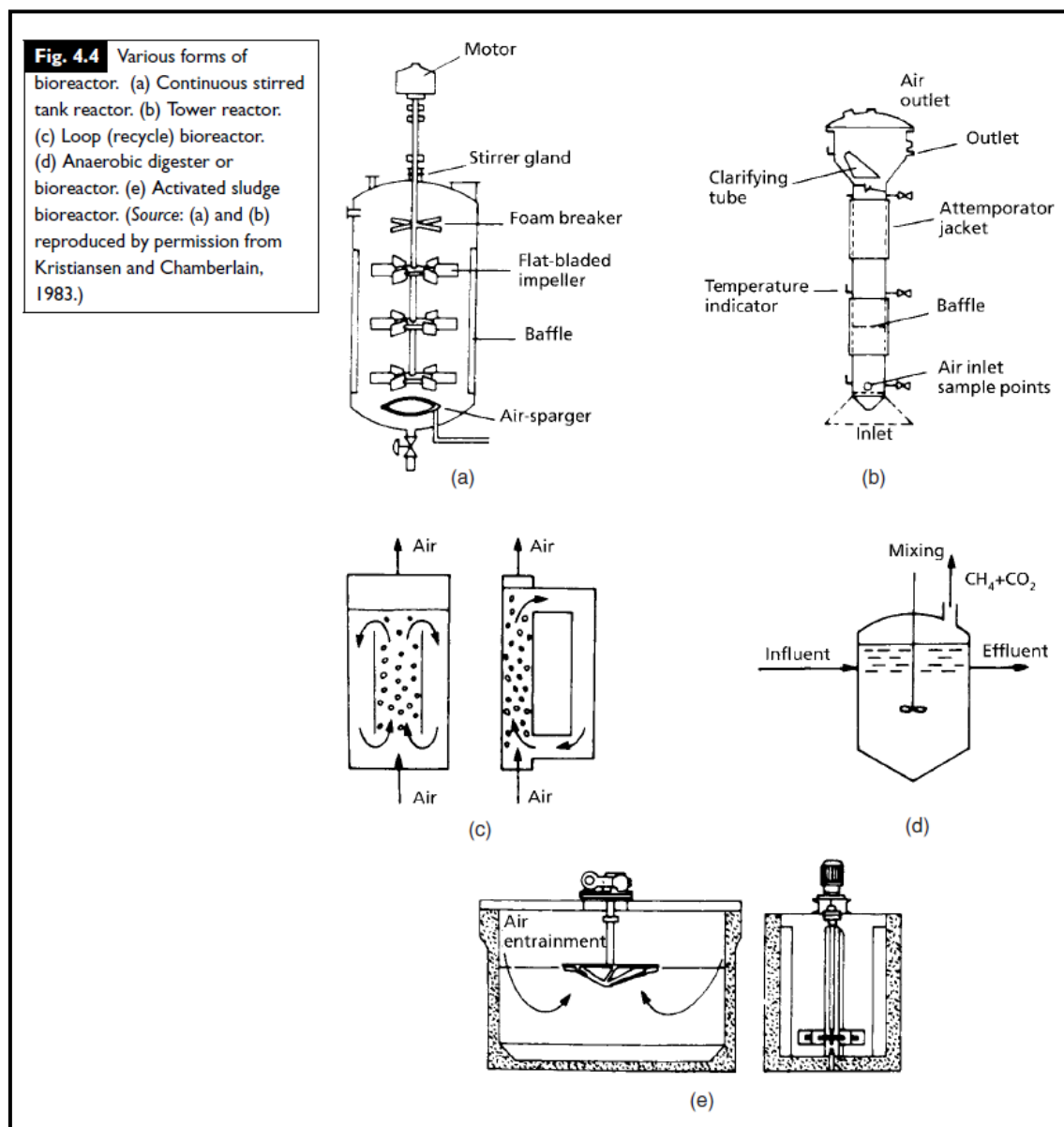
El seguiment d'aquesta reacció es du a terme a partir de l'ordre n de la cinètica de la reacció i de la constant k de degradació de matèria orgànica. Segons l'ordre de la reacció, la concentració final del lot que s'estigui produint variarà. Concretament, a efectes de càlcul el valor de n modifica la integració de l'expressió anterior, i així és com es modelitzen de manera diferent les cinètiques de diferents ordres. Per exemple, per a ordre 1 i 2 irreversibles (partint d'una sola espècie):

$$\frac{C_A}{C_{A0}} = e^{-kt} \quad (20)$$

$$\frac{C_A}{C_{A0}} = \frac{1}{1 + ktC_{A0}} \quad (21)$$

On C_A és la concentració en el moment t i C_{A0} la concentració final.

5.3.3. Exemples de bioreactors



Il·lustració 15. Exemples de tipologies de bioreactors [8]

Hi ha una gran diversitat de bioreactors, cadascun d'ells adequant-se a les condicions de treballs i garantint el creixement del cultiu. En la imatge s'observa la geometria d'un (a) CSTR, bioreactor de tipus continu que disposa d'un bombollejador inferior per tal de subministrar aire, un eix d'agitació amb tres hèlixs de pales i un trencador d'escumes; (b) un bioreactor de torre pensat per a treballar en continu i en concret, amb una entrada d'aire des de baix, de manera que des de dalt s'aplicaria l'altra espècie en estat líquid. Disposa també d'una camisa calefactors amb el corresponent indicador; (c) un bioreactor en bucle, que de manera contínua va subministrant aire en forma de bombolles mentre el líquid va mesclant-se dins la seva estructura; (d) un digestor anaeròbic agitad, el qual empra organismes en total manca d'aire i alhora extreu el metà i diòxid de carboni que els microorganismes generen en la fermentació; (e) un reactor de fangs actius *batch*, típic del tractament d'aigües residuals, l'aeració i l'activitat dels fangs (bacteris) oxiden la matèria

orgànica present en les aigües.

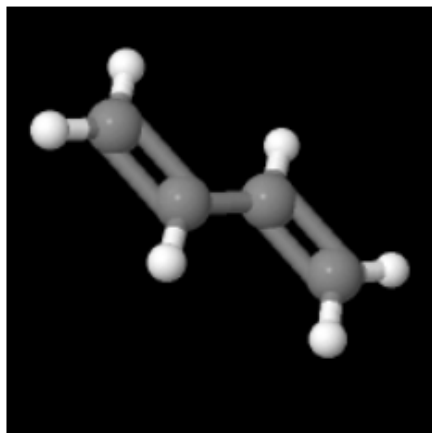
En resum, la tipologia de bioreactors és d'allò més variada i la quantitat d'elements auxiliars que calen o es poden afegir és encara més gran: sensors, vàlvules, agitadors, sistemes per al manteniment de la temperatura, bombollejadors, reguladors de pH...

6. Fonaments del disseny

6.1. Butadiè

El compost objectiu d'aquest projecte és el butadiè (C_4H_6) i és aquest el motiu d'aquest apartat. El butadiè és un hidrocarbur que es caracteritza per tenir 4 carbonis i dos enllaços dobles alternats. De fet, es tracta del diè conjugat més simple que hi ha.

A temperatura ambient presenta una olor que recorda a les fraccions lleugeres del petroli utilitzades per a la combustió, és incolor i es troba en estat gasós, però és fàcilment condensable ja que la temperatura de canvi de fase és a $-4.4\text{ }^\circ\text{C}$. Aquest fet és molt important de cara al disseny del sistema d'obtenció de butadiè, ja que s'hauran de treballar en unes certes condicions de temperatura un cop s'obté el producte final. També és molt important pel que fa a la seguretat i transport d'aquest. Té una massa molar de $54,047\text{ g/mol}$.



Il·lustració 16. Butadiè [15]

És pràcticament insoluble en aigua però sí en etanol, èter, acetona o benzè. Quan s'escalfa emet una olor acre i és fàcilment inflamable. En contacte amb l'aire pot oxidar-se i formar peròxids que poden ser explosius.

A nivell d'afectació per als humans, la primera via d'exposició a cuidar és la inhalació, tot i que també pot generar irritació d'ulls, gola o nas. En alta exposició i grans concentracions, la inhalació del gas pot dur a patir mals de cap, fatiga, disminució de la pressió sanguínia i pulsacions, danys en el sistema nerviós i inconsciència. Està classificat com espècie cancerígena.

Es tracta d'un compost que no es troba de manera natural, però que és fàcilment detectable en paisatges urbanístics degut a l'alta contaminació i presència de hidrocarburs provinents de combustibles en procés de degradació en l'ambient. Precisament, el butadiè té la capacitat de descompondre's amb bastant facilitat amb l'ambient.

És recomanable el seu emmagatzematge en forma de sulfolè per tal de no haver-lo de contenir en estat gasós, sempre que quan es vulgui recuperar no hi hagi inconvenients a l'hora de produir SO_2 . Cal tenir certa cura amb el sulfolè també, perquè està catalogat també com a cancerigen.

És un important producte de la indústria química actual, especialment pel que fa al seu ús en la fabricació de SBR (Styrene-Butadiene Rubber), l'alternativa sintètica majoritària per a l'obtenció de cautxú, emprat habitualment en la producció de rodes per al sector automobilístic. Altres productes amb el mateix propòsit utilitzen també butadiè, però l'SBR

és el predominant, especialment degut als costos d'obtenció.



Il·lustració 17. Pneumàtics

El butadiè també és utilitzat en la confecció del niló per produir l'espècie intermèdia, l'adiponitril, mitjançant l'addició d'una molècula d'àcid cianhídric a cadascun dels dos enllaços en un procés anomenat hidrocianització, desenvolupat per DuPont.

Altres gomes sintètiques com el cloroprè o el 4-vinilciclohexè s'obtenen també a partir del butadiè. Mitjançant la reacció Diels-Alder, el butadiè ajuda en la síntesi de diversos cicloalcans i cicloalquens, ja que reacciona amb enllaços dobles i triples de carboni.

6.1.1. Ruta del petroli

És la ruta tradicional d'obtenció del butadiè i actualment suposa la via principal, majoritària i més econòmica tant del butadiè com de la majoria d'hidrocarburs produïts en el sector químic. Més d'un 90% del butadiè actual és obtingut a partir d'activitat petroquímica [16].

El butadiè pertany a la fracció de les naftes, les quals són prescalfades a 650 °C i vaporitzades, passen per la cambra de piròlisi on són craquejades a temperatures entre 790 °C i 1100 °C. De la mescla de naftes obtingudes, primer se'n separen els compostos C₂ i C₃, dels quals l'età i el propà són reutilitzats en el cicle com a alimentació. Per altra banda el metà i hidrogen obtinguts passen a utilitzar-se com a combustible per a la cambra de piròlisi per a futures operacions.

Productes de major interès, com l'etilè, el propilè, el butadiè i altres compostos de C₄ i aromàtics sí que són recuperats. El butadiè s'obté de la fracció de 4 carbonis mitjançant destil·lació extractiva i suposa al voltant d'un 40% d'aquesta fracció. En concret, la conversió de butadiè no sol superar el 4,5%, el qual indica que no és l'espècie majoritària a obtenir per l'operació del cracking, comparat amb l'etilè (conversió del 31,5%) o el propilè (conversió del 14,5%).

Malgrat aquesta baixa conversió, les quantitats de cru amb les que es treballa actualment en la indústria petroquímica comporten una altíssima capacitat de producció d'aquest hidrocarbur per aquesta via. L'any 2012 es coneix que la producció mundial anual de butadiè era de 10 milions de tones mentre que la capacitat màxima de producció era de 11 milions de tones. Pel que fa a la utilització posterior d'aquest, més del 50% s'emprava per a la producció de SBR. Al voltant d'un 25% s'utilitzava per a la producció d'altres cautxús sintètics i fibres plàstiques.

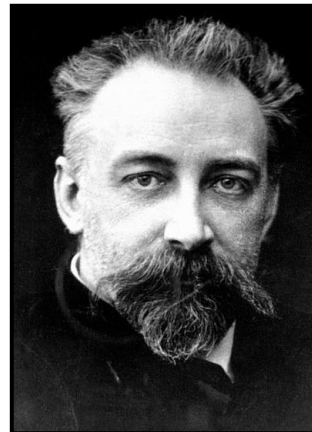


Il·lustració 18. Destil·lació fraccionària del petroli

Des del punt de vista de la Green Chemistry la situació respecte al butadiè és urgent, degut a la gran dependència del petroli per a la seva obtenció. A continuació s'expliquen altres rutes alternatives.

6.1.2. Lébedev i Ostromislensky

A principis del segle XX dos químics russos, Lébedev i Ostromislensky, van trobar diferents rutes de síntesi del butadiè sense recórrer a la petroquímica, fet que va suposar un gran avantatge per la Unió Soviètica d'aquella època, que es veuria posada a prova davant de guerres i escassetat. Aquests coneixements van traslladar-se a la resta de potències aliades durant la guerra, de manera que certs detalls canviaven depenent d'on es posaven a prova.



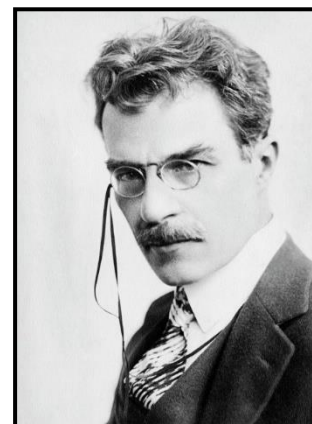
Il·lustració 19. Lébedev

Efectivament aquests dos processos van ser emprats per a la producció de cautxú sintètic per als vehicles de les campanyes militars i van seguir sent emprats a Rússia fins als anys 70. Actualment encara són estratègies emprades, especialment en països no tan desenvolupats o modernitzats químicament com la Xina o l'Índia [5].

Segurament dels dos processos el que més va triomfar va ser la síntesi de Lébedev degut al fet de que només té una etapa. Tot seguit s'expliquen ambdós mecanismes.

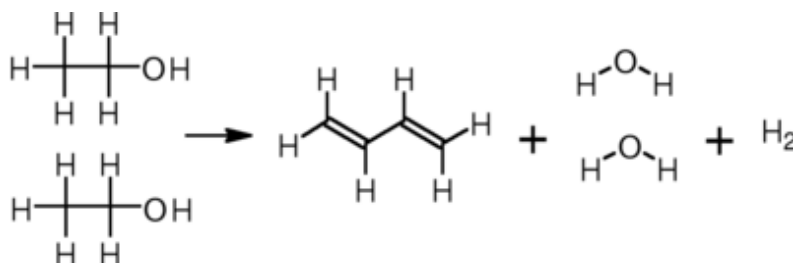
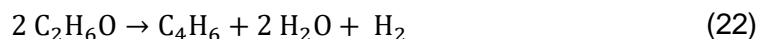
Lébedev

Des del seu primer desenvolupament l'any 1928 amb índexs de conversió del 20-40 % s'ha passat a assolir actualment una conversió del 72 %.



Il·lustració 20. Ostromislensky

Parteix exclusivament de l'etanol i consisteix en una deshidratació i deshidrogenació catalitzada, duta a terme en llit fix entre 400-650 °C.



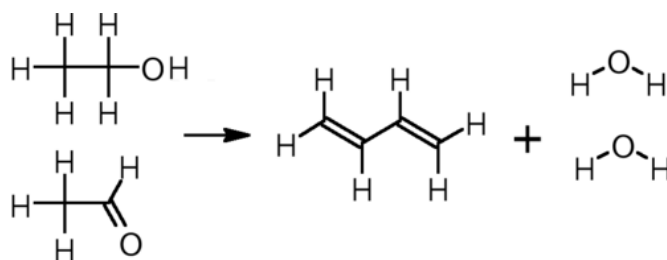
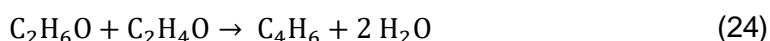
Il·lustració 21. Mecanisme de Lébedev

Els detalls de la reacció varien segons l'empresa o col·lectiu que la realitzi, per exemple,

BASF va idear que l'òptim productiu passava per la utilització de d'òxids de metalls actius com el Zn, Zr o Cu. Actualment es coneix que els millors rendiments s'aconsegueixen utilitzant SiO₂ o Ta₂O₅ com a catalitzadors.

Ostromislensky

També té lloc en reactors de llit fix, la diferència però, és que és una síntesi de dues etapes. L'etanol és prescalfat i dirigit a un primer reactor catalitzat on té lloc conversió d'aquest a acetaldehid a una temperatura entre 260-330 °C, sent aquesta la primera fase.



Il·lustració 22. Mecanisme d'Ostromislensky

Els vapors d'acetaldehid i etanol són després conduïts a un segon reactor, per obtenir, ara sí, el butadiè. La síntesi es realitza a uns 320-350 °C amb una conversió del 56,5%, emprant un catalitzador de mescla d'òxids de metall (Ta₂O₅/MgO).

En ambdós casos, els percentatges restants inclouen no només l'aigua i l'hidrogen produïts, sinó que també una mescla variable d'etilè, n-butans, n-butanol, butiraldehid... en definitiva, cal aïllar el butadiè obtingut.

Per acabar, cal constatar que la realització d'aquests processos, incloent la participació, transport i transformació de la biomassa, generen també certs nivells de contaminació, produint emissions de gasos d'efecte hivernacle. De nou, dels dos processos el guanyador torna a ser l'estratègia de Lébedev: és menys contaminant i consumeix menys reactius.

6.1.3. Altre estratègies i els butandiols

A banda de l'obtenció de butadiè mitjançant els processos de Lébedev i Ostromislensky, que parteixen de l'etanol, o en el cas de que el butadiè s'obtingui d'una biorefineria (a partir de bio-etanol), hi ha altres estratègies a l'ordre del dia.

La primera d'elles és la deshidrogenació del butà o de butens, per tal de formar directament els enllaços dobles conjugats característics del butadiè. Aquesta estratègia queda força descartada, ja que no té una bona conversió, requereix treballar en condicions d'acidesa, la conversió és d'un 60%, però per sobre de tot, requereix assumir uns costos energètics molt grans per tal d'operar a la temperatura de treball.

Altres processos, com la deshidratació de l'eritritol [18] es coneixen i són possibles per a l'obtenció de butadiè, però són estratègies que difícilment podran sortir del laboratori per a tenir una aplicació a nivell industrial, degut a que en les reaccions químiques participen espècies com el iode o els grups tosil o mesil, a més de no donar uns índexs de conversió massa bons.

Així doncs, l'última alternativa explorable que queda és l'obtenció de butadiè a partir de la deshidratació dels butandiols, concretament, el 1,4-butandiol, el 1,3-butandiol i el 2,3-butandiol [17].

- 1,4-butandiol (1,4-BDO): Actualment Novamont, empresa italiana dedicada al sector dels bioplàstics, ja disposa d'una planta d'escala industrial establerta en col·laboració amb Genomatica, empresa americana de biotecnologia [19]. Operativa des de finals de 2016, produeix 30 ktones/any de 1,4-BDO, un 70% més de l'esperat en la planificació feta a escala de laboratori. La producció de butadiè a partir de 1,4-BDO té lloc a 280 °C amb catalitzadors de fosfat de sodi, assolint conversions de fins el 95%.
- 1,3-butandiol (1,3-BDO): Genomatica també ha treballat col·laborant amb una altra empresa italiana, en aquest cas Versalis [20], per a la implementació de reactors d'escala industrial per a la producció de 1,3-BDO. La reacció té lloc amb els mateixos catalitzadors però requereix unes temperatures una mica més altes. La conversió màxima assolible es troba en un 90%.
- 2,3-butandiol (2,3-BDO): Amb catalitzador d'òxid d'escandi (Sc_2O_3) es permet una conversió en la reacció d'obtenció de butadiè del 88% a temperatures superiors als 400 °C. Desglossant l'operació en dues etapes de llit catalític fix, una amb òxid d'escandi i l'altre amb alumina (Al_2O_3) la selectivitat augmenta fins al 94%, rivalitzant doncs amb l'obtinguda amb el 1,3-BDO [21].

Analitzades totes les alternatives, a continuació es mostra una taula-resum d'aquestes, les seves temperatures de treball i conversions, i els seus punts a favor i en contra:

Process	Steam Cracking	Dehydrogenation	Lebedev/Ostromisslenski	Dehydration
Feedstock	Naphtha	Butane/Butenes	Bio-ethanol	Bio-butandediols
Operating Conditions	750–900 °C, moderate pressure	600–700/400–500 °C	400–650 °C	250–350 °C
Advantages	Installed technology	Well-established technology, on-purpose production	Bio-based, on-purpose production	Bio-based, on-purpose production
Disadvantages	Energy demanding, environmental concerns, finite resources, limited production	High endothermicity, catalyst deactivation	Catalyst deactivation, various by-products	Limited production of bio-feedstock, various by-products
Yield to C_4H_6	4.5%	70.0%/71.8%	72.0%/56.5%	up to 95.0%

Il·lustració 23. Comparativa d'alternatives del mercat [21]

Davant d'aquesta situació, sorgeix un dilema en la realització d'aquest projecte, que tot just, s'analitzarà.

6.2. Ruta decidida

L'objectiu inicial d'aquest projecte era trobar una estratègia d'obtenció de butadiè amb dues característiques molt concretes: que es realitzés en una sola etapa a partir de la biomassa, i que participessin microorganismes en tal procés, investigant així els fronts de la bioquímica a nivell industrial.

Ara però, les condicions actuals són les següents: no existeix pràcticament bibliografia ni documentació que porti a pensar a que avui en dia amb els mitjans coneguts es pugi realitzar tal acció directament.

De fet, això no és del tot cert. Concretament, és de domini públic que Genomatica (de nou), aquest cop en col·laboració amb Braskem, empresa brasilera del sector petroquímic, l'any 2015 van aconseguir l'obtenció de bio-butadiè a partir de biomassa en una operació d'una sola etapa, mitjançant microorganismes modificats [21]. Específicament, han aconseguit convertir sucres en butadiè en fermentadors de 2 litres, tot i que la dada del rendiment de la reacció no s'ha fet pública. De 60 possibles estratègies amb la participació de microorganismes, Genomatica va escollir les 5 que va considerar millors i van ser posades a prova conjuntament amb Braskem.

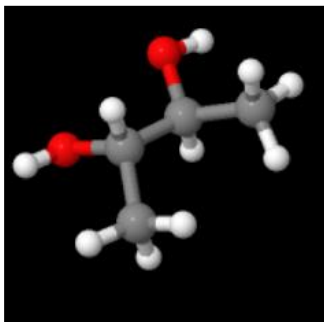
Ambdues empreses ja van aconseguir produir polietilè a partir d'etanol l'any 2010 i actualment estan ja col·laborant en l'estudi de l'obtenció de bio-isoprè. A més, és de destacar l'interès que mostra Genomatica pel que fa a l'obtenció de butadiè, ja que col·labora en l'estudi de vies d'obtenció tant a partir dels butandiols, com a partir de biomassa.

Havent consultat la informació accessible de les patents en qüestió, el nom i la funcionalitat dels microorganismes emprats en aquesta investigació a petita escala d'aquestes dues empreses, no són revelats. Davant d'aquesta situació, aquest projecte durà a terme un canvi de rumb, i haurà de plantejar una de les altres estratègies més conegudes i de la que es disposi més informació: es busca una via de producció de dues etapes amb la participació de microorganismes com a mínim en alguna d'aquestes, sent aquesta etapa el focus del projecte.

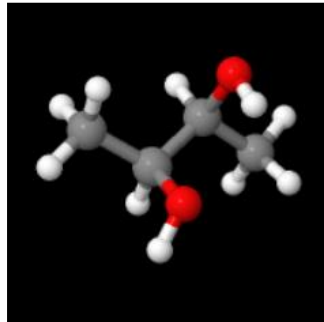
La decisió presa serà l'obtenció de bio-butadiè a partir de la deshidratació de 2,3-BDO, espècie amb fort caràcter quiral obtinguda a partir de biomassa en una etapa prèvia amb la participació de microorganismes, oferint la possibilitat d'un estudi pel que fa a la relació del comportament dels microorganismes i la quiralitat del compost.

6.3. 2,3-Butandiol (2,3-BDO)

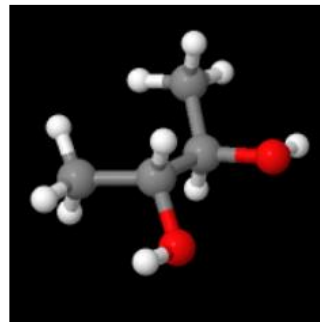
El 2,3-butandiol ($C_4H_{10}O_2$) és un dels tres isòmers del butandiol. Es troba present, en els seus diferents estereoisòmers, en la mantega de cacau, en la ruda (planta) o el blat de moro, entre d'altres. Té una massa molecular de 90,121 g/mol i presenta tres estereoisòmers diferents: el meso (2R, 3S) i el seu equivalent (2S, 3R) i per altra banda el parell d'enantiòmers (2R,3R) i (2S, 3S) [25]. A continuació, es representen:



Il·lustració 24. (2S,3S)-2,3-BDO [22]



Il·lustració 25. meso-2,3-BDO [23]



Il·lustració 26. (2R,3R)-2,3-BDO [24]

La situació en la producció del 2,3-BDO amb la participació d'activitat microbiana és la següent: diversos estudis s'han realitzat exitosament demostrant que hi ha un llistat de microorganismes que responen de manera òptima i proporcionen unes quantitats de 2,3-BDO acceptables. Ara però, molts d'aquests organismes s'han posat a prova mitjançant com a substrat només un dels possibles elements que podria contenir la biomassa, per tant la majoria d'estudis no tenen possibilitats de sortir de la investigació a nivell de laboratori [26].

Es recorda que la biomassa té molts factors que poden fer variar la seva composició i des d'un punt de vista estrictament productiu i econòmic, interessa escollir un microorganisme que permeti adaptar-se als canvis de condicions inicials del procés productiu.

Un article que entén aquestes circumstàncies i que planteja adequadament la investigació per tal de poder tenir aspiracions productives a gran escala és l'article següent.

6.4. Publicacions científiques

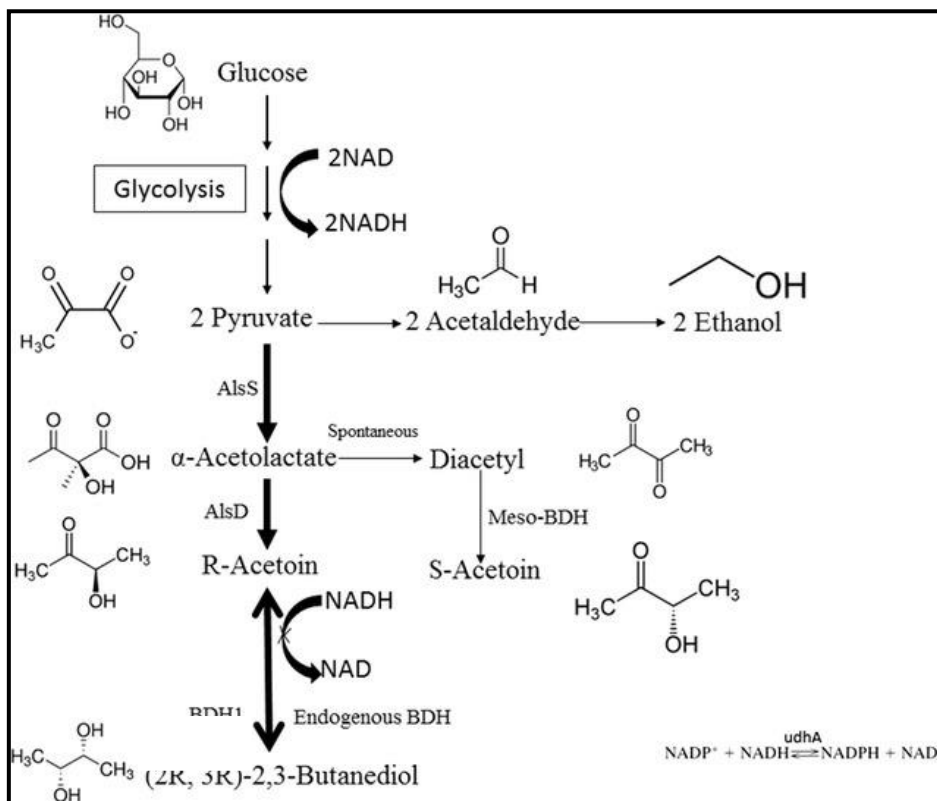
6.4.1. Screening of novel bacteria for the 2,3-butanediol production

Aquest article [27] planteja una sèrie de microorganismes (encara no estudiats abans de la realització del mateix article) pel que fa al seu possible ús per a l'obtenció de 2,3-BDO.

En aquest article, la primera condició que es marca és treballar amb microorganismes del grup de risc 1 i seguidament entén la problemàtica respecte a la variabilitat de composició de la biomassa. L'estudi es fixa especialment en tres microorganismes, *B. atrophaeus*, *B. mojavensis* i *B. vallismortis*, i els va comparant amb un altre de referència, del qual ja se'n

saben dades d'altres estudis, *B. licheniformis*. Tots ells són bacils, és a dir, bacteris gram positius amb forma de bastó.

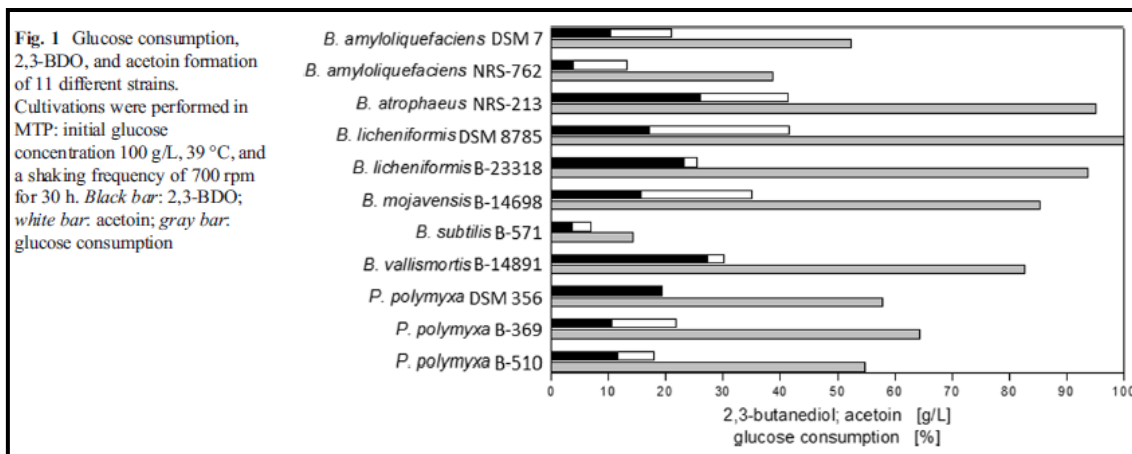
El camí que segueix la fermentació a partir dels microorganismes es pot observar seguint les fletxes en negreta de la següent imatge, per al cas d'un substrat de glucosa.



Il·lustració 27. Descomposició de passos des de la glucosa fins el 2,3-BDO [27]

Succeeix que els microorganismes experimenten un límit de conversió en l'últim pas, la reacció de l'acetoïna a 2,3-BDO, i assoleixen el que es coneix com a Límit de Font de Carboni. La reacció que realitza el microorganisme per convertir l'acetoïna a 2,3-BDO és reversible, de manera que assolida certa concentració de 2,3-BDO el microorganisme assoleix el límit de font de carboni, i el 2,3-BDO comença a convertir-se en acetoïna de nou.

A continuació es mostra una comparativa entre els diferents microorganismes que s'estudien, on es pot observar quin percentatge de la glucosa subministrada com a substrat és emprada per dur a terme la fermentació, les concentracions de 2,3-BDO i acetoïna i l'equilibri entre ambdós.



Il·lustració 28. Comparativa del consum d'un substrat de glucosa i de la producció de 2,3-BDO i acetoïna entre microorganismes [27]

L'estudi se centra en els tres bacils ja mencionats i comprova que efectivament la reacció de fermentació que du a terme cada un d'ells genera proporcions diferents dels estereoisòmers. En concret s'obtenen els següents resultats:

Table 1 MS area ratio of the 2,3-BDO stereoisomeric formation of the strains *B. atrophaeus* NRS-213, *B. mojavensis* B-14698, and *B. vallismortis* B-14891

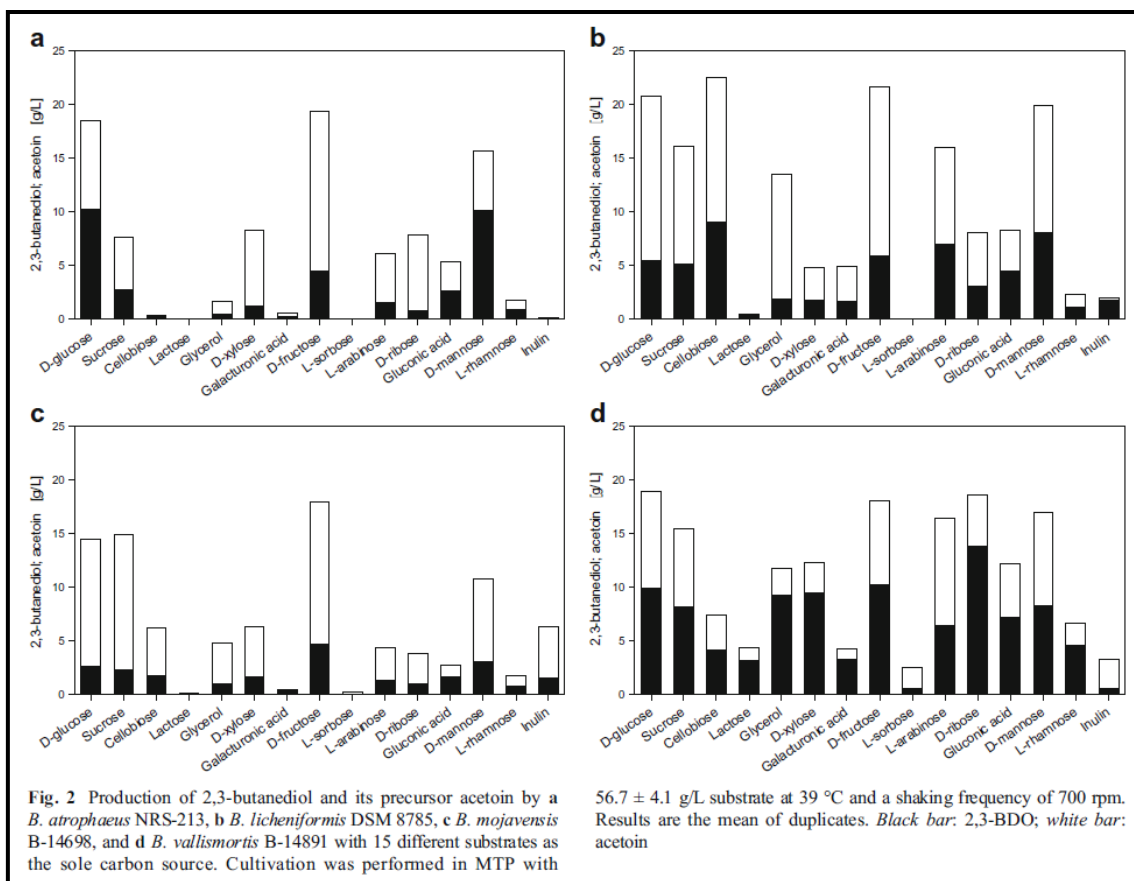
Strain	L-(+)-2,3-BDO [%]	D-(-)-2,3-BDO [%]	Meso-2,3-BDO [%]
<i>B. atrophaeus</i> NRS-213	0	88	12
<i>B. mojavensis</i> B-14698	0	79	21
<i>B. vallismortis</i> B-14891	0	1	99

Cultivations were performed in MTP: initial glucose concentration 100 g/L, 39 °C, and a shaking frequency of 700 rpm for 30 h

Il·lustració 29. Formació d'enantiòmers per cada organisme [27]

S'observa que l'enantiòmer (2S, 3S) no es forma pràcticament mitjançant cap dels tres microorganismes, mentre que si es desitja obtenir el (2R, 3R) es pot obtenir amb una alta proporció amb dos d'ells i el meso amb una grau de puresa molt elevat a partir de l'últim microorganisme. Queda clar que hi ha una forta relació entre la quiralitat i el microorganisme que du a terme el procés fermentatiu.

Com es pot llegir en les descripcions de les figures, ambdues taules són obtingudes en les mateixes condicions, segurament en la mateixa experimentació. El cas és que s'empra glucosa com a únic substrat, i com s'ha comentat anteriorment, l'objectiu hauria de ser avaluar la variabilitat de substrats procedents de la biomassa a partir dels quals treballar. És per això que l'estudi decideix estudiar el comportament dels microorganismes en funció de diferents compostos:



Il·lustració 30. Conversions a 2,3-BDO i acetoïna per cada substrat i bacteri [27]

S'observa que el més versàtil dels bacteris en estudi és el *B. vallismortis* i també el més productiu; l'únic cas a destacar en el que es veu superat és en la conversió de 2,3-BDO a partir de substrat de glucosa. A continuació una taula comparativa entre els tres bacteris que estudiava aquest article, partint de la glucosa com a substrat i mostrant els canvis de conversió al producte final a mesura que s'augmenta la concentració inicial de substrat:

Table 2 2,3-BDO yield and productivity as a function of initial glucose concentration of *B. atrophaeus* NRS-213, *B. mojavensis* B-14698, and *B. vallismortis* B-14891

Initial glucose [g/L]	<i>B. atrophaeus</i> NRS-213			<i>B. mojavensis</i> B-14698			<i>B. vallismortis</i> B-14891		
	Time [h]	2,3-BDO yield [g/g]	Productivity [g/(L·h)]	Time [h]	2,3-BDO yield [g/g]	Productivity [g/(L·h)]	Time [h]	2,3-BDO yield [g/g]	Productivity [g/(L·h)]
60	19	0.35	1.00	17	0.30	1.10	14	0.33	1.40
80	24.5	0.33	1.03	24	0.29	0.92	24	0.28	0.94
100	30	0.33	1.00	32	0.21	0.69	21.5	0.35	1.60
120	45.5	0.25	0.63	35.5	0.31	0.94	35.5	0.38	1.17
140	49.5	0.20	0.46	49	0.26	0.77	52	0.32	0.88
160	71.5	0.15	0.26	95.5	0.10	0.17	48	0.33	1.12
180	71.5	0.22	0.30	95.5	0.12	0.18	50	0.37	1.18
200	76	0.26	0.26	95.5	0.11	0.13	55	0.33	1.10

Cultivation was carried out in MTP at a temperature of 39 °C and a shaking frequency of 700 rpm

Il·lustració 31. Comparativa de bacteris amb diferents concentracions inicials de substrat de glucosa [27]

Vist els resultats obtinguts *B. vallismortis* sembla un excel·lent candidat per a la realització pràctica, de disseny i càlculs d'aquest projecte.

Es disposa de totes les dades necessàries a nivell de producció, i a partir d'aquestes es podrà calcular el volum i en conseqüència, tota la geometria del bioreactor a dissenyar. La temperatura i la velocitat de gir del sistema d'agitació també es coneixen. Únicament es troben a faltar dades sobre el pH i l'oxigenació del fermentador.

6.4.2. *B. vallismortis* sp. nov.

Decidit el microorganisme que permetrà el disseny del sistema de producció de 2,3-BDO, és convenient comentar les característiques d'aquest. A partir de la publicació del seu descobriment, *Bacillus vallismortis* sp. nov., a *Close Relative of Bacillus subtilis, Isolated from Soil in Death Valley, California* [28], publicat per International Journal of Systematic Bacteriology, es desenvolupa aquest apartat.

Segons la publicació, aquest bacil sol presentar unes dimensions de 0,8-1 µm d'amplada per 2-4 µm de llargada, té capacitats motrius (flagels) i és grampositiu: dona positiu en la tinció de Gram, una prova que permet la identificació de microorganismes segons el seu embolcall cel·lular (membrana citoplasmàtica i paret cel·lular). Forma espores el·lipsoïdals i les colònies que genera a 28 °C en 2 dies són opaques, circulars i d'un diàmetre de 1-2 mm.



Il·lustració 32. Bacils

A més, és aerobi, amb el qual necessita d'oxigen per dur a terme les seves funcions biològiques, de les quals, la producció de 2,3-BDO també. La temperatura òptima de creixement està entre 28-30 °C, a un pH de 5,7.

El 1996 es va identificar la presència d'aquest bacil en una mostra de terra, que contenia

també altres microorganismes, dels quals alguns altres bacils també. Aquesta mostra de terra va ser presa a Death Valley, California, i d'aquí el nom.

Els altres microorganismes presents en la mostra ja havien estat catalogats i identificats prèviament, de manera que l'únic individu desconegut per identificar era el *B. Vallismortis*. Precisament, entre els altres bacils es trobaven *B. Atrophaeus*, *B. Mojavensis*, *B. Licheniformis*, *B. Subtilis* i *B. Amyloliquefaciens*, els tres primers dels quals mencionats i estudiats en l'article científic de l'apartat anterior. Tots ells tenen grans similituds genètiques i formen part de la mateixa espècie. Pràcticament les úniques diferències fenotípiques originades per les petites diferències en la seva seqüència d'ADN permeten la identificació i separació de tots ells.

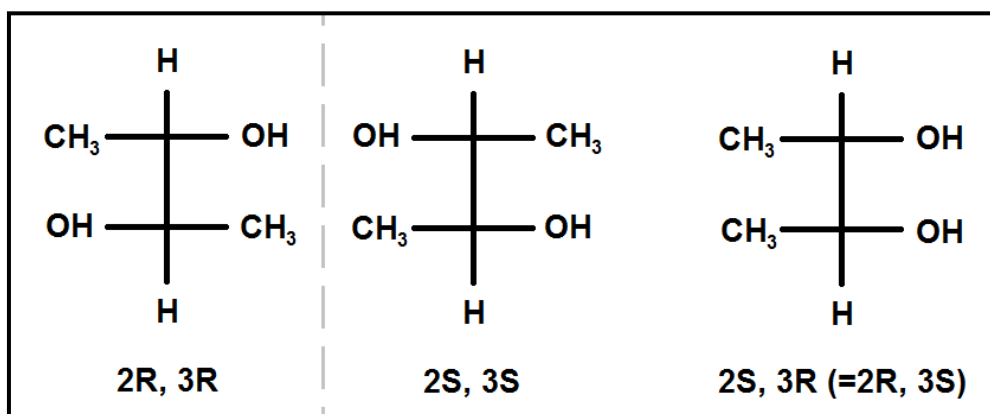
El fenotip és la reacció física o conductual d'un organisme posicionat en una certa situació o ambient, degut al seu genotip, és a dir, el seu ADN. Pel que fa a l'estudi de microorganismes, és habitual la seva identificació mitjançant al seu fenotip, sovint per l'alliberament d'enzims detectables i mesurables.

La distinció del nou bacil es va dur a terme primerament tractant d'aïllar sexualment el *B. vallismortis* del *B. subtilis*, ja conegut. Seguidament es van dur a terme altres experimentacions; cap d'elles va ser suficient per poder distingir el nou microorganisme. Finalment es va recórrer a la caracterització fenotípica, i en l'estudi de la composició dels àcids grassos es va poder distingir *B. vallismortis*.

6.5. Influència de la quiralitat en la deshidratació

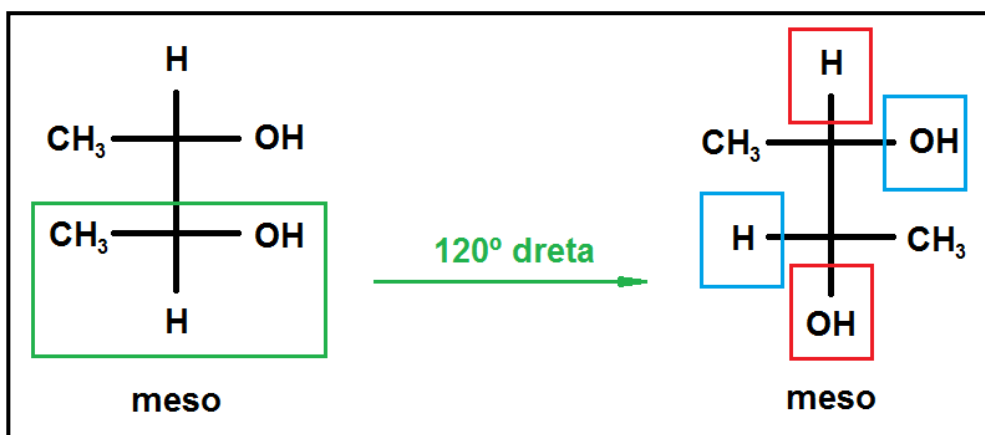
Tot i que l'abast d'aquest projecte no inclou centrar-se en les operacions que queden fora dels fenòmens relacionats amb el bioreactor, convé comentar l'efecte de la quiralitat del 2,3-BDO pel que fa a l'operació de deshidratació: el següent pas després de la fermentació per a l'obtenció de butadiè. Ja que l'intermedi entre el butadiè i el substrat de biomassa s'ha escollit que sigui el 2,3-BDO, del qual ja s'han mencionat les seves característiques quirals, és convenient definir com participaria posteriorment.

És conegut que per facilitar la deshidratació d'un compost orgànic quiral com el 2,3-BDO, interessa que els grups hidrogen i alcohol se situïn en el mateix pla de les projeccions de Newman [29]. A continuació les projeccions de Fischer per als tres estereoisòmers del 2,3-BDO:



Il·lustració 33. Estereoisòmers del 2,3-BDO

Des del punt de vista de la química orgànica es coneix que la configuració molecular que facilita més l'alliberament d'un grup H i d'un grup OH en una deshidratació és aquella en la que tots dos es trobin cadascun d'ells en un centre quiral diferent, en un mateix pla, i en aquest mateix pla, en posicions oposades.



Il·lustració 34. Rotació de la projecció de Fisher del meso-2,3-BDO

Observant les projeccions, veiem que aquest és el cas del compost meso, que de fet pot generar 2 plans amb les condicions descrites anteriors, oferint més posicionaments geomètrics per a l'execució de la reacció de deshidratació. Amb un gir de 120° en el sentit de les agulles del rellotge del centre quiral inferior s'aprecien aquests 2 plans.

Havent realitzat recerca bibliogràfica l'àmbit real és el següent [30]: hi ha un complet desinterès en qualsevol procés productiu pel que fa a conèixer amb quins dels estereoisòmers es treballa. Tot i que és cert que l'estructura dels estereoisòmers ajuda o dificulta a que es dugui a terme l'operació de deshidratació, es considera que la diferència energètica que suposa és negligible i senzillament es potencien les condicions de l'operació per obtenir butadiè a partir de la mescla d'estereoisòmers, és a dir, s'augmenta la temperatura.

Aquesta mínima diferència energètica entre estereoisòmers queda reflectida amb els diferents punts d'ebullició que tenen, tal i com queden indicats a 2-3-Butanediol [30], un paper realitzat per membres de la Universitat de Purdue, Indiana. Les diferències entre ells són de 1 o 2 $^\circ\text{C}$. Per tant la temperatura de canvi de fase del 2,3-BDO queda en un rang entre 182 $^\circ\text{C}$ - 177 $^\circ\text{C}$ (aquesta última pel que fa a la mescla racèmica).

7. Càlcul del sistema i els seus components

7.1. Producció desitjada

Es plantegen a continuació tots els càlculs, estudis i consideracions per tal de dissenyar un sistema de producció de 2,3-BDO mitjançant un bioreactor. L'objectiu és el de definir un sistema d'escala pilot, per tal de poder comprovar la capacitat d'obtenció de butadiè, en fases posteriors. Es decideix que aquest sistema produeixi 3000 kg de 2,3-BDO a l'any, i amb aquest objectiu, s'inicien els càlculs necessaris, començant pel volum del bioreactor.

A partir de la informació de *B. vallismortis sp. nov.* i de *Screening of novel bacteria for the 2,3-butanediol production*, tenim la següent taula de dades amb la que poder començar a plantejar un sistema producció:

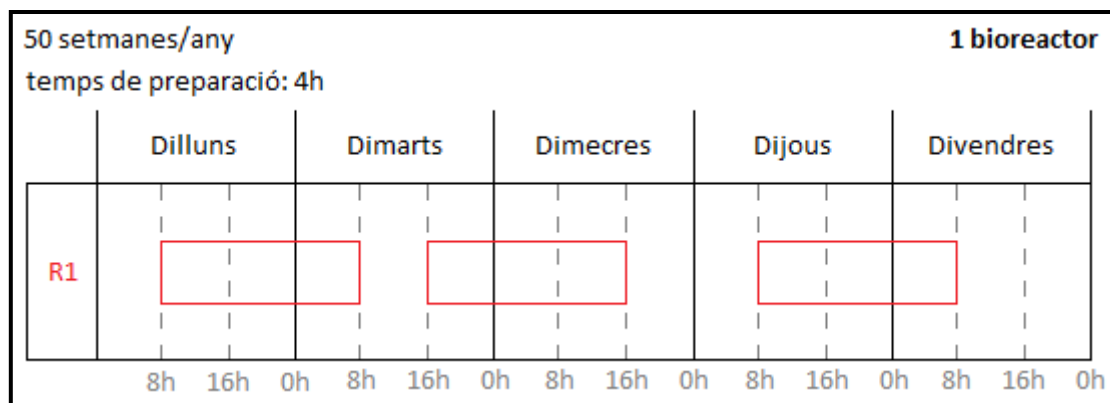
Concentració inicial de glucosa (g/L)	Temps (h)	Producció 2,3-BDO (g/L·h)	Concentració 2,3-BDO (g/L)	kg 2,3-BDO a l'any
100	21,5	1,6	34,4	3000

Taula 4. Dades extretes de *Screening of novel bacteria for the 2,3-butanediol production* [27]

Aquesta taula implica una sèrie de decisions ja preses i comentaris a fer:

- Pel que fa a la concentració inicial de glucosa, s'ha escollit partir d'un substrat de 100 g/L perquè, observant les dades obtingudes a l'article científic, es tracta de la concentració inicial que dona un major ritme de producció. També cal recordar la possibilitat de jugar amb diferents substrats d'origen, que no siguin necessàriament glucosa, però si fos el cas, això es plantejaria fer després d'un any de producció regular a partir de glucosa.
- El temps de reacció és de 21,5 hores, i per tal d'afavorir gestió, horaris i altres aspectes, es farà l'aproximació de que cada lot passarà 24 hores al bioreactor.
- La concentració obtinguda es considera força òptima.

Per altra banda, es plantegen un any de 50 setmanes laborals de treball i un temps de neteja, preparació i posada en marxa de 4 hores (molt probablement no caldrà tant, però per si de cas). El temps després de producció de lot es contempla curt. Per tant, la planificació de cada setmana laboral quedaria de la següent manera, pel que fa als lots del bioreactor:



Il·lustració 35. Primera planificació amb un reactor

S'observa que no sembla massa eficient a nivell d'organització temporal, ja que el divendres queda totalment desaprofitat (només per a buidar, netejar i deixar llest per a la setmana següent), i també s'observa que de dimecres a dijous hi ha una pèrdua de temps important. En aquesta taula s'han subdividit els dies en tres franges, per facilitar l'expressió de la durada dels lots. A més, s'ha de pensar també en els horaris dels treballadors de cara a quan es configuri la seva setmana laboral a nivell organitzatiu.

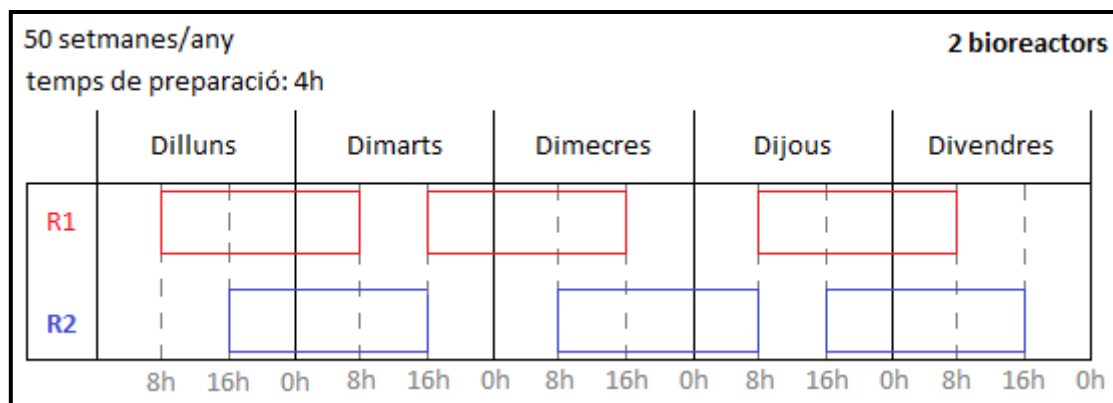
El fet de voler assolir l'objectiu de 3000 kg/any i de tenir tants pocs lots que poder realitzar durant la setmana, portaran inevitablement a que el volum del reactor hagi de ser molt gran. No sembla una molt bona estratègia però tot i així, es fa el càlcul del volum del reactor R1:

$$V = \frac{3000 \frac{kg}{any}}{3 \frac{lots}{set} \cdot 50 \frac{set}{any} \cdot 34,4 \frac{g}{L}} \cdot \frac{1000 g}{1 kg} = 581,4 L \quad (25)$$

No és un volum òptim, no és característic dels muntatge a escala pilot disposar de reactors de volums majors als 500 litres, i aquest volum obtingut és només el volum pròpiament de líquid, de l'espai de la reacció; encara caldria calcular el volum total de la unitat, resultant en un volum més gran.

En aquest punt, s'hauria de prendre una alternativa, i aquesta és força evident: treballar amb dos bioreactors aprofitant les estones en les que una comanda s'està realitzant per preparar l'altra, i a l'inrevés.

Es plantegen doncs, dos bioreactors d'igual capacitat que treballaran durant la setmana laboral de la següent manera:



Il·lustració 36. Segona planificació amb dos reactors

L'aprofitament del temps és enormement major, els horaris per als treballadors no són massa problemàtics i es duplica la producció. De nou, se subdivideixen els dies en tres franges per facilitar la visualització de les durades de lots.

A continuació, fem el càlcul del volum d'aquests reactors:

$$V = \frac{3000 \frac{\text{kg}}{\text{any}}}{2 \text{ reactors} \cdot 3 \frac{\text{lots}}{\text{set}} \cdot 50 \frac{\text{set}}{\text{any}} \cdot 34,4 \frac{\text{g}}{\text{L}}} \cdot \frac{1000 \text{ g}}{1 \text{ kg}} = 290,7 \text{ L} \quad (26)$$

Les condicions milloren moltíssim amb aquesta alternativa: el volum dels reactors és molt més reduït.

El pas següent és determinar el volum total dels bioreactors, ja que el volum obtingut abans, de nou, fa referència al volum de reacció pròpiament. Per tal de tenir en compte factors que requereixen espai, com la formació d'escuma o petites alimentacions que es duquin a terme, s'utilitza la següent relació:

$$V = 0,7 \cdot V_{total} \quad (27)$$

$$V_{total} = \frac{V}{0,7} = 415,3 \text{ L} \rightarrow 425 \text{ L} \quad (28)$$

De manera que s'arrodoneix a un valor superior més agradable, com 425 litres. Aquest serà el volum total del fermentador.

7.2. Geometria del bioreactor

Un cop determinat el volum dels bioreactors, ja es disposa de la possibilitat de calcular tota la geometria dels bioreactors. Aquests seran de tipus *batch* i, degut a això, s'empraran una sèrie de relacions característiques d'aquest tipus de reactors que permeten un càlcul ràpid i fiable de les diferents dimensions. En qualsevol cas, es comença per definir els elements més importants: el diàmetre i l'alçada.

Per a poder fer-ho, s'ha de tenir en compte que la totalitat del valor del volum trobat a

l'apartat anterior, es repartirà entre el cos cilíndric (principalment) i els casquets superior i inferior. El següent pas seria definir l'alçada d'aquests casquets, però sense tenir molt clar quines poden ser les proporcions volumètriques del fermentador, és difícil i imprecís decidir ja aquestes variables.

L'estratègia adequada és plantejar primer el bioreactor com si fos únicament un cos cilíndric, i amb l'alçada obtinguda, plantejar-se quines alçades de casquet poden ser adequades. S'emprarà també una de les relacions característiques del disseny de reactors *batch*: l'alçada és un 50% més gran que el diàmetre:

$$V = \frac{\pi}{4} \cdot D^2 \cdot H \quad (29)$$

$$V = \frac{1,5 \cdot \pi}{4} \cdot D^3 = 425 \text{ L} \quad (30)$$

$$D = 0,704 \text{ m} \rightarrow H = 1,006 \text{ m} \quad (31)$$

Davant d'aquesta alçada, que no serà la real però que sí dona una orientació de quines seran les dimensions finals, es pot prendre una decisió com la següent: els casquets tindran una alçada h de 12 cm.

Ara sí, es pot realitzar el càlcul real de l'alçada i del diàmetre del reactor de manera efectiva, mantenint constant el volum del reactor i desglossant-lo en els volums dels casquets i el volum del cos cilíndric. S'obté el següent:

$$V = \frac{\pi}{4} \cdot H \cdot D^2 + 2 \cdot \frac{\pi \cdot h}{6} \left(3 \cdot \left(\frac{H}{3}\right)^2 + h^2 \right) = 0,425 \quad (32)$$

$$V = \frac{\pi}{4} \cdot H \cdot \left(\frac{H}{1,5}\right)^2 + 2 \cdot \frac{\pi \cdot 0,12}{6} \left(3 \cdot \left(\frac{H}{3}\right)^2 + 0,12^2 \right) = 0,425 \quad (33)$$

$$H = 1,028 \text{ m} \rightarrow D = 0,685 \text{ m} \quad (34)$$

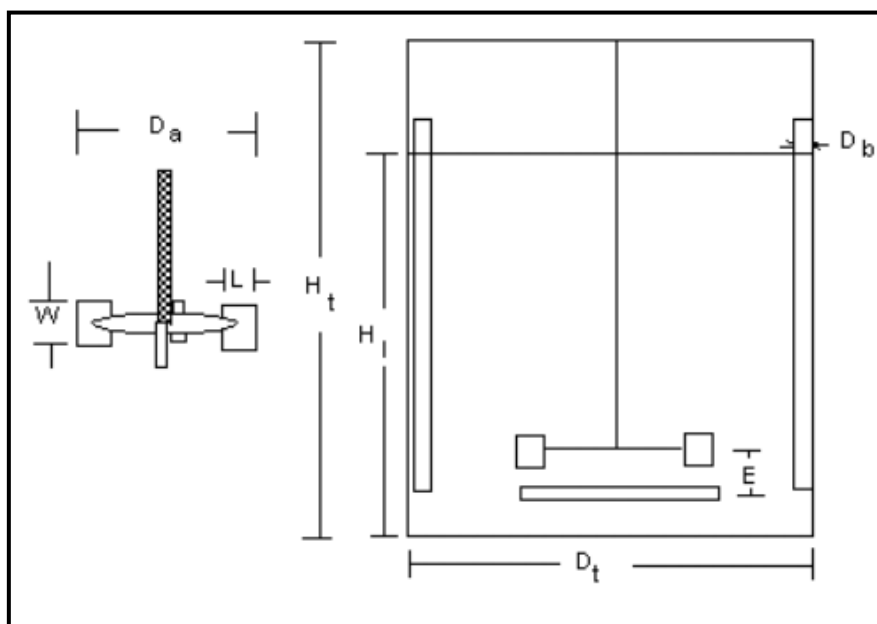
Pel que fa al material del fermentador, serà d'acer inoxidable. Degut a les seves capacitats físiques i químiques, especialment a destacar la seva resistència a la corrosió i pulcritud en l'acabat superficial per tal de facilitar les tasques de manteniment, és el material per antonomàsia en aquest àmbit. Un acer típic per al muntatge d'equips és l'acer 316.

Definits el diàmetre i l'alçada (de la part cilíndrica) es pot passar a utilitzar totes les relacions pròpies dels fermentadors *batch* i elaborar la següent taula, a partir d'aquestes dades obtingudes.

Dimensió	Relació teòrica	Dimensió calculada (m)
D_d del deflector	$0,7 \cdot D$	0,062
H_l de líquid	$0,7 \cdot H$	0,720
D_a de les pales	$0,33 \cdot D$	0,226
W de les pales	$0,2 \cdot D_a$	0,045
L de la turbina	$0,25 \cdot D_a$	0,057
E del ruixador	W	0,045

Taula 5. Dimensions característiques d'un reactor batch [31]

La següent imatge serveix com a referència per saber identificar ràpidament tots els elements als que es refereix la taula anterior.



Il·lustració 37. Dimensions característiques d'un reactor batch [31]

Ara, definits tots els paràmetres geomètrics principals, cal dedicar atenció a cada element auxiliar present en el sistema, i definir concretament quines característiques tindran per tal de complir amb l'objectiu.

Només per rematar aquest apartat però, s'estudia el gruix necessari de la paret del bioreactor a continuació.

7.2.1. Gruix del bioreactor

Sovint se solen construir els bioreactors de dimensions pilot amb acer inoxidable, i amb gruixos entre 2 o 5 mm. Com que no solen ser equips molt pesats ni que tampoc treballin a pressió (sovint estan oberts a l'atmosfera), no requereixen un gran gruix. És també el cas que ocupa aquest projecte.

Tot i conèixer aquesta realitat en quant al gruix, que ja seria suficient per dissenyar adequadament aquest bioreactor, es planteja a continuació l'estudi teòric que sol ser emprat per determinar gruixos per a reactors, però també tancs, dipòsits, canonades, etc. Se segueix l'anomenat codi ASME (American Society of Mechanical Engineers), estesesament utilitzat en molts països i gran referència per al disseny d'equips [32].

Per un cas com el que ocupa, el codi ASME establiria tres estudis: la prova de pressió interior, la prova de pressió exterior i la prova hidràulica. Com que l'equip ja és obert a l'atmosfera (no és un equip a pressió), no té sentit fer la prova de pressió exterior. Dit d'una altra manera, pel que fa a les proves de pressió, s'avaluarà la condició més extrema, que té lloc en aquell punt del dipòsit on se suporten la pressió atmosfèrica i la pressió deguda a tota l'alçada de líquid.

Per determinar aquesta alçada del líquid, s'assumeix que aquest no inunda, ni tan sols parcialment, el casquet superior, especialment tenint en compte el posterior sobredimensionament del reactor quan s'aplica la relació de que el volum calculat suposa un 70% del volum final del reactor. Per tant, es rescata el primer volum calculat, de 290 litres. D'aquest volum de líquid, se'n calcula l'alçada:

$$V_{liq} = 0,29 \text{ m}^3 = \frac{\pi}{4} \cdot H_{cil} \cdot \left(\frac{H}{1,5}\right)^2 + \frac{\pi \cdot h}{6} \left(3 \cdot \left(\frac{H}{3}\right)^2 + h^2\right) \quad (35)$$

$$V_{liq} = 0,29 \text{ m}^3 = \frac{\pi}{4} \cdot H_{cil} \cdot \left(\frac{1,028}{1,5}\right)^2 + \frac{\pi \cdot 0,12}{6} \left(3 \cdot \left(\frac{1,028}{3}\right)^2 + 0,12^2\right) \quad (36)$$

$$H_{l \text{ cilindre}} = 0,731 \text{ m} \quad (37)$$

L'alçada obtinguda és referida purament al cos cilíndric, si tenim en compte l'alçada del casquet inferior:

$$H_l = H_{l \text{ cilindre}} + h_{inf} = 0,731 + 0,12 = 0,851 \text{ m} \quad (38)$$

S'observa que aquesta dada és relativament similar a la obtinguda en les relacions de dimensionament de reactors agitats, amb les que s'havia obtingut un valor d'alçada de líquid de 0,720 m. Es decideix seguir els càlculs amb la dada recent, i ara ja es pot calcular la màxima pressió que es pot trobar en el bioreactor [33]:

$$P_{ph} = \max\left(1,43 \cdot P; 1,25 \cdot \frac{S_a}{S} \cdot P\right) = 1,46 \text{ MPa} \quad (39)$$

$$P = 1,01325 + \rho \cdot g \cdot H_l = 1,01325 + \frac{1000 \cdot 9,81 \cdot 0,851}{10^6} = 1,022 \text{ MPa} \quad (40)$$

Primer, es fa la prova de pressió interior, doncs. La fórmula descrita pel codi ASME per a un reactor de secció circular, i utilitzant la dada del radi interior és [34]:

$$t = \frac{P \cdot R}{S \cdot E - 0,6 \cdot P} \quad (41)$$

On t [mm] és el gruix del reactor, P [MPa] és la pressió atmosfèrica més la pressió de columna de líquid, R [mm] és el radi interior, S [MPa] és la màxima tensió admissible en funció de la temperatura de treball i E és un factor corrector menor o igual a 1, que corregeix si el cos cilíndric es fa soldant una làmina de manera helicoidal; com que el reactor serà massís, E serà igual a 1.

Per determinar la S , cal recórrer a taules publicades (veure Annex) on figura la màxima tensió admissible depenent de certs rangs de temperatures. Plantejant una temperatura de treball de 122 F (50 °C, per sobre de la de treball), la S és igual a 20 ksi. Traduït al SI són 137,9 MPa.

Cal dir també que aquest estudi teòric es fa escollint com a material un acer SA 516 de grau 70, un acer al carbó comú en la indústria. Fàcilment els resultats que s'obtidran seran aplicables a altres acers inoxidable. Se'n calcula el gruix:

$$t = \frac{1,022 \cdot \left(\frac{0,685}{2}\right)}{137,9 \cdot 1 - 0,6 \cdot 1,022} = 0,0025 \text{ mm} \rightarrow t' = 0,0025 + 1,5 \cong 1,5 \text{ mm} \quad (42)$$

S'obté un gruix molt petit, i com que sovint s'afegeixen 1,5 mm extra al resultat final per prevenir efectes de corrosió, pràcticament sembla que el gruix està dedicat a prevenir aquest efecte. Ja s'havia mencionat prèviament que les exigències mecàniques dels fermentadors són mínimes.

Es pot realitzar la prova hidràulica també. Aquesta es basa en posar a prova l'equip amb aigua a pressió (de fet fins i tot pot servir com a referència per a quan es facin les neteges del bioreactor). Es treballa amb les següents expressions:

$$P_{ph} = \max\left(1,43 \cdot P; 1,25 \cdot \frac{S_a}{S} \cdot P\right) \quad (43)$$

$$t = \frac{P_{ph} \cdot R}{S_e \cdot E - 0,6 \cdot P_{ph}} \quad (44)$$

On S_a [MPa] és la màxima tensió admissible a temperatura ambient (mateix valor que S , la diferència de temperatures influeix mínimament), S_e és el mínim límit elàstic a temperatura ambient (262 MPa) i P_{ph} és la pressió de la prova hidràulica. Fent els números:

$$t = \frac{Pph \cdot R}{S \cdot E - 0,6 \cdot Pph} = \frac{1,46 \cdot \left(\frac{0,685}{2}\right)}{262 \cdot 1 - 0,6 \cdot 1,46} = 0,002 \text{ mm} \quad (45)$$

De manera que l'estudi anterior engloba aquest gruix necessari, i tenint en compte el marge que s'afegeix per efectes de corrosió, l'equip queda totalment assegurat.

La conclusió d'aquest apartat és que, per seguir amb el convencionalisme del disseny de bioreactors d'escala pilot, es decideix aplicar un gruix de 3 mm, gruix que compleix amb els resultats obtinguts amb el codi ASME.

7.3. Agitador

El sistema d'agitació és aquell que més ajuda aproximar-se a la idea d'aconseguir tenir unes mateixes condicions de composició, temperatura, aeració, pH, etc, en qualsevol punt del volum de mescla del reactor. Assolir una situació ideal com aquesta és pràcticament impossible, i tot i així, per tal d'apropar-s'hi, encara calen altres elements com els deflectors o els airejadors, que es tractaran a continuació.

S'han de tenir molt clares les condicions de treball amb agitador, en cas contrari, es pot arribar a perdre la reacció que s'estigui duent a terme. En un cas com el que ocupa aquest projecte, velocitats molt elevades podrien afectar als microorganismes participants o també es podria generar un vòrtex massa profund que generés inestabilitat a tot el fermentador, en casos extrems, amb part de la turbina en contacte amb l'aire.

Per aconseguir aquesta homogeneïtzació de tots els factors participants en el fermentador, és necessari assolir un flux turbulent, que assegura la mescla massica i energètica del sistema.

Per al correcte disseny de l'agitador, és necessari utilitzar diferents números adimensionals. El primer d'aquests, el nombre de Reynolds (Re), s'utilitza per a poder distingir entre fluxos laminars, turbulents o de la zona de transició. La manera d'obtenir-lo és la següent:

$$Re = \frac{D \cdot u \cdot \rho}{\mu} \quad (46)$$

En condicions d'estudi de mecànica de fluids, D [m] és el diàmetre de canonada, u [m/s] és la velocitat del fluid, ρ [kg/m³] és la densitat del fluid i μ [Pa·s] la seva viscositat. Clarament el cas que es tracta en aquest projecte no és un sistema de canonades, per tant, necessitem adequar la fórmula de Reynolds. S'obté:

$$Re = \frac{D_a^2 \cdot n \cdot \rho}{\mu} \quad (47)$$

On D_a [m] és el diàmetre de l'hèlix de l'agitador, n [Hz] és la velocitat rotacional de l'agitador, ρ [kg/m³] és la densitat del fluid i μ [Pa·s] la seva viscositat.

Es coneixen el diàmetre d'hèlix de l'agitador a partir dels càlculs geomètrics anteriors, la velocitat d'agitació de 700 rpm extreta de *Screening of novel bacteria for the 2,3-butanediol production*, la densitat del fluid (adoptarem la de l'aigua, doncs la resta de components no afecten massa al valor d'aquesta) i la viscositat del fluid (un cop més farem servir la de l'aigua); per tant, calculem el nombre de Reynolds:

$$Re = \frac{0,226^2 \text{ m}^2 \cdot \left(700 \text{ rpm} \cdot \frac{1 \text{ Hz}}{60 \text{ min}}\right) \cdot 1000 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}}{0,001 \text{ Pa} \cdot \text{s}} = 595887 \quad (48)$$

L'ordre del valor obtingut indica clarament que en aquestes condicions es treballaria en règim turbulent, de manera que la velocitat feta servir en la bibliografia, sembla correcta, tot i que modificable.

El següent nombre adimensional a calcular és el que es coneix com nombre de potència (N_p). Conjuntament amb el nombre de Reynolds, permet decidir la configuració de turbina.

Abans, però, s'hauria de plantejar la possibilitat d'operar amb diverses hèlixs (en un mateix eix). Per tal de poder decidir-ho, existeix la següent expressió per conèixer el nombre òptim d'hèlixs:

$$\frac{H_l - D_a}{D_a} > n_i > \frac{H_l - 2 \cdot D_a}{2 \cdot D_a} \quad (49)$$

On H_l és l'alçada de líquid ja calculada anteriorment, D_a el diàmetre d'hèlix, i n_i el número enter d'hèlixs que queda comprès entre els dos factors. Es pot calcular el nombre d'hèlixs necessàries:

$$2,761 = \frac{0,851 - 0,226}{0,226} > n_i > \frac{0,851 - 2 \cdot 0,226}{2 \cdot 0,226} = 0,880 \quad (50)$$

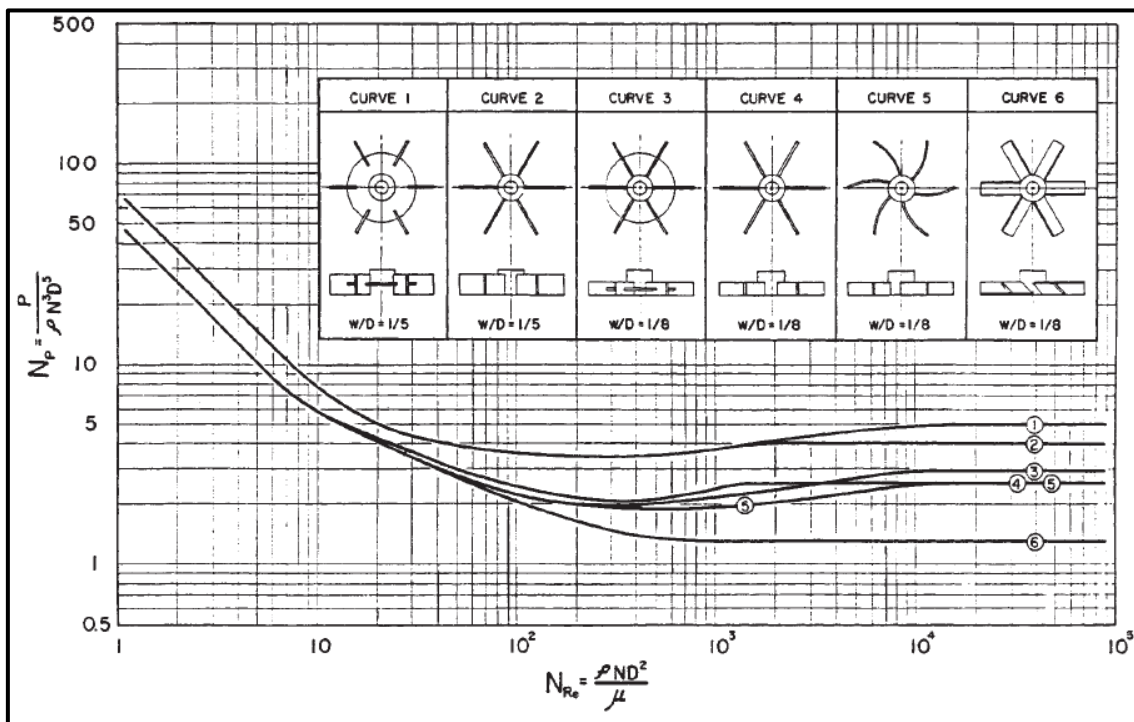
Seguint aquest criteri, observem que les opcions que hi ha són afegir una o dues hèlixs. Ara però, per tal que aquest criteri sigui efectiu, cal que la distància entre hèlixs sigui d'un valor entre un o dos diàmetres d'hèlix, degut a que separacions inferiors al diàmetre impliquen pèrdua de potència subministrada, i separacions superiors als dos diàmetres impliquen una agitació irregular del fluid. Tanmateix, l'hèlix superior ha d'estar a una distància de diàmetre i mig d'hèlix de la superfície del líquid, per tal de no generar situacions problemàtiques per formació de vòrtex. Es comprova a continuació si es poden implementar dues hèlixs, plantejant una separació entre hèlixs de 1,5 diàmetres també:

$$1,5 \cdot D_a + 1,5 \cdot D_a = 1,5 \cdot 0,226 + 1,5 \cdot 0,226 = 0,678 \text{ m} < H_l = 0,851 \text{ m} \quad (51)$$

Com que es compleix el criteri, es decidirà implementar dues hèlixs en l'agitador, en les posicions ja esmentades per poder realitzar el càlcul, és a dir, amb 1,5 diàmetres de separació.

Ara que ja es coneix el nombre d'hèlixs, coneixent que aquest té influència en el càlcul del nombre de potència, s'ha retingut el càlcul d'aquest fins ara. En la cèlebre publicació

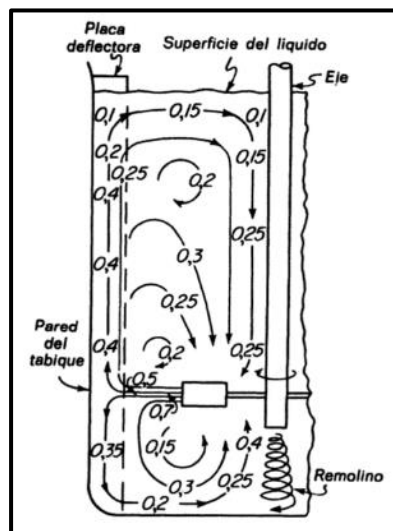
Perry's Chemical Engineer's Handbook que tracta amb profunditat entre altres temàtiques, l'agitació en reactors, es troba el següent gràfic que relaciona el nombre de Reynolds, el nombre de potència i la geometria de l'hèlix de l'agitador:



Il·lustració 38. Perfils de turbina Rushton [35]

Primerament, cal destacar que totes les hèlixs que es plantegen aquí són de flux radial (Rushton), i tot i que són les més habituals, n'hi ha d'altres formes i tipus en la indústria, per exemple, per a fluids molt més viscosos. En el cas d'aquest projecte amb dues radials convencionals ja és suficient. Aquestes promouen un moviment en el fluid de manera que generen corrents cap a la paret cilíndrica, i des d'aquí, el líquid es reparteix verticalment en ambdós sentits, barrejant-se de nou amb els futurs corrents.

Per altra banda, per decidir el nombre de potència, cal triar una de les 6 geometries d'hèlix que es presenten. Com que tampoc es requereixen una gran velocitat de gir ni capacitat d'arrossegament de fluid, es triarà el segon perfil de turbina, que té la geometria més senzilla de tots facilitant segurament les tasques de neteja. Molt probablement la resta de turbines servien també.



Il·lustració 39. Separació de trajectòries de fluid agitat

Triada l'hèlix i coneixent l'ordre de magnitud del nombre de Reynolds (10^6), ens situem a la gràfica anterior i seguint la corba de l'hèlix trobem que el valor del nombre de potència és 4.

Aquest número de potència va associat a una de les hèlixs, de manera que si se'n fan servir dues, a priori s'hauria de treballar amb el doble del seu valor. Ara però, el nombre de potència és un valor adimensional que intenta establir una relació entre les característiques del fluid del sistema i els equips consumidors de potència d'aquest.

En conseqüència, la primera hèlix consumirà potència per agitar el fluid seguint un cert sentit de gir i generant uns certs corrents, de manera que la segona hèlix, que girarà sobre el mateix eix que la primera (i en el mateix sentit), no trobarà una dificultat mecànica tal com la que experimentaria el mateix sistema amb una hèlix. En altres paraules, es podria dir que el sentit del corrent afavoreix el gir de la segona hèlix d'una certa manera, de manera que el factor de potència per a la segona hèlix ja no hauria de ser igual que per a un sistema on només hi fos la primera.

Per tant, la conclusió és que els factors de potència per una hèlix i l'altra seran < 4 ; el que sí que costa assegurar és quin valor prendran. S'estableix curiosament en aquest projecte que cada hèlix pren un nombre de potència de 3,5, de manera que el nombre de potència total del sistema d'agitació serà igual a 7.

Trobat aquest valor, el pas immediat és calcular la potència mecànica necessària per a l'agitació, mitjançant la següent relació [35]:

$$P = \rho \cdot D_a^5 \cdot n^3 \cdot N_p = 1000 \cdot 0,226^5 \cdot \left(700 \frac{\text{rev}}{\text{min}} \cdot \frac{1 \text{ min}}{60 \text{ s}} \cdot \frac{0,226 \cdot \pi}{1 \text{ rev}}\right)^3 \cdot 7 = 2346 \text{ W} \quad (52)$$

Un resultat de 2,3 kW es considera valor una mica elevat, i aquest valor és el de la potència útil, no la consumida. A més, utilitzar velocitats d'agitació de l'ordre de 700 rpm, tal i com es fa a la bibliografia, és innecessari, comporta un gran consum i a més, perill de danyar el cultiu cel·lular participant. La majoria de sistemes de producció basats en fermentadors empren velocitats d'agitació menors.

Com que el valor del nombre de potència trobat ha estat a partir d'un nombre de Reynolds d'ordre de magnitud 6 i segons el gràfic, aquest nombre de potència seguiria sent el mateix per a nombres de Reynolds d'ordre de magnitud 5, es planteja reduir la velocitat d'agitació, treballant a 500 rpm. Recàlcul de la potència consumida:

$$P = \rho \cdot D_a^5 \cdot n^3 \cdot N_p = 1000 \cdot 0,226^5 \cdot \left(500 \frac{\text{rev}}{\text{min}} \cdot \frac{1 \text{ min}}{60 \text{ s}} \cdot \frac{0,226 \cdot \pi}{1 \text{ rev}}\right)^3 \cdot 7 = 855 \text{ W} \quad (53)$$

Això, però, és la potència mecànica requerida pel sistema. Coneixent que els dispositius d'agitació solen presentar uns bons rendiments, se suposa un rendiment del 85%:

$$P_{\text{cons}} = \frac{P}{0,85} = \frac{855 \text{ W}}{0,85} = 1006 \text{ W} \quad (54)$$

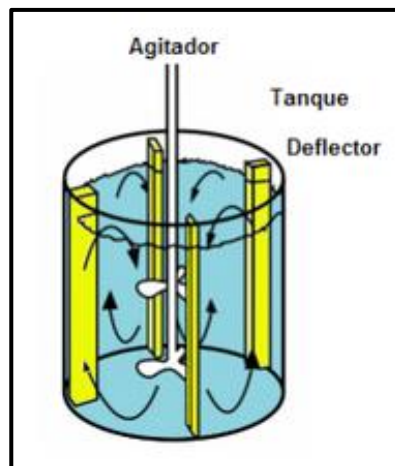
Per tant, caldrà un agitador que disposi d'un motor amb una potència quelcom superior, per exemple, de 2 kW.

Relacionat amb l'agitació, és convenient definir a continuació el sistema de deflectors.

7.3.1. Deflectors

Són una part estructural que s'afegeix a la paret interior del reactor. La seva finalitat és la de diversificar els corrents de fluid, que es troba girant degut a l'acció de l'agitador, i així disminuir la formació de vòrtex i les velocitats dins el reactor. En definitiva, generen major turbulència, homogeneïtzant així la mescla de matèria i energia.

A vegades tenen una certa inclinació respecte l'eix de gir de l'agitador, amb una certa forma helicoidal, i no solen tenir un gruix excessiu, de 1 o 2 mm com a molt. Poden ser part del propi cos cilíndric del reactor o afegir-se després, sovint amb soldadura. En ambdós casos, solen ser del mateix material que el reactor, i per tant, molt sovint són d'acer inoxidable també.



Il·lustració 40. Deflectors

En el cas d'aquest projecte, la dimensió radial ha quedat definida ja en la taula anterior, mitjançant les relacions del disseny de reactors *batch*, amb un valor de 6,2 cm.

Com que se sol treballar amb nombres parells de deflectors, però tampoc hi ha intenció de treballar amb grans velocitats d'agitació i no hi haurà grans vòrtex ni corrents, s'escull incorporar 4 deflectors verticals d'acer inoxidable amb soldadura.

7.4. Control de pH

Degut a la presència i participació de microorganismes en el fermentador, serà inevitable que aquests exerceixin influència en el pH i en la seva estabilitat, ja que realitzen processos metabòlics i van processant reactiu per donar el producte desitjat.

Per tal de mantenir la situació vigilada i controlada cal sovint regular el pH mitjançant una dissolució reguladora àcida o bàsica, segons convingui, i tractar de mantenir un cert pH.

És conegut que la majoria de bioreactors experimenten una transició de pH 7 a pH 4, aproximadament, durant la vida que té cada lot. Això succeeix degut a la formació de metabòlits i a la defunció de microorganismes en la fase corresponent [38].



Il·lustració 41. Controlador de pH [37]

Per tant, per tal de mantenir el pH estable, és necessari disposar d'una dissolució bàsica, (per exemple una dissolució de NaOH, fàcil i ràpida de preparar) per poder anar regulant la situació conforme es fa el lot en qüestió. A banda, caldrà incorporar un pH-metre per poder conèixer la situació en tot moment.

Com que no és gens pràctic estar pendent del valor de pH que marqui el sensor i afegir certa quantitat de la dissolució manualment, el millor seria emprar un dosificador. Aquests aparells incorporen una bomba que permet anar subministrant dissolució, i a la vegada, va registrant el pH en línia, oferint l'opció de programar la dosificació de dissolució per impedir que el volum de control en qüestió no assoleixi certs valors de pH.

En el cas d'aquest projecte es connectaria el *tubing* d'input de la bomba a un dipòsit amb la dissolució bàsica, i el *tubing* d'output i el pH-metre acoblats al reactor. Es podria programar el dispensador de manera que el pH no baixés d'un valor de 6,5, per exemple.

S'emprarà NaOH en el format habitual de pastilles per preparar la dissolució bàsica. El dissolvent de la dissolució serà la mateixa aigua desionitzada utilitzada per a l'emplenat del reactor. L'operari haurà d'estar atent a que la dissolució no s'exhaureixi en cap moment i n'haurà de preparar amb certa periodicitat. Una altra opció és comprar bidons de dissolució ja preparada, fet que facilita l'operativitat del tècnic.

En qualsevol cas, s'ha de tenir present que no es pot afegir massa volum de fluid més al reactor, ja que només un 30% serà aire i interessa conservar unes característiques de sistema *batch* pures, en altres paraules, intentar no treballar en mode *fed-batch*. Per tant, interessarà que sigui una dissolució concentrada, d'entre 2 M i 5 M. Concentracions més altes afectarien al cultiu en zones localitzades (en el punt d'aplicació) i podrien afectar força a la producció.

7.5. Control de Temperatura

Sovint un augment de la temperatura suposa un ajuda per millorar l'execució d'una reacció, però no necessàriament; és el cas dels bioreactors. El punt clau consisteix en mantenir la temperatura òptima en la que l'activitat metabòlica dels microorganismes participants sigui màxima. Temperatures massa altes o baixes, poden fer disminuir la capacitat productiva del procés, i en casos extrems, perdre la colònia participant. Caldrà un termòmetre per conèixer la temperatura del bioreactor en tot moment.

Anteriorment s'ha vist que es coneix la temperatura òptima de creixement de *B. vallismortis*, i en l'article de tal apartat, s'informa també de les temperatures mínima i màxima de creixement. Dit això, no s'ha de confondre en cap moment quina és la temperatura de treball: l'objectiu és una màxima producció de 2,3-BDO i no el màxim creixement de la colònia, per tant, la temperatura a fixar serà la de màxim metabolisme.



Il·lustració 42.
Termòmetre

En el cas que ocupa, l'article de la bibliografia defineix els valors de conversió assolits a una temperatura de 39 °C i, com que seran aquestes les dades de referència per a tota la part de resultats del projecte, l'objectiu serà mantenir aquesta temperatura.

7.5.1. Prescalfament

Per aconseguir mantenir una temperatura en un reactor, sovint pot ser necessari fer ús de calefactors, radiadors, camises tèrmiques o circuits de refrigeració, entre d'altres. També hi ha altres estratègies basades en la modificació de la temperatura dels fluxos entrants al reactor, és a dir, escalfant prèviament els fluxos d'aire i de dissolució de substrat per condicionar tèrmicament el sistema. Per altra banda cal tenir present que part del treball mecànic subministrat per l'agitador acaba esdevenint inevitablement certa aportació de calor. Un altre participant que hi ha en l'apartat tèrmic és l'aïllant.



Il·lustració 43. Resistències calefactores [39]

L'alternativa decidida és escalfar prèviament l'alimentació de líquid i dissenyar el sistema de manera que es minimitzin les pèrdues de calor del reactor durant les 24 hores en les que es triga a produir un lot. L'aigua que s'utilitzarà serà escalfada a una temperatura superior als 39 °C definits abans, per exemple, a 43 °C, amb l'objectiu d'assegurar mantenir la temperatura desitjada de manera mitjana durant la producció del lot.

Es disposa d'un temps de preparació per cada lot de 4 hores, i el preescalfament de l'alimentació en suposarà força estona. Per tant, es planteja que en una hora ja es pugui tenir tot el volum de lot tèrmicament condicionat, fet que afectarà a la potència necessària del calefactor que s'esculli. A més, tot això s'haurà de dur a terme en un tanc previ al reactor i aquest haurà de disposar d'un altre termòmetre, a banda dels que caldran per als bioreactors. Així doncs, el tanc haurà de tenir accés per gravetat als bioreactors, a través d'una vàlvula, de manera que el tanc haurà d'estar situat a sobre dels bioreactors.

Es planteja també, en el cas més conflictiu des d'un punt de vista tèrmic, que la temperatura mínima a la que l'aigua desionitzada emmagatzemada pot estar sotmesa durant l'any, poden ser com a molt uns 10 °C en època d'hivern, suposant que l'execució del projecte sigui a Barcelona.

Definides totes aquestes condicions, es pot establir quina serà la potència calorífica necessària a subministrar en el condicionament del lot d'aigua:

$$\dot{Q} = \frac{(\rho \cdot V_{liq}) \cdot c_p \cdot \Delta T}{1 h \cdot \frac{3600 s}{1 h}} = \frac{1000 \cdot 0,29 \cdot 4,18 \cdot (43 - 10)}{1 h \cdot \frac{3600 s}{1 h}} = 11,1 kW \quad (55)$$

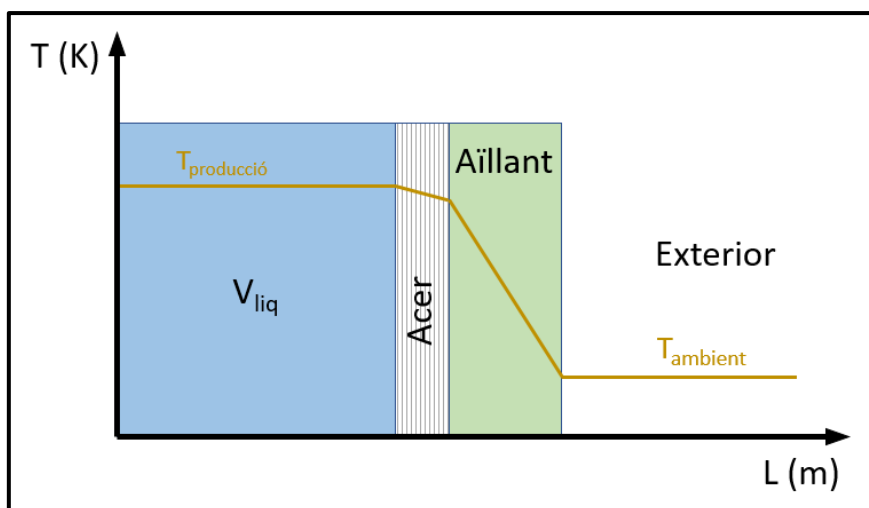
S'adquirirà una resistència calefactors ED012C de 12 kW, del catàleg de Brototermic, i només en caldrà una, doncs el mateix tanc de prescalfament servirà per tots dos reactors.

La següent part de l'estudi de la temperatura és la de garantir el manteniment de temperatura durant la producció del lot, mitjançant un bon aïllant.

7.5.2. Aïllant

Per tal de reduir l'ús de sistemes de calefacció per operar en la temperatura òptima de producció, és convenient instal·lar un aïllant tèrmic al voltant del reactor. Sovint se sol instal·lar només al cos cilíndric, degut a que els casquets solen contenir els ports d'entrada i sortida i requereixen fàcil maniobrabilitat, especialment en casos d'emergència. Per això, en aquestes àrees no hi haurà aïllant.

Per estudiar la transferència de calor que tindrà lloc, s'ha de plantejar un esquema com el següent:



Il·lustració 44. Perfil de temperatures

En el que l'acer, com a bon conductor, no aïlla pràcticament gens el contingut del reactor, de forma que no es té en compte. Cal dir també que un perfil de temperatures com aquest simplifica molt la realitat, ja que linealitzava el comportament de la temperatura. Tot i així, és una aproximació suficientment eficient per al disseny de bioreactors. A més, es planteja només la transferència de calor des de la mescla, i no es té en compte la part d'aire dins del reactor; una altra aproximació. En qualsevol cas, a nivell de números, sempre és millor tendir a treballar amb valors de temperatura elevats, per cobrir aquestes imprecisions no controlades.

La decisió que es pren per assegurar les condicions de temperatura de cada lot serà la següent: tenint en compte que la temperatura òptima de disseny és de 39 °C, es prescalfarà l'entrada a una temperatura de 43 °C, amb l'objectiu de que durant les 24 hores que triga un lot, la temperatura no baixi per sota dels 39 °C. És massa ideal pretendre que aquest sigui el comportament energètic del sistema en condicions reals, el

més probable és que les pèrdues siguin majors. Per tant, ja va bé dissenyar que la temperatura de producció òptima sigui la mínima en joc en el rang de temperatures d'operació.

Per a aquesta diferència de temperatura durant 24 hores, es calcula la potència tèrmica dissipada (assumint una densitat del contingut com si es tractés d'aigua):

$$\dot{Q} = \frac{(\rho \cdot V_{liq}) \cdot c_p \cdot \Delta T}{24 \text{ h} \cdot \frac{3600 \text{ s}}{1 \text{ h}}} = \frac{(1000 \cdot 0,290) \cdot 4,18 \cdot (43 - 39)}{24 \text{ h} \cdot \frac{3600 \text{ s}}{1 \text{ h}}} = 0,056 \text{ kW} \rightarrow 56 \text{ W} \quad (56)$$

Per tant, calculem quin ha de ser el factor de coeficient de conducció pel gruixut d'aïllant necessari per a permetre que únicament tinguin lloc aquestes pèrdues de calor. Cal tenir en compte que l'àrea de conducció tèrmica serà la cobertura cilíndrica del dipòsit, en unitats de superfície.

A més, la diferència de temperatures és la diferència global del perfil de temperatures, per tant, la diferència entre la temperatura màxima del reactor i la temperatura de l'ambient. En altres paraules, s'està forçant que el sistema només es pugui moure entre aquestes temperatures, i l'aïllant haurà d'adequar-se a aquesta condició.

S'assumeix una temperatura de 20 °C, ja que el reactor estarà situat en una zona de treball, i per tant, climatitzada. No es té en compte l'aïllament tèrmic de l'acer:

$$56 \text{ W} = \frac{\lambda}{L} \cdot A \cdot \Delta T = \frac{\lambda}{L} \cdot \left(2 \cdot \pi \cdot \frac{D}{2} \cdot H_{cil}\right) \cdot \Delta T; \quad (57)$$

$$56 \text{ W} = \frac{\lambda}{L} \cdot \left(2 \cdot \pi \cdot \frac{0,685}{2} \cdot 1,028\right) \cdot (43 - 20); \quad \frac{\lambda}{L} = 1,1 \left[\frac{\text{W}}{\text{m}^2 \cdot \text{K}}\right] \quad (58)$$

Cercant productes aïllants, es pot trobar la conductivitat tèrmica d'aquests, i mitjançant aquesta dada, conèixer el gruix d'aïllant necessari. Per a un aïllament a base de fibra de vidre comercial, amb una conductivitat aproximada de 0,04 W/m·K [40], el gruix necessari seria de:

$$L = \frac{0,04}{1,1} = 0,036 \text{ m} \rightarrow 36 \text{ mm} \quad (59)$$

Fàcilment se'n troben rotlles de més gruix i si no, es podrien fer diverses passades.

La fibra de vidre és un producte molt econòmic, no sol valer més de 10 €/m², tot i que segurament s'hauria d'adquirir un rotlle sencer, que al cap i a la fi és el format en el que el material està a la venda [41]. També es pot optar per treballar amb aïllants plàstics, com el poliuretà o diversos estirens.



Il·lustració 45. Rotlle de fibra de vidre

Per tant queda estudiat que no caldrà cap sistema de manteniment de la temperatura durant el temps de

producció de lot, només caldrà assegurar-se de que es fa entrar el flux de dissolució a certa temperatura.

No es contempla escalfament de l'aire, ja que el volum que ocupa dins el reactor és poc i amb el gran volum de líquid que hi haurà, ja assolirà a una temperatura suficient.

7.6. Aeració

Treballant amb microorganismes aerobis és indispensable administrar oxigen, i que la transferència d'aquest de la fase gas a la fase líquida es faci efectiu. Això és així per tal de que els microorganismes puguin consumir-lo amb la finalitat de mantenir la població activa i realitzar els processos metabòlics.

Existeixen diferents dissenys d'airejadors, des d'injector fins a anells ruixadors. Tot i que certament una de les funcions de l'agitador és homogeneïtzar l'aire subministrat i també de reduir la mida de les bombolles per tal facilitar la transferència d'oxigen a la fase gas, es pot facilitar aquest fenomen, utilitzant elements bombollejadors amb millors característiques geomètriques.

Posant dos exemples diferents, un anell ruixador funciona millor que un simple injector, posat que reparteix millor les bombolles en el volum del reactor, ne mateixes condicions d'agitació. L'altre exemple té a veure amb la mida dels porus de bombollejador; n'hi ha que tenen microporus, i faciliten la transferència a la fase líquida.



Il·lustració 46. Diferents tipologies d'airejadors: anells, injectors i difusors

Aquests últims són més efectius i cars però requereixen més neteja, ja que queden obstruïts pels soluts amb molta facilitat, especialment per microorganismes. Per tant, s'escull utilitzar un anell ruixador amb orificis de diàmetre de l'ordre de mil·límetres. També disposem d'una velocitat d'agitació força elevada i una turbulència garantida, així que tampoc és un gran inconvenient.

No es contempla que l'administració d'oxigen pugui ser un factor limitant en les fermentacions, i és per això que sovint en aquests tipus de processos se sol establir una administració de 1 vvm. Les unitats vvm es llegeixen com a litre d'aire subministrat per litre de reactor per minut.



Il·lustració 47. Compressor JEGS de 100 W [43]

Un excés de vvm subministrats no és preocupant, tot el contrari, afavoreix que l'aeració no sigui limitant. En qualsevol cas, es decideix treballar amb 1 vvm:

$$Q_{aire} = 1 \cdot vvm \cdot \frac{1 \text{ min}}{60 \text{ s}} \cdot V_r = 2 \cdot \frac{\text{m}^3 \text{ aire}}{\text{m}^3 \text{ reactor}} \cdot \frac{1 \text{ min}}{60 \text{ s}} \cdot 0,425 \text{ m}^3 \text{ reactor} = 0,007 \frac{\text{m}^3}{\text{s}} \quad (60)$$

Per tant, s'administraran 7 L/s d'aire.

Per altra banda, cal conèixer la pressió absoluta de l'airejador, en altres paraules, la pressió que haurà de vèncer la bomba: la columna d'aire atmosfèric i també la columna d'aigua des de la superfície del líquid fins l'alçada de l'airejador. En la realització dels plànols del bioreactor, s'observa que el bombollejador es troba a 736 mm de fondària, per tant:

$$P_{TOT} = P_{atm} + \rho \cdot g \cdot \Delta H = 101325 + 1000 \cdot 9,81 \cdot 0,736 = 108545 \text{ Pa} \quad (61)$$

En el llibre *Aeration: Principles and Practice* [42], es defineix el càlcul de la potència necessària a partir de l'equació de compressió adiabàtica:

$$DP = AP = \frac{wRT_a}{K} \left[\left(\frac{P_d}{P_a} \right)^K - 1 \right] \quad (62)$$

On el coeficient k depèn de les propietats de l'aire depenent de la localització de l'equip, depenent de la humitat de l'aire també. En qualsevol cas, es coneix que el valor empíric per a aire sec té un valor $k = 0,2857$. Posteriorment, en aquest llibre es reconfigura la fórmula anterior per fer el càlcul precís de la potència necessària del compressor, tal que:

$$P [W] = 0,1 \cdot Q_{aire} \left[\frac{\text{l}}{\text{h}} \right] \cdot \left(\left(\frac{P_{TOT}}{P_{atm}} \right)^k - 1 \right) = \quad (63)$$

$$= 0,1 \cdot 7 \cdot 3600 \cdot \left(\left(\frac{108545}{101325} \right)^{0,2857} - 1 \right) = 50,64 \text{ W} \quad (64)$$

Arrodonint, es necessitarà un compressor de 75 W o 100 W de potència. Cal afegir que també els compressors ja disposen d'un filtre d'aire, precisament per no afectar el seu funcionament intern. En aquest cas es decideix adquirir un compressor portàtil de la marca JEGS, de 100 W de potència.

7.6.1. Obertura a l'atmosfera

Tanmateix, relacionat amb l'aeració del fermentador, es decidirà tenir un port obert a l'atmosfera, per evitar sobrepressions i alliberar l'aire subministrat via bombollejador.

Per motius de seguretat i pulcritud, s'instal·larà un filtre d'aire en aquest port de sortida, tractant d'evitar així que qualsevol element del fermentador, a banda de l'aire, pugui sortir del fermentador. Una opció senzilla i econòmica podria ser un filtre petit de carburador de cotxe, el material filtrant del qual sol ser cotó.



Il·lustració 48.
Filtre d'aire [44]

Finalment és convenient comentar que aquesta obertura a l'exterior és una altre element que afavoreix les pèrdues de calor del sistema. Senzillament caldrà ajustar la temperatura consegüentment.

7.7. Sortida

La sortida serà inevitablement una obertura en el casquet inferior del bioreactor d'un cert diàmetre i equipada amb una vàlvula del diàmetre corresponent. Ara però, això només referit al propi sistema del bioreactor, que és l'objectiu d'aquest projecte.

Es recorda que l'idea principal d'aquest projecte era dissenyar un reactor que permetés obtenir butadiè a partir de biomassa en un sol pas, amb participació microbiana. Com s'ha tractat en apartats anteriors, això no és possible actualment amb l'excepció d'un procés de proves que s'està duent a porta tancada per Genomatica i Braskem.

Per tant, queda fora de l'abast d'aquest projecte estudiar i dissenyar la segona etapa on tindria lloc la reacció de deshidratació del 2,3-BDO per esdevenir butadiè. Tot i així, es considera apropiat comentar quines serien les característiques de les operacions que seguirien després del sistema d'estudi d'aquest projecte.

7.7.1. Ultrafiltració

Per suposat que el fluid de sortida del bioreactor no serà 2,3-BDO pur, sinó que hi haurà presència d'aigua amb certes concentracions d'altres metabòlits alliberats pels microorganismes emprats, aquests també presents. A banda, quedaran segurament restes de nutrient en dissolució, hi haurà presència de la dissolució alcalina reguladora i alguns components de l'aire o l'aigua, tot i els filtratges de tots dos.



Il·lustració 49. Estació de membranes d'ultrafiltració

La primera operació és realitzar una ultrafiltració per separar els microorganismes de la mescla. La filtració amb membrana és un procés de tractament basat en la separació física de compostos presents en la fase aquosa emprant una membrana semi-permeable. És una tècnica relativament recent, i es juga amb la mida dels porus per aïllar els components.

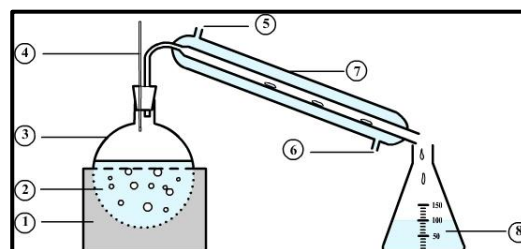
Dins de la filtració, es distingeix entre microfiltració, ultrafiltració, nanofiltració... depenent de la mida dels porus en qüestió [45]. Per al cas de la ultrafiltració els porus són d'un diàmetre de $0,05 \mu\text{m}$, de manera que són ideals per separar microorganismes com bacteris, tot i que també virus, i en general, qualsevol cos de mida superior. Es recorda que la mida de *B. vallismortis* era de $2-4 \mu\text{m}$ [28].

Les membranes estan fetes sintèticament amb polímers orgànics i tenen forma de làmina, tot i que se solen enrotllar per tal de garantir una millor filtració. Un cop aïllats els microorganismes i aquells elements pesats presents en el fluid de sortida, es passaria a la següent etapa.

Els sistemes de filtració tenen una gran complexitat i quantitat d'aspectes a tenir en compte. No és objectiu d'aquest projecte aprofundir més en aquest àmbit.

7.7.2. Destil·lació

El següent pas seria separar el 2,3-BDO de la resta de components, i això es realitzaria per destil·lació. S'ha vist anteriorment que la temperatura de canvi de fase està entre els $182 \text{ }^\circ\text{C}$ - $177 \text{ }^\circ\text{C}$, depenent de l'estereoisomeria.



Il·lustració 50. Sistema de destil·lació

Per tant, separant prèviament components de la mescla restant, com la separació de l'aigua, s'hauria d'escalfar la mescla a la temperatura coneguda per aïllar el butadiè, fent-lo passar per un refrigerador per obtenir-lo líquid ràpidament. Segurament es podria jugar

amb la pressió per no haver de treballar a temperatures tan altes i reduir consums energètics.

7.7.3. Deshidratació

S'han comentat prèviament alguns efectes i geometries moleculars en la deshidratació dels diferents estereoisòmers del 2,3-BDO però no s'ha profunditzat pròpiament en l'etapa de deshidratació. Aquesta és la segona de les operacions principals per a l'obtenció final del butadiè. Es té constància de que la deshidratació del 2,3-BDO es porta estudiant ja des dels anys 1940's.

Segons la tesi doctoral *Dehydration of 2,3-butanediol into 3-buten-2-ol and 1,3-butadiene over acid-base catalysts* [46], el camí d'obtenció del butadiè a partir del 2,3-BDO pot passar per una sola etapa en la que es juga amb altes temperatures (força complicada i d'alt consum energètic), o per dues deshidratacions en base àcida catalitzades amb òxid de zirconi (ZrO_2). Aquest catalitzador admet diferents variants, i pot anar combinat amb òxids com CaO , SrO o MgO , entre d'altres.

En aquest segon cas, es fa la primera deshidratació i s'obté idealment 3-buten-2-ol, tot i que altres productes es poden formar també, com la butanona. Depenent del catalitzador, la conversió s'enfoca més en un producte o un altre. La reacció té lloc a 300-350 °C. A continuació una taula amb diferents ràtios de conversió i selectivitat:

Catalysts	Reaction temp.(°C)	Conversion (mol%)	Selectivity (mol%)			Ref.
			BD	3B2OL	MEK	
H_2SO_4	180	99	-	-	96	131
Bentonite	225	-	-	-	86 ^a	132
Bentonite	700	-	7 ^a	-	10 ^a	132
Bentonite ^b	700	-	19 ^a	-	-	132
B/HZSM-5	200	100	1.4	-	70	133
HZSM-5	200	13	-	-	≥90	134
HZSM-5	250	99	14.5	-	51.5 ^a	135
Cs/SiO_2	400	6	-	17	11	136
Al-MCM-41	300	58	-	0	46	136
$AlPO_4$	250	12	1.4	3.8	64.7	137
$Na-P/SiO_2$ ^b	400	100	66.4	0	22.1	138
Acetic acid	≥500	100	≥80	-	-	140-142
Formic/acetic acid	500	100	70	-	-	143
ThO_2	350	100	3	70	8	119
ThO_2	500	100	62	1	26	119

BD, 1,3-butadiene; 3B2OL, 3-buten-2-ol; MEK, 2-butanone.

^a Yield of products.

^b Dehydration of 2,3-BDO in the present of water vapor as diluents.

Il·lustració 51. Estudi de catalitzadors per a deshidratació del 2,3-BDO [46]

Un cop realitzada aquesta etapa, la deshidratació del 3-buten-2-ol resulta més senzilla a nivell de temperatura i simplement s'utilitza alúmina com a catalitzador en condicions àcides. S'assoleix selectivitat de fins al 90%. S'observa a continuació una taula amb diferents possibilitats:

Table 1-6 Dehydration of C₄ UOLs and BDOs into BD.

Reactant	Catalyst	Reaction temp. (°C)	Conv. (mol%)	BD selec. (mol%)	BD yield (mol%)	Ref.
3-buten-1-ol	TiO ₂	375	38	50	19	121
	SiO ₂ -Al ₂ O ₃	250	42	13	5	121
	MgO ₂ -SiO ₂	400	95	14	13	89
2-buten-1-ol	TiO ₂	375	53	71	38	121
	SiO ₂ -Al ₂ O ₃	250	77	93	72	121
	MgO ₂ -SiO ₂	400	100	86	86	89
3B2OL	TiO ₂	375	70	70	49	121
	SiO ₂ -Al ₂ O ₃	250	71	93	66	121
	MgO ₂ -SiO ₂	400	100	68	68	89
1,3-BDO	TiO ₂	375	84	0	0	121
	SiO ₂ -Al ₂ O ₃	250	73	36	26	121
	Al ₂ O ₃	250	49	0	0	121
2,3-BDO	TiO ₂	325	97	26	25	this study
	Al ₂ O ₃	325	100	42	42	this study
1,4-BDO	SiO ₂ -Al ₂ O ₃	200	27	67	18	130
	SiO ₂ -Al ₂ O ₃	275	100	5	5	130
	Al ₂ O ₃	200	17	70	12	130
	Al ₂ O ₃	275	100	rare	rare	130

Il·lustració 52. Característiques de deshidratació del 2,3-BDO i espècies properes [46]

Ara però, com ja es pot entreveure en la taula anterior, aquesta tesi doctoral plantejava la possibilitat de realitzar la deshidratació en un sol pas i sense una necessitat de treballar a altes temperatures (per sobre dels 600 °C). L'autor del treball, Hailing Duan, confirma haver obtingut butadiè a partir del 2,3-BDO directament emprant com a catalitzador ThO₂ a 300-350 °C.

La tesi doctoral és molt més extensa i es contempen moltíssimes possibilitats, especialment distingint entre catalitzadors, però la conclusió és que s'ha de treballar amb catalitzadors de zeolita i/o alúmina en condicions àcides i sobretot, a més temperatura, millor comportament de reacció de deshidratació. Per tant, per dur a terme la segona operació en l'obtenció del butadiè caldria un sistema que permeti mantenir aquestes condicions.

7.8. Aigua desionitzada i cultiu

L'aigua emprada en la producció de lots serà aigua desionitzada. La desionització és un procés en el qual l'aigua es fa passar per resines que reaccionen i capten els anions i cations presents.

En aquest projecte se suposarà que les instal·lacions en les que se situï el sistema de bioreactors disposaran ja d'un sistema d'obtenció autònom d'aigua desionitzada, que es podrà fer servir amb facilitat.

Per altra banda, també es considerarà que les instal·lacions on es dugui a terme l'execució d'aquest projecte també disposaran d'una soca de *B. vallismortis* i de totes les condicions i material de laboratori per a poder multiplicar-la i reconstituir-la fins poder incorporar-la a cada lot.

7.9. Glucosa

La glucosa que s'utilitzarà per preparar cada lot es comprarà en tones i s'afegirà en el tanc de prescalfament. Es recorda que la concentració òptima era de 100 g/L, de manera que:

$$100 \frac{g}{L} \cdot 290 \frac{L}{lot} \cdot 6 \frac{lot}{set} \cdot 50 \frac{set}{any} = 8700 \frac{kg}{any} \quad (65)$$

Cada any caldran 87 tones de glucosa en pols per reactor. Una altra dada rellevant és que cada lot necessitarà 29 kg de glucosa.

7.10. Elements addicionals

7.10.1. Ports

Avaluades totes les temàtiques anteriors, ara ja es poden dissenyar la quantitat i posicionament dels ports d'entrada i sortida. Queda més clar en la següent taula:

ID port	Lectura d'ID	Posició	Funció
0-S	0-STIRRER	Casquet superior	Agitador
1-T	1-TEMPERATURE	Casquet superior	Entrada prescalfada
2-P	2-PH	Casquet superior	Dosificador de base

3-P	3-PH	Casquet superior	pH-metre
4-X	4-EXTRA	Casquet superior	Auxiliar
5-T	5-TEMPERATURE	Casquet superior	Termòmetre
6-A	6-AIR	Casquet superior	Filtre aire
7-A	7-AIR	Casquet superior	Airejador
8-X	8-EXTRA	Casquet superior	Auxiliar
9-O	9-OUTPUT	Casquet inferior	Sortida

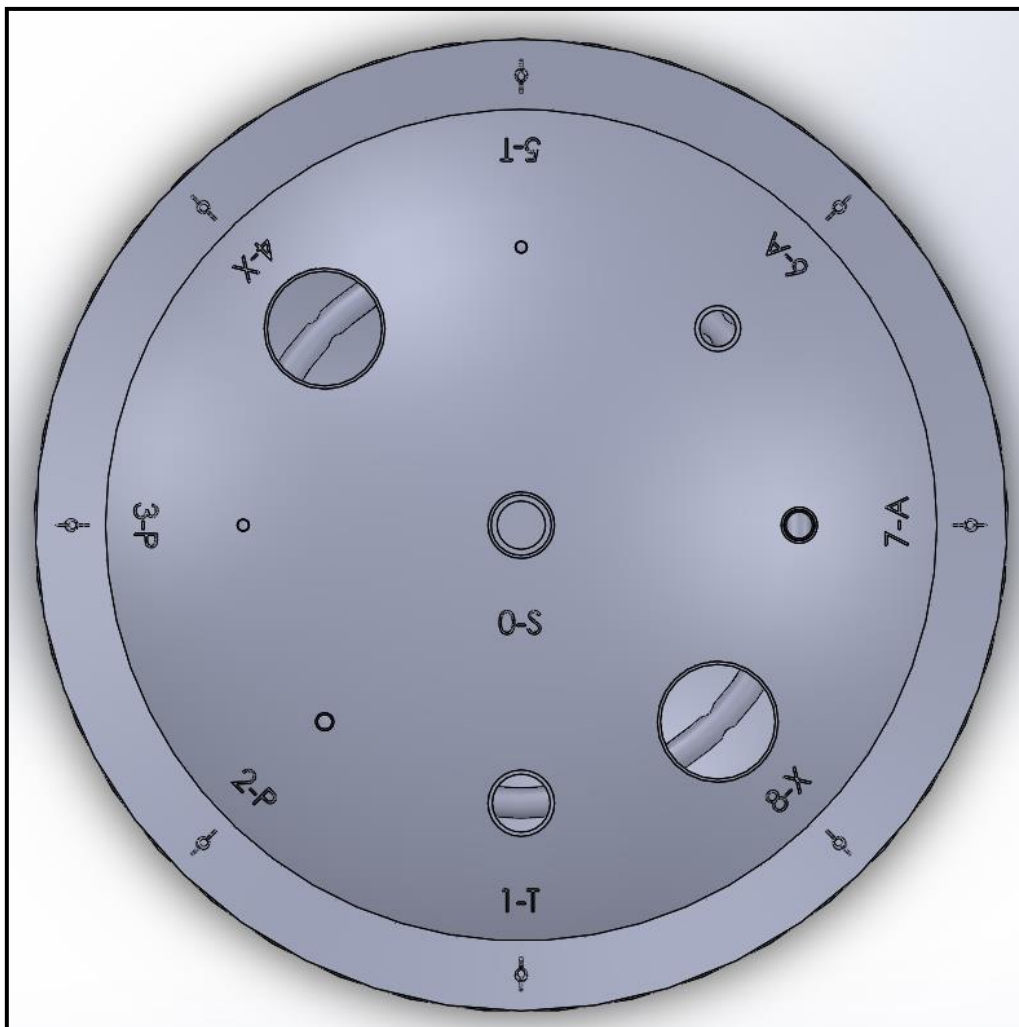
Taula 6. Identificació i ordre dels ports del bioreactor

Per definir la ubicació dels ports, s'han fet una sèrie de consideracions i pres una sèrie de decisions que es comenten a continuació:

- Tots els ports duran el seu ID gravat per tal d'identificar-los fàcilment.
- El port per a l'agitador i el port per a la sortida han de estar situats en l'eix de revolució, concèntrics al sistema, respectivament, un situat al casquet superior i l'altre situat en el casquet inferior.
- La resta de ports, tots situats al casquet superior, estan distribuïts en parelles, segons la seva dedicació: operativa de temperatura, operativa d'aire, operativa de pH i operativa auxiliar. Això s'ha decidit fer així per facilitar l'enteniment del sistema, de cara, per exemple, als operaris que es contractin per mantenir l'equip en mode de producció.
- D'aquestes parelles de ports, els d'operativa de pH estaran junts, doncs senzillament es requeriran un port per incorporar el pH-metre i un altre per al dosificador de dissolució bàsica, que rebrà les ordres d'un registrador de dades, situat entre els dos ports.
- La parella de ports d'operativa d'aire, també estaran junts. Un port serà per instal·lar el bombollejador (connectat al compressor d'aire), i l'altre per posar una obertura del bioreactor a l'aire, amb un filtre.
- La parella de ports de temperatura, se situaran de manera que el termòmetre estarà oposat a l'entrada prescalfada, per assegurar-se que la temperatura llegida al termòmetre sigui la més baixa possible, comprovant així la homogeneïtat tèrmica del reactor (degut a l'agitació, l'aeració...).
- La parella de ports auxiliars també es disposaran oposats l'un a l'altre. Tot i que simplement queden com a ports auxiliars i no es preveuen usos concrets, sí

que es pot pensar en la seva disposició de cara a la neteja del reactor entre lot i lot. Concretament, la neteja es duria a terme amb vapor d'aigua a pressió a través d'un port, així que, tenint en compte la quantitat d'elements que hi ha a l'interior del reactor (agitador, deflectors, sensors...), resulta interessant alternar la neteja entre un mínim de dos ports, per així aconseguir que les neteges tinguin un abast complet de la superfície exposada a quedar contaminada.

Cadascun dels ports tindrà un diàmetre adequat per a la funció que hagi de dur a terme. Per exemple, el dosificador de pH accedirà al reactor en forma de tubing, de manera que en l'entrada al reactor caldrà un ràcord amb adaptació de goma. Per poder fer-se una idea prèvia a la ubicació descrita prèviament dels ports, el casquet superior tindrà una distribució tal que:



Il·lustració 53. Vista picada del bioreactor i els ports del casquet superior

7.10.2. Vàlvules

Pel que fa a les vàlvules pels ports, s'escolliran vàlvules de bola, ja que són econòmiques i habituals, i a més, no hi haurà cap fenomen en el sistema que requereixi altres opcions més sofisticades.

En total, caldran quatre vàlvules: per al tanc de dissolució bàsica, pel port de sortida del casquet inferior de cada reactor i per a l'alimentació prescalfada.



Il·lustració 54. Vàlvula de bola

7.10.3. Fixació casquet superior

El casquet inferior se soldarà al cos cilíndric del reactor, no hi ha cap interès en poder obrir-lo. Pel que fa al casquet superior sí que resulta interessant poder obrir-lo, de manera que s'hi faran servir cargols d'orella per fixar el casquet, però que fàcilment es poden desenroscar per retirar la cobertura, sempre a mà.



Il·lustració 55. Cargol d'orella

El motiu més probable d'obertura del casquet és per realitzar la neteja de l'interior del fermentador amb cura.

7.10.4. Estructura suport

Es contempla posicionar ambdós reactors en una estructura feta de tubs d'acer soldats, per tal de mantenir tot el sistema de producció junt. Addicionalment, s'hi podrien posicionar també el tanc de prescalfament, el tanc contenidor de la dissolució bàsica, i en resum, tots els equips i elements addicionals dels reactors. També s'hi podrien afegir rodes a la base de l'estructura per a que el conjunt disposi de mobilitat i potser caldria que aquestes rodetes tinguessin un fre de peu, per tenir l'equip estàtic mentre s'hi està treballant.



Il·lustració 56. Rodeta

7.10.5. Soldadures

El més probable serà que formes com el cos cilíndric i el casquet inferior, així com els tubs d'entrada i sortida d'ambdós casquets no es puguin fabricar directament, i segurament serà necessari soldar aquestes peces per separat. Per suposat que les soldadures sempre se situaran per l'exterior del reactor, amb l'excepció de les que caldran per incorporar els deflectors.

7.10.6. Netejes

Entre lot i lot serà necessari una neteja, per tant, aquesta activitat queda compresa dins del temps de preparació de lot. El més adequat serà dur-ho a terme en dues etapes:

En primer lloc s'haurà de fer passar aigua amb clor per desinfectar i eliminar qualsevol resta d'agent biològic dins del bioreactor. El més habitual i barat és fer servir lleixiu comercial i rebaixar-lo amb aigua de xarxa. Sovint el lleixiu comercial és d'una concentració del 5% i el més habitual es fer les neteges amb un 1%. Simplement s'omplirà el reactor amb aquesta dissolució, es deixarà una estona (per exemple 30 minuts) i després es buidarà.



Il·lustració 57. Hidro-netejadora Kärcher [47]

En segon lloc, s'utilitzarà vapor d'aigua a pressió per fer un últim rentat, especialment per poder accedir als racons més amagats de l'interior del reactor: les zones de sensors, deflectors, eix de l'agitador i pales... Es calcula que per a cada neteja de vapor es caldrà un volum d'aigua de xarxa entre 4 vegades el volum de lot.

Com s'ha comentat anteriorment, es disposarà de dos ports per poder dur a terme aquestes neteges amb major facilitat.

7.10.7. Consum elèctric

Els elements consumidors d'energia són l'agitador, dosificador amb pH-metre, termòstat, compressor d'aire i neteges. A continuació una taula amb les potències consumides per cada element:

Elements	Comentaris	Potència (W)	Ús per lot (h/lot)
Agitador	Probablement no es consumirà una potència tan elevada, ja que aquest valor s'ha obtingut modelitzant una velocitat d'agitació de 500 rpm, i segurament, es treballarà amb una de menor	2000	24
Compressor d'aire	Tampoc es creu que es consumeixi una potència tan elevada, segurament es treballi entre un 25% i un 50% menys de potència	100	24
Calefactor	Segurament tampoc cal que es	12000	1

	treballi a tota potència, es probable que el prescalfament es pugui realitzar en un període més llarg d'una hora, i a banda, la temperatura ambient no serà sempre la més baixa		
Hydro-netejadora	Referit a les neteges amb vapor d'aigua	1400	0,25

Taula 7. Potències i temps d'ús dels equips auxiliars

Per conèixer els kWh/any per al posterior càlcul de cost de consum elèctric, es fa una aproximació tot seguit tenint en compte els temps aproximats d'ús de cada element:

$$E = (2000 \cdot 24 + 100 \cdot 24 + 12000 \cdot 1 + 1400 \cdot 0,25) W \cdot \frac{1 \text{ kW}}{1000 W} \cdot \frac{6 \text{ lots}}{\text{set}} \cdot 50 \text{ set} = \quad (66)$$

$$= 18825 \text{ kWh/any} \quad (67)$$

7.10.8. Consum d'aigua

Els elements que exigeixen consum de la xarxa d'aigua són únicament les neteges, ja que s'ha decidit realitzar els emplenats del reactor i la preparació de dissolució bàsica a partir d'aigua desionitzada.

Si es contempla que el volum de les neteges amb vapor d'aigua serà entre 4 vegades el volum de líquid del lot i que la neteja amb aigua i lleixiu és de l'1% de lleixiu, pràcticament és necessària un volum de neteja igual a 5 volums de lot per a cada lot produït. Això fa:

$$(4 + 1) \cdot V_{lot} = 5 \cdot 290,7 = 1453,5 \frac{L}{lot \cdot reactor} \quad (68)$$

Per al posterior càlcul del cost de consum d'aigua, cal fer un canvi d'unitats per poder conèixer quin serà el tram de quota mensual en el que se situa el projecte:

$$\frac{1453,5 \frac{L}{lot \cdot reactor} \cdot 2 \text{ reactors} \cdot 3 \text{ lots} \cdot \frac{1 \text{ m}^3}{1000 L}}{7 \text{ dies} \cdot \frac{24 \text{ h}}{1 \text{ dia}}} = 0,052 \text{ m}^3/\text{h} \quad (69)$$

Un consum d'aigua com aquest comporta assolir un cost de 10,12 €/mes.

7.10.9. Personal tècnic

Només caldrà un treballador per dur a terme totes les tasques necessàries: manteniment,



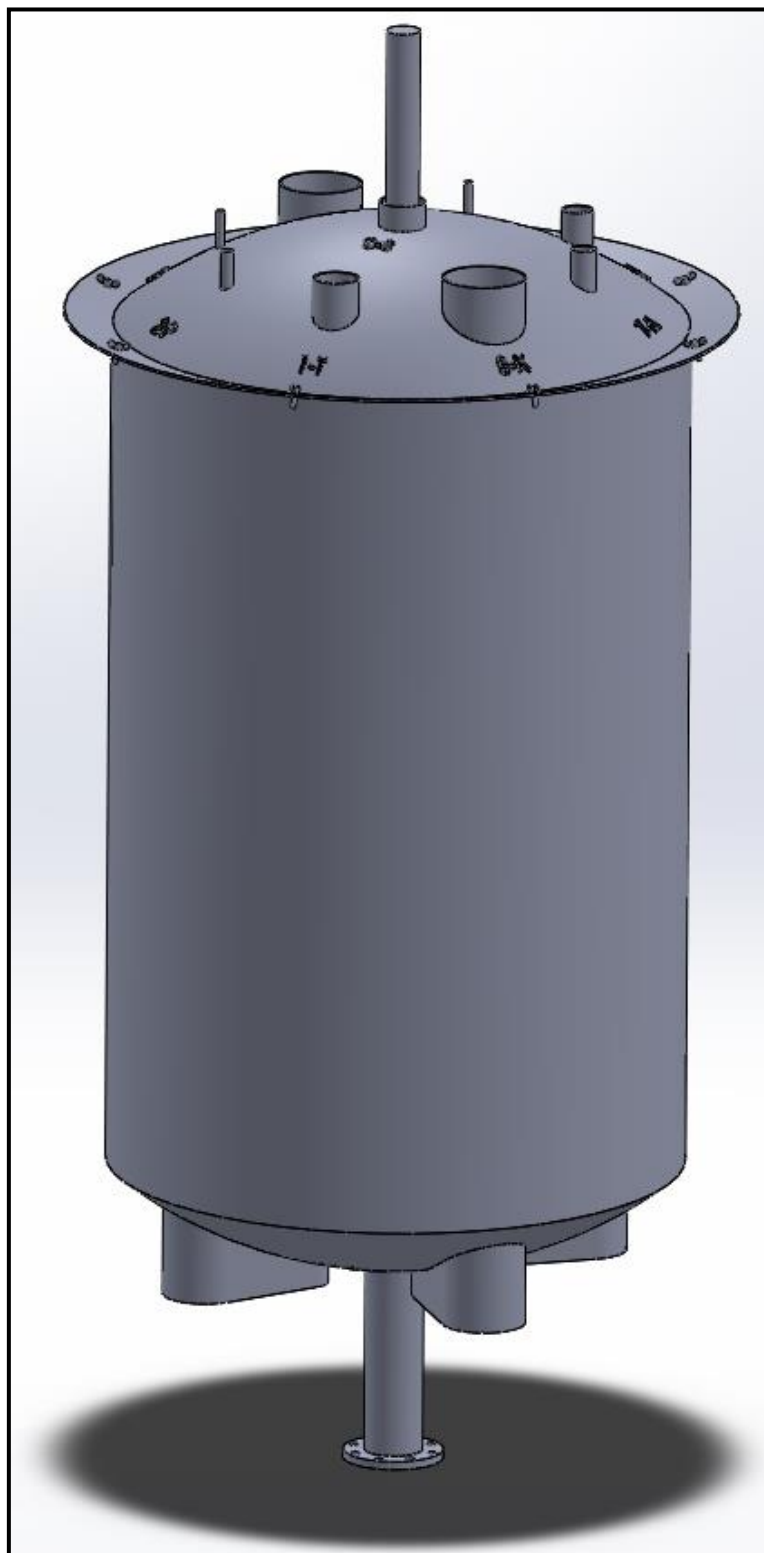
Il·lustració 58 Tècnic de Laboratori

buidat i ompliment dels bioreactors, gestió i control de les dades dels sensors i en general, qualsevol imprevist que pugui sorgir. Tot i així, des del punt de vista de la prevenció de riscos laborals, és recomanable que en ambients de control d'equips químics, i treballant amb microorganismes (tot i que siguin de grup de risc 1), hi hagi com a mínim una segona persona present. Es considerarà que els bioreactors s'instal·laran en algun ambient de treball, per exemple, la universitat o un centre d'investigació, ja que al cap i a la fi, és un equip pilot.

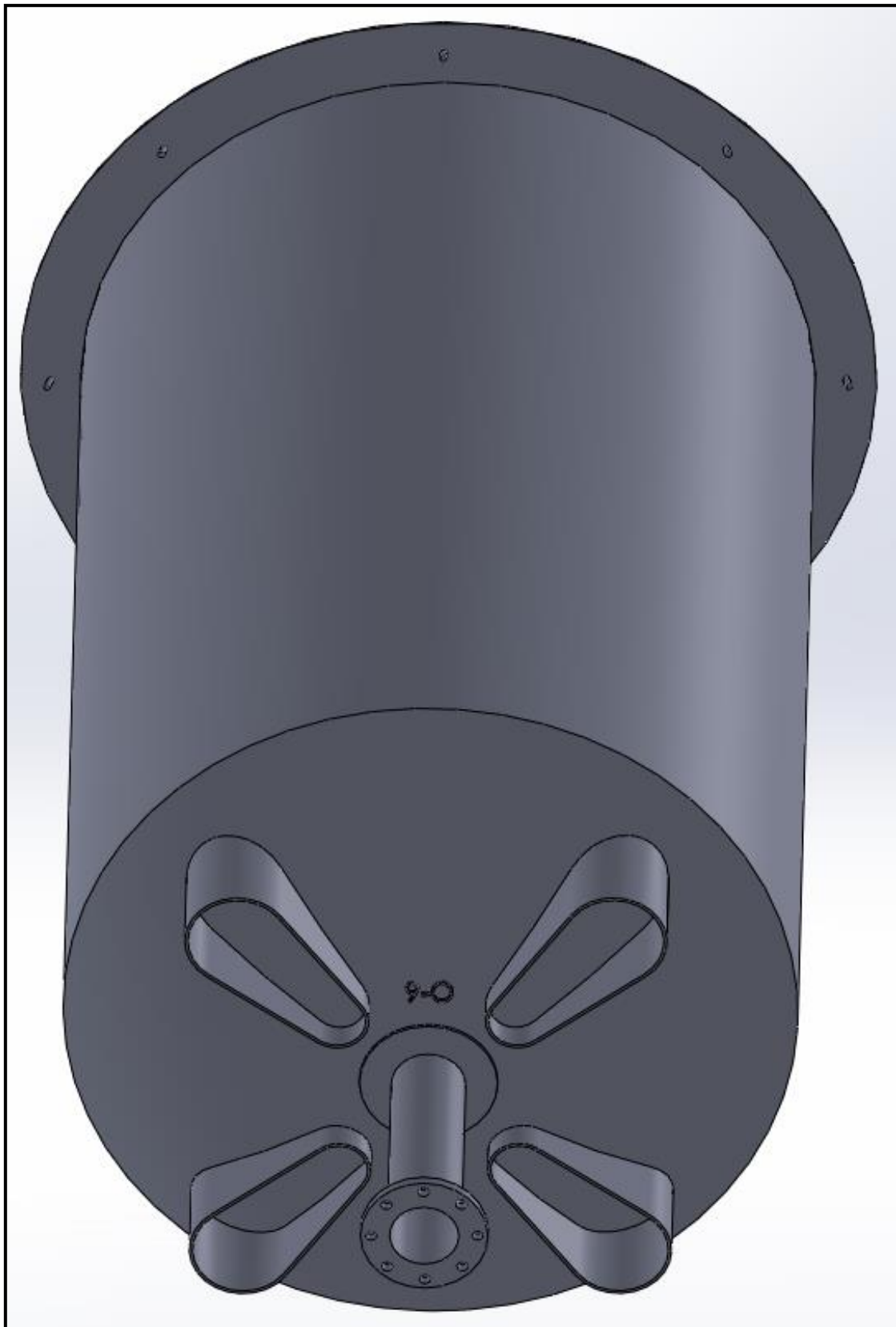
Observant els horaris definits en la taula de producció (Il·lustració 36), els temps inicials de lot serien a les 8:00 del matí com a molt d'hora, i per altra banda, els temps finals de buidat serien com a molt tard, a les 16:00 de la tarda. Tenint en compte que caldrà cert temps abans i després de lot per escalfar alimentació, netejar, reomplir i realitzar altres tasques, l'horari laboral pel tècnic contractat quedarà definit de 7:00 a 17:00, amb dues hores lliures per poder fer àpats o descansos, de manera que serà jornada laboral de 8 hores.

8. Disseny del bioreactor

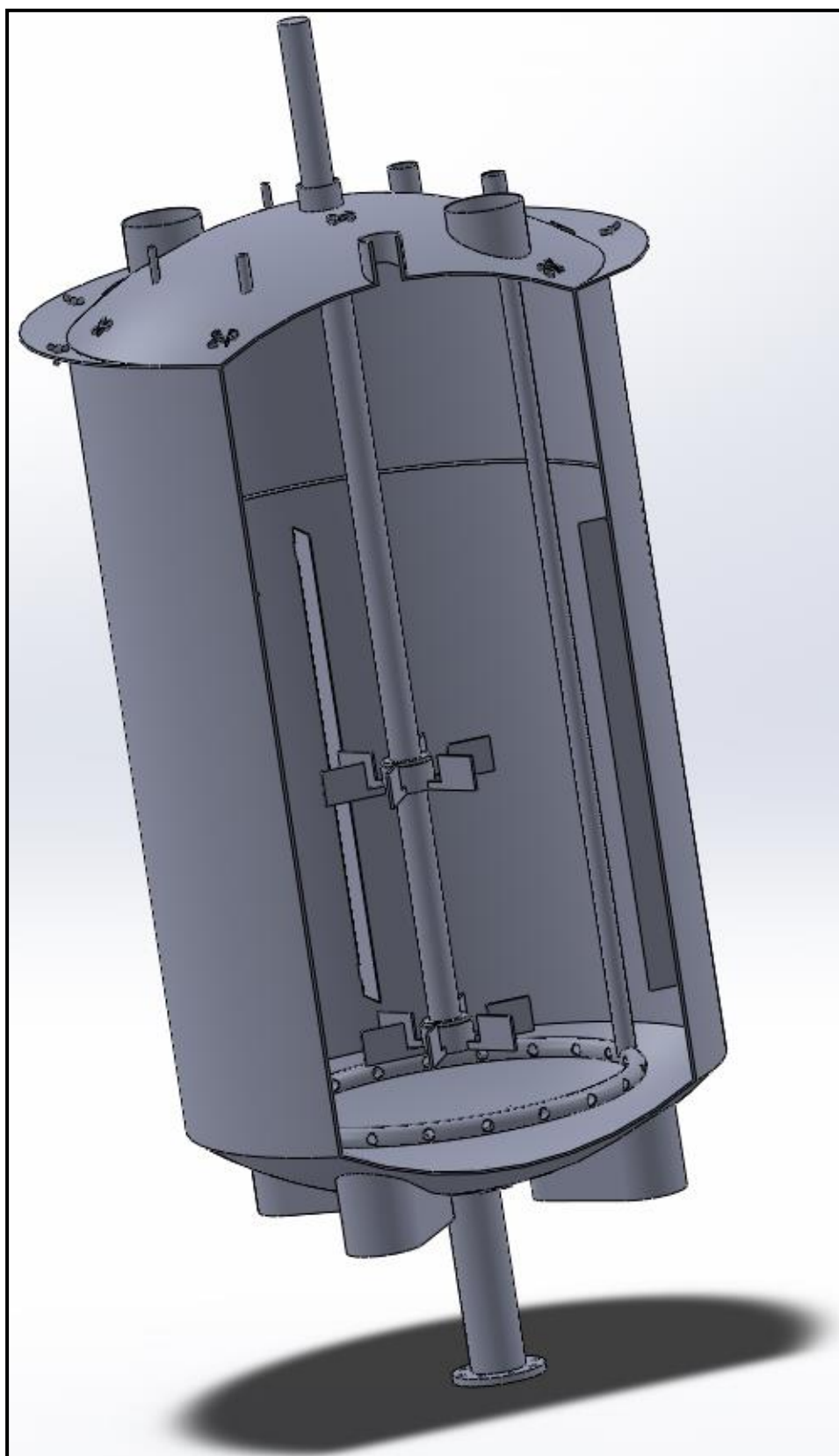
8.1. Disseny 3D



Il·lustració 59. Vista genèrica del bioreactor



Il·lustració 60. Vista del port de sortida i suports del bioreactor

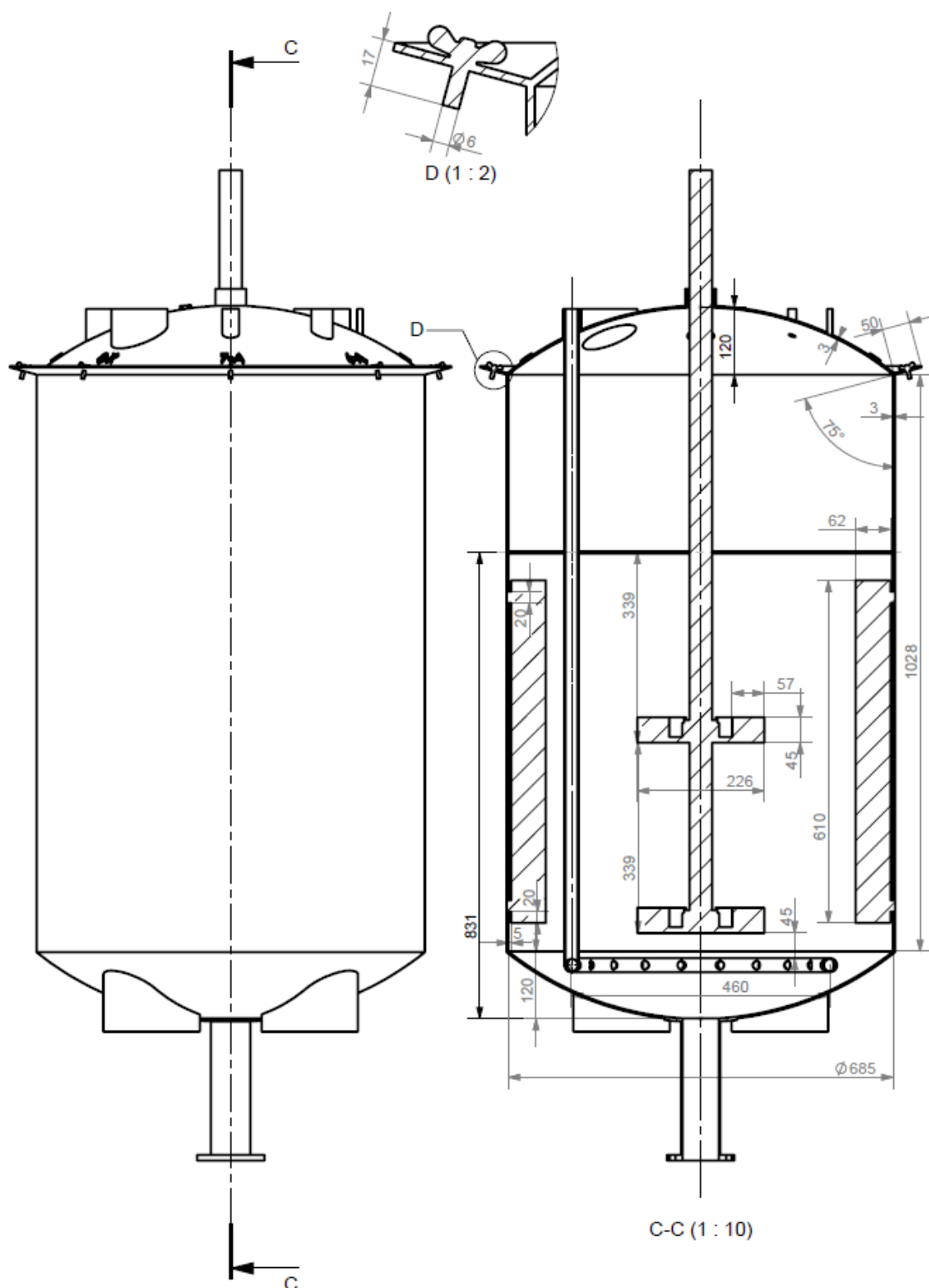


Il·lustració 61. Vista seccionada del bioreactor

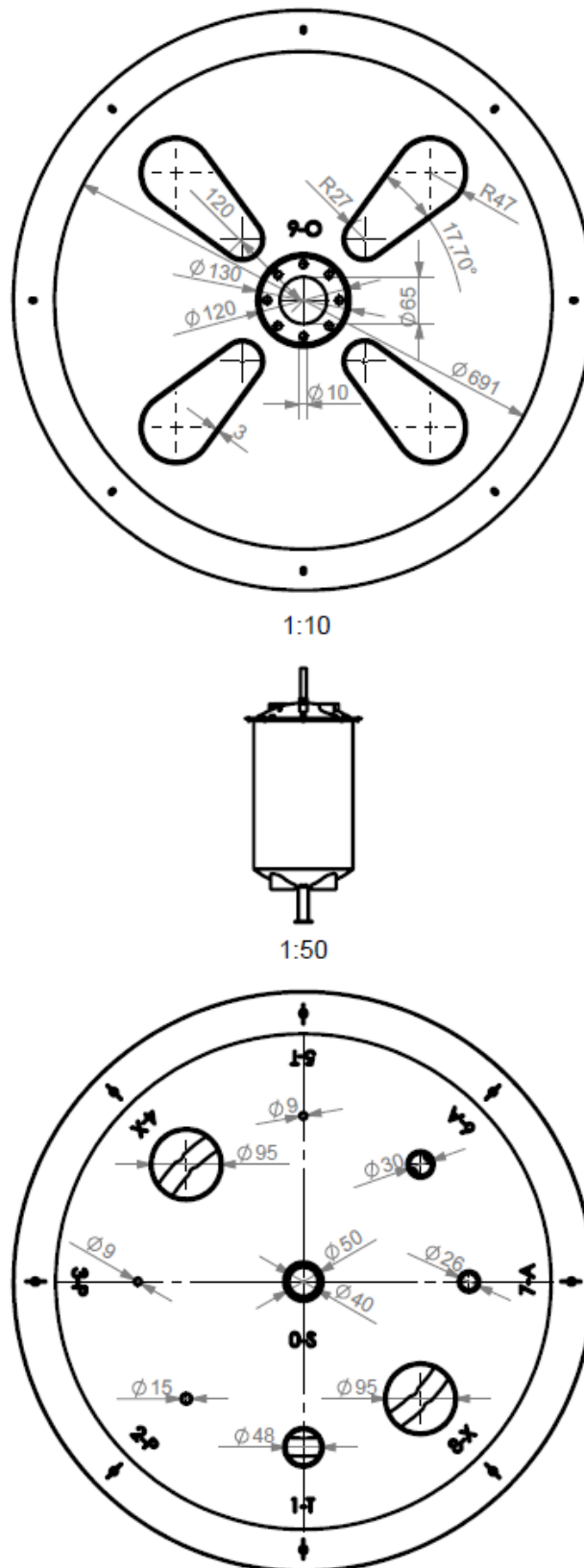


Il·lustració 62. Conjunt estructural amb els dos bioreactors treballant en paral·lel

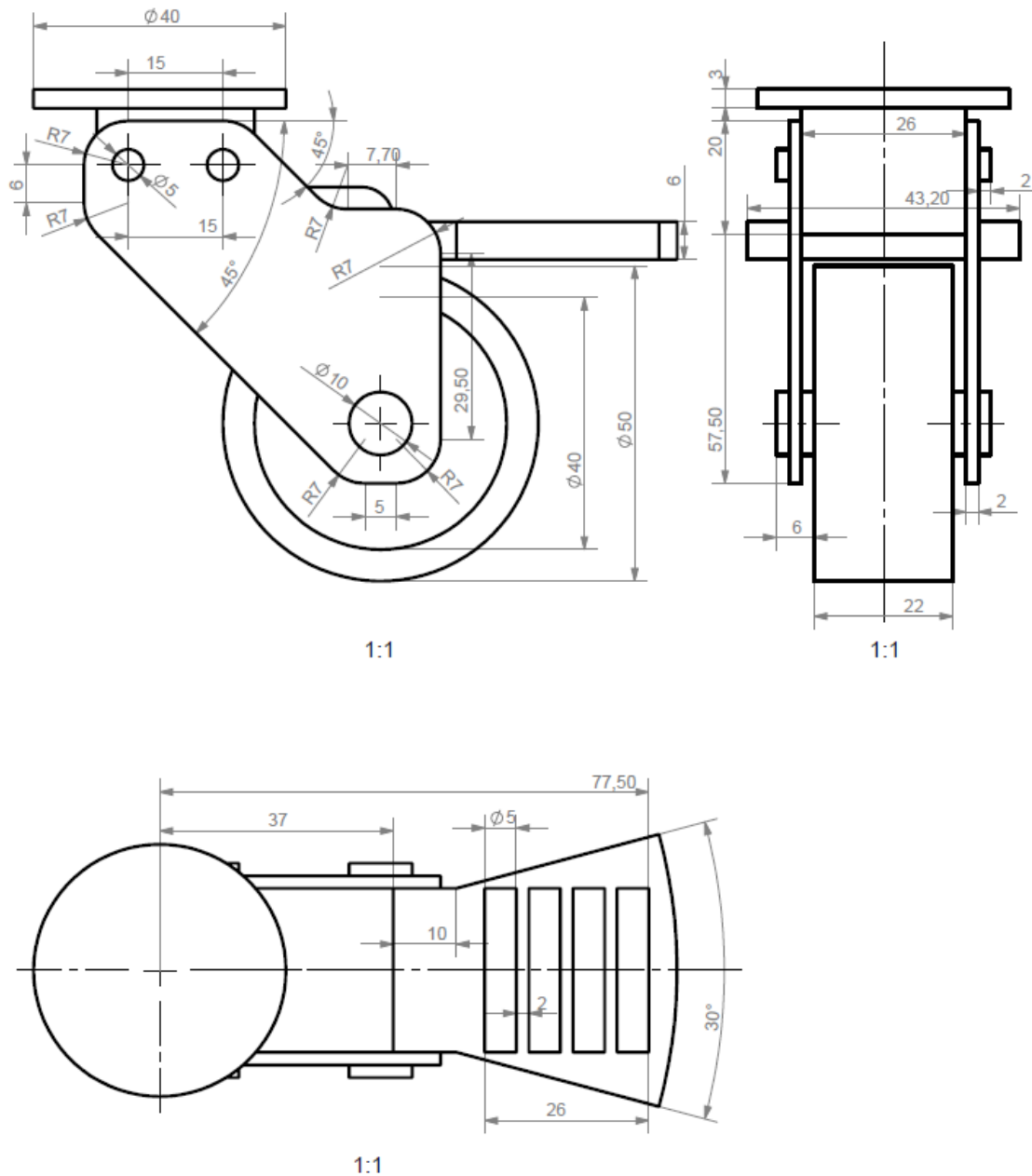
8.2. Plànols



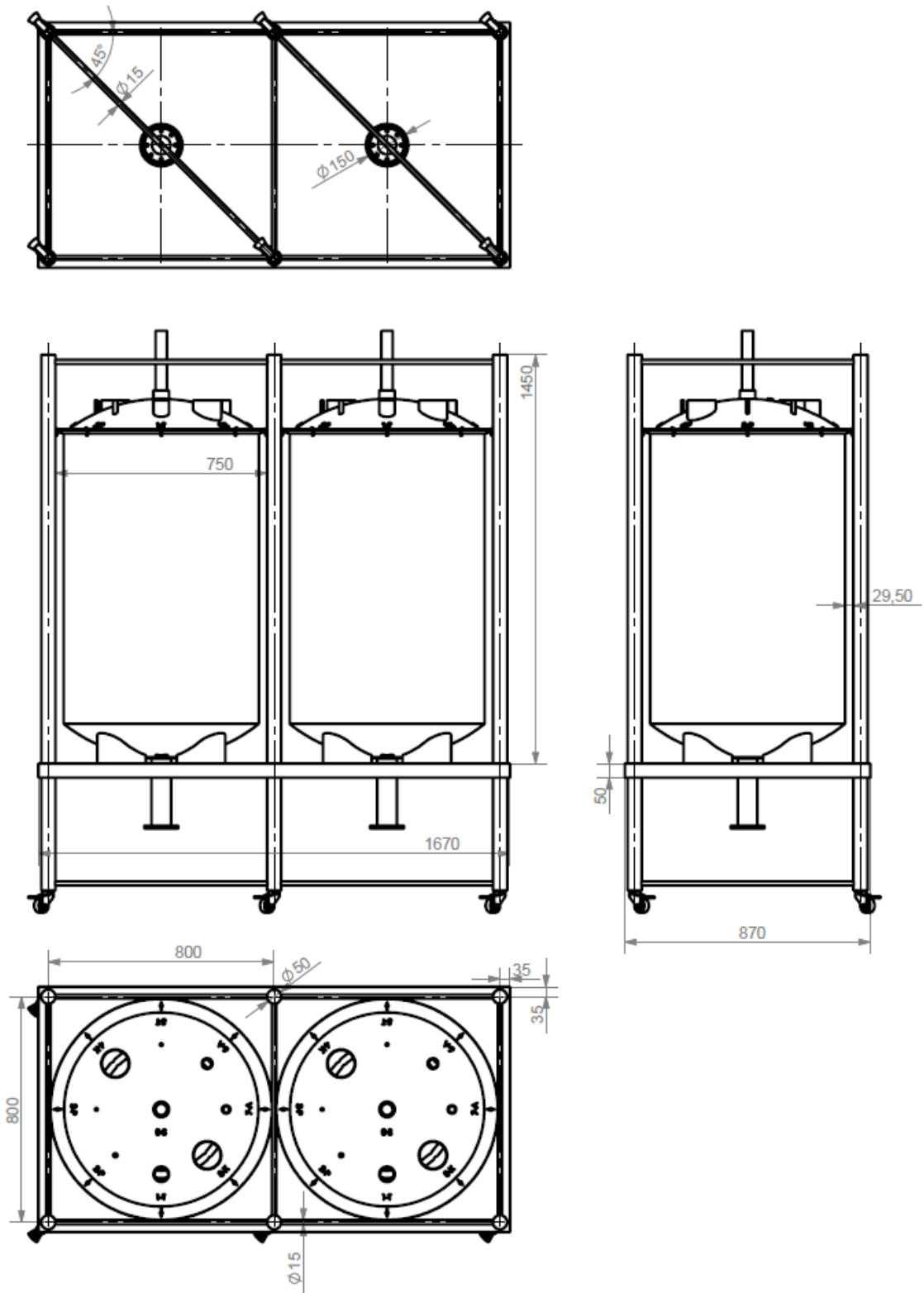
Il·lustració 63. Seccionat del bioreactor en dièdric (cotes en mm)



Il·lustració 64. Ports d'entrada i sortida en dièdric (cotes en mm)



Il·lustració 65. Rodetes de l'estructura en dièdric cotes en (mm)



Il·lustració 66. Estructura completa en dièdic (cotes en mm)

9. Seguretat

El principal focus d'atenció pel que fa a la seguretat de l'entorn d'aquest projecte se centra en l'aspecte microbiològic, ja que, tot i que s'estigui treballant amb un microorganisme de grup de risc 1, sempre s'ha d'indicar que la zona de treball és zona de risc microbiològic i per tant, és obligat senyalitzar-ho amb la simbologia corresponent a la porta del recinte on estiguin situats els bioreactors.



Il·lustració 67. Simbologia de risc microbiològic

A la zona de treball s'hauran d'evitar males pràctiques com beure o menjar i s'hi haurà d'estar en plenes facultats per treballar-hi, especialment, tenint cura amb totes aquelles tasques que es duguin a terme amb els bioreactors oberts.

Tanmateix seria interessant comptar amb bon sistema d'il·luminació, d'instal·lació elèctrica, de ventilació...així com comptar amb netejadors d'ulls per a emergències i una farmaciola. Per a més seguretat, també podria ser necessari disposar d'uns sistema de pressió per estar treballant sempre a una pressió inferior a l'exterior del recinte, i evitar de qualsevol manera l'expansió d'agents biològics per l'aire.

9.1. Equips de protecció individual (EPI)

Els EPI són indispensables, com a mètode de seguretat passiva. En les condicions requerides per aquest projecte, caldrà:

- Bata de laboratori: Per evitar taques, vessaments i esquitxades.
- Guants de seguretat: També per evitar contacte amb qualsevol substància i sobretot per evitar el contacte directe amb la pell o ferides. Solen ser de làtex.
- Ulleres de laboratori: També per evitar esquitxades als ulls. Tot i disposa de netejador d'emergència d'ulls, se n'ha d'evitar l'ús el màxim possible. També pot minimitzar la irritació als ulls en els moments en els que es fan les neteges, per exemple.
- Guants mecànics: Tot i que no hi haurà cap activitat mecànica molt exigent, pot ser bona idea disposar d'un parell de guants mecànics, per fer anar les vàlvules, però sobretot, per si s'han de fer tasques d'acoblament o fer servir eines, es minimitzen els riscos de patir alguna lesió.
- Calçat de protecció: Òbviament s'ha de treballar sempre en entorns de laboratori amb sabata tancada, però si a més hi poden haver tasques de mecànica o fontaneria, possiblement val la pena disposar de sabates de seguretat, reforçades per si alguna eina, material o qualsevol altre element caigués a sobre de l'operari. A més, també són útils per evitar taques o esquitxades.
- Gorra de seguretat/mascareta: Quan es facin tasques en les que el reactor estigui obert, és necessari fer servir gorra de seguretat per evitar que cabells de cap o de barba puguin caure a l'interior.


9.2. Substàncies de risc


Tot i que els sistemes de fermentació solen ser molt amigables pel que fa a les mesures de seguretat que s'hi han de prendre, és convenient mencionar característiques dels químics que poden afectar als treballadors.

Es recorda que la dissolució bàsica contindrà NaOH, i aquest en contacte amb la pell o els ulls és irritant i fins i tot corrosiu. L'accident més probable amb aquest producte solen ser les esquitxades, així que s'ha d'estar equipat amb els EPI adequadament.

Per altra banda, la neteja del reactor es durà a terme amb hipoclorit, amb el qual també s'ha de vigilar, tant en les esquitxades com en els vapors que poden produir irritació d'ulls i nas. En la posterior neteja amb vapor a pressió també s'ha de treballar amb cura de no tenir cap accident.

Ara però, val la pena definir les característiques i fitxa de seguretat del producte obtingut, el 2,3-butandiol, per si succeeix qualsevol accident o dubte:

Producte	2,3-Butandiol
Fórmula química	$C_4H_{10}O_2$ / $CH_3CH(OH)CH(OH)CH_3$
Nº CAS	513-85-9
Nº CE	208-173-6
Densitat	1,002 g/cm ³ (20 °C)
Massa molar	90,12 g/mol
Punt de fusió	18 – 20 °C
Punt d'ebullició	177 - 182 °C
Aparença	Transparent, inodor
Solubilitat en aigua	Soluble (20°C)
Estat	Líquid
Perills	

NFPA 704	
Perills per a la salut	Contacte amb ulls o pell pot causar irritació Ingesta: Es recomana veure aigua (màxim dos gots. Síntomes no coneguts, cal visitar el metge.
Punt d'inflamació	96 °C
Mètodes d'extinció en cas d'incendi	Aigua, CO ₂ , escuma o pols seca
Emmagatzematge	Temperatura ambient i zona ventilada

Il·lustració 68. Fitxa de seguretat del 2,3-BDO [50]

Cal recordar que totes les mesures de seguretat hauran de seguir la normativa legal vigent, així com adequar-se a les mesures de seguretat i prevenció vigents en el centre en el que es vulgui situar l'execució d'aquest projecte.

10. Estudi econòmic

Es planteja l'estudi econòmic entenent-lo com els costos que s'assumeixen durant tot un any, pel que fa a material, consum de recursos, contractació i altres efectes.

CAPEX	Element	Preu unitari	Unitats	Quantitat	Unitats	Cost total (€)
Cos	Cilindre	68,12	€/kg	52 (x2)	kg	7084,48
	Casquets	68,12	€/kg	10 (x4)	kg	1362,40
	Vàlvules de bola	90	€/kg	4	kg	360,00
	Deflectors	68,12	€/kg	0,06 (x8)	kg	43,60
	Estructura	500	€/unt	1	unt	500,00
Agitació	Motor agitació	650	€/unt	2	unt	1300,00
	Agitador	68,12	€/kg	4 (x2)	unt	272,48
Aeració	Compressor	24,66	€/unt	2	unt	49,32
	Anell ruixador	95	€/unt	2	unt	190,00
	Filtre d'aire	9,38	€/unt	2	unt	18,76
Calefacció	Termòmetres	8,99	€/unt	3	unt	26,97
	Calefactor	185,86	€/unt	1	unt	185,86
	Aïllant	10	€/m2	6	m2	60,00
pH	Dosificador pH + sonda	89,9	€/unt	2	unt	179,80
Neteges	Hidro-netejadora	47,96	€/unt	1	unt	47,96
Altres	Muntatge i soldadura	25	€/h	40	hores	1000,00
	Imprevistos			10	%	1268,16
TOTAL						13949,79

Taula 8. CAPEX del sistema de bioreactors i dels seus components

Els preus unitaris del cos cilíndric, els casquets, els deflectors i l'agitador venen fixats pel preu de l'acer 316.

Tenint present que aquest projecte requereix dos reactors per assolir l'objectiu marcat, els costos es dupliquen en quasi tots els àmbits. A continuació es fa un balanç dels costos d'operació durant un any, amb l'objectiu d'assolir la producció de 3000 kg de 2,3-butandiòl ja mencionada:

OPEX	Producte	Preu unitari	Unitats	Quantitat	Unitats	Cost total (€)
Nutrient	Glucosa en pols	522,77	€/Tn	8,7	Tn/any	4548,10
Consums	Consum d'aigua	10,12	€/mes	12 (x2)	mesos/any	242,88
	Consum elèctric	0,15	€/kWh	18825	kWh/any	2823,75
pH	NaOH	5,99	€/kg	100	kg/any	599,00
Altres	Imprevistos			10	%	821,37
Contracte	Tècnic	12	€/h	2000	h/any	24000,00
TOTAL						33035,10

Taula 9. OPEX del sistema de bioreactors

Una xifra que també és interessant tenir present, és el preu de venda de 2,3-butandiol, per entendre quin valor té el capital que es vagi produint. Actualment el preu del 2,3-BDO està al voltant dels 200-230 €/kg, de manera que els 3000 kg produïts estarien valorats en 600000-690000 €.

No és l'objectiu d'aquest treball vendre'l, sinó produir butadiè posteriorment, però conèixer aquesta dada pot ser tranquil·litzadora un cop es coneix el cost total de l'execució del projecte.

10.1. Cost del projecte

Per altra banda, pel que fa a l'execució d'aquest projecte:

Projecte	Dedicació (h)	€/h	Cost (€)
Tutor projecte	300	25	7500
Projectista	600	14	8400
Altres costos	-	-	100
		TOTAL	16000

Taula 10. Costos de la realització del projecte

El treball s'ha realitzat en un portàtil de feina, per tant sense cap cost. Per altra banda totes les fonts bibliogràfiques han sigut d'accés gratuït (biblioteca, Internet...) amb l'excepció de *El Minilibro de los Reactores Químicos*, que es va adquirir.

11. Estudi de l'impacte ambiental

En primer lloc es voldria recordar de nou que el propòsit d'aquest projecte és formalitzar una alternativa real a la producció de butadiè per vies petroquímiques.

En un estudi de l'impacte ambiental, la primera dada que se sol tenir en compte és l'emissió de CO₂ generada degut a la producció d'energia necessària per als elements del projecte que en requereixen.

Ja s'ha calculat prèviament el consum elèctric dels elements consumidors de potència més importants del sistema. Coneixent que l'Oficina Catalana del Canvi Climàtic [51] descriu una relació de 302 g CO₂ per kWh d'energia consumida:

$$18825 \frac{kWh}{any} \cdot \frac{0,302 \text{ kg } CO_2}{kWh} = 5685 \text{ kg } CO_2/any \quad (70)$$

Coneixent aquesta dada, podem conèixer la petjada de CO₂ per cada kg de 2,3-butandiol produït:

$$\frac{5685 \text{ kg } CO_2}{3000 \text{ kg butandiol}} \approx 2 \frac{\text{kg } CO_2}{\text{kg butandiol}} \quad (71)$$

És una generació de CO₂ alta degut a que els volums de treball són petits, ja que no deixen de ser equips pilot. Si s'escalés el procés a escala industrial, molt probablement es podrien reduir les emissions relatives.

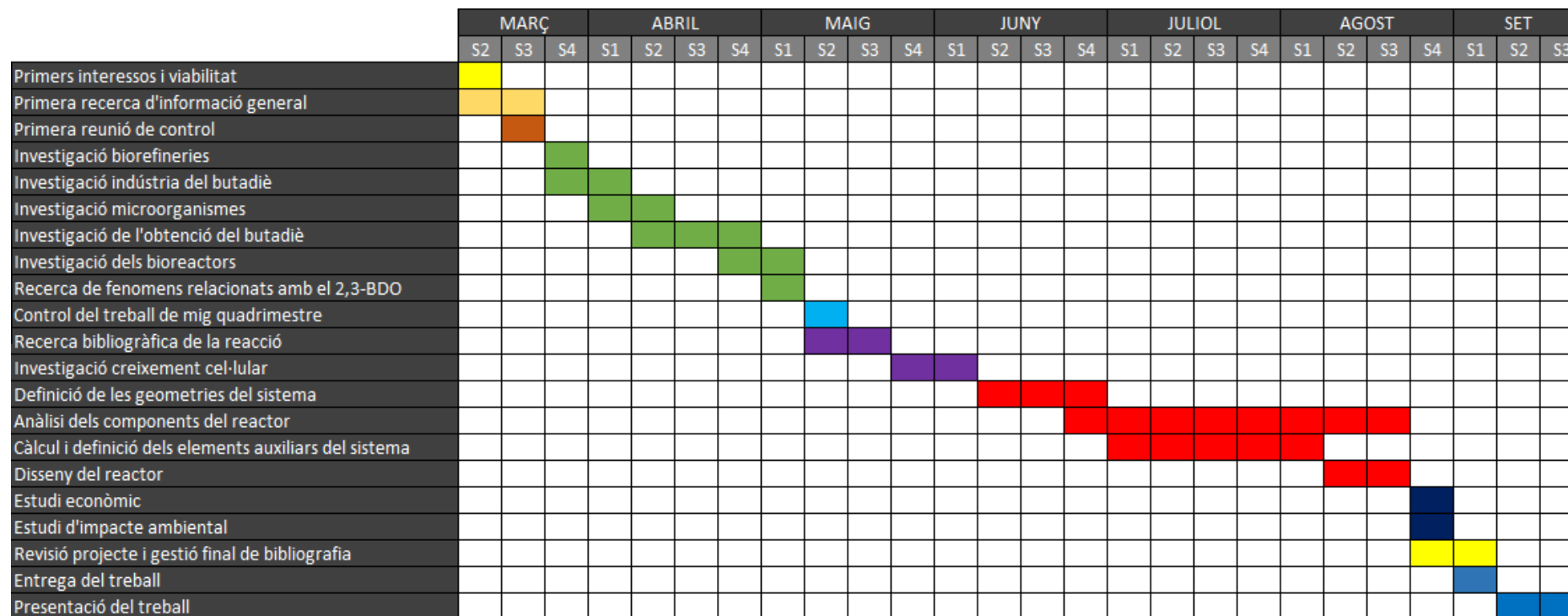
En qualsevol cas aquest valor és variable i molt dependent d'elements com l'agitador, que segurament es farà funcionar a velocitats inferiors, com s'ha comentat anteriorment, fet que disminuirà el consum energètic i per tant la contaminació generada. A més, s'han escollit equips que tenen capacitat de treballar a potències per sobre de les necessàries per a les corresponents tasques, i és amb aquest valor amb el que s'ha fet el sumatori de potència consumida, per tant, el consum energètic real no seria tan alt.

Per altra banda, es pot calcular també la petjada d'aigua per cada kg de 2,3-butandiol produït, ja que abans s'ha calculat també el consum d'aigua per hora:

$$\frac{1453 \text{ kg } H_2O}{3000 \text{ kg butandiol}} \cdot \frac{1 \text{ lot}}{1 \text{ any}} \cdot 2 \text{ reactors} \cdot \frac{6 \text{ lot}}{1 \text{ set}} \cdot \frac{50 \text{ set}}{1 \text{ any}} = 291 \frac{\text{kg } H_2O}{\text{kg butandiol}} \quad (72)$$

En processos de producció emprant bioreactors és conegut que la petjada d'aigua és molt gran. De fet, en aquest cas, s'obté un kg de 2,3-butandiol per cada volum de reactor que es prepari, ja que el valor de petjada obtingut coincideix pràcticament amb el valor de volum de lot calculat anteriorment.

12. Planificació del projecte



Taula 11. Diagrama de Gantt de la realització del projecte

13. Conclusions

En aquest treball s'ha dissenyat un sistema de bioreactors que permetria l'obtenció de 2,3-butanodiol, per a una producció de 3000 kg per any, amb la intenció de, posteriorment, convertir-lo en butadiè, un producte de gran importància industrial. D'aquesta manera es presenta una alternativa per obtenir butadiè amb un procés sostenible.

El bioreactor dissenyat és un equip tipus tanc agitat de 425 L de volum, amb unes mides de 1268 mm d'alçada i 685 mm de diàmetre, referit al volum de sistema reactiu pròpiament. Cada bioreactor es dissenya equipat d'una sèrie de components: prescalfament, control de pH, aeració... i també un sistema d'agitació, amb dos grups de pales Rushton operant amb un motor de 2kW.

El cos del bioreactor estarà fabricat d'acer 316 així com altres components com l'agitador o els deflectors. Tots dos bioreactors es conceben sobre una bastida d'acer, de manera que treballaran en paral·lel. Sobre aquesta bastida, es projecta instal·lar-hi el tanc de prescalfament per sobre dels reactors, el tanc de dissolució alcalina, els motors d'agitació... en general, tots els complements necessaris així com les connexions a hidràuliques i elèctriques, i també rodetes per a que l'estructura tingui fàcil mobilitat.

13.1. Conclusions particulars

Referent als objectius particulars estipulats al principi del projecte, se'n dona resposta a alguns d'ells:

- S'ha realitzat amb èxit un estudi de les possibilitats en quant a les vies de producció del butadiè.
- No s'ha pogut dissenyar un sistema que permetés l'obtenció de butadiè de manera directa, però sí que s'ha aconseguit minimitzar el nombre d'etapes per a la seva obtenció, esdevenint aquest projecte la primera de les dues.
- S'ha pogut trobar un microorganisme de grup de risc 1 que permet dissenyar un sistema de producció sostenible, el *B. vallismortis*, sota els principis de la Green Chemistry.
- Amb les dades que s'han pogut obtenir en els càlculs i disseny del sistema de bioreactors, s'ha aconseguit realitzar un estudi econòmic i una avaluació de l'impacte ambiental de l'execució d'aquest projecte.

14. Bibliografia

- [1] Map of 224 European biorefineries published by BIC and nova-Institute. Recuperat de <http://news.bio-based.eu/map-of-224-european-biorefineries-published-by-bic-and-nova-institute/>. Consultat: Març 2018.
- [2] Smith, J. E. (2004). *Biotechnology* 4th Edition. Cambridge University Press. Pàgines 51-63. Consultat: Abril 2018.
- [3] Tipos de biomasa. Recuperat de <http://www.plantasdebiomasa.net/tipos-de-biomasa.html>. Consultat: Març 2018.
- [4] Uso energético de la biomasa. Recuperat de <http://www.geoscopio.com/escaparate/verpagina.cgi?idpagina=20637770>. Consultat: Març 2018.
- [5] Wikipedia. Recuperat de <https://www.wikipedia.org/>. Consultat: Abril 2018.
- [6] 12 Principles of Green Chemistry. Recuperat de <https://www.acs.org/content/acs/en/greenchemistry/what-is-green-chemistry/principles/12-principles-of-green-chemistry.html>. Consultat: Març 2018.
- [7] Manahan, S. E. (2006). *Introducción a la Química Ambiental*. Reverte. Pàgines 101-109. Consultat: Abril 2018.
- [8] Los protozoos. Recuperat de <https://microorganismosysociedad.webnode.es/los-microorganismos-eucariotas/los-protozoos/>. Consultat: Març 2018.
- [9] Genetically Modified Microbes. Recuperat de <http://www.biology-bytes.com/genetically-modified-microbes/>. Consultat: Març 2018.
- [10] What are Risk Groups and Safety Levels?. Recuperat de http://2016.igem.org/Safety/Risk_Groups. Consultat: Març 2018.
- [11] Pathogen Safety Data Sheets. Recuperat de <https://www.canada.ca/en/public-health/services/laboratory-biosafety-biosecurity/pathogen-safety-data-sheets-risk-assessment.html>. Consultat: Març 2018.
- [12] Cinética de la fase exponencial de la curva de crecimiento microbiano. Recuperat de <http://www.testak.org/microbiologia/crecimiento/cinetica.pdf>. Consultat: Juny 2018.
- [13] Levenspiel, O. (1987). *El Minilibro de los Reactores Químicos*. Reverte. Pàgines 2.1-4.4. Consultat: Agost 2018.
- [14] Apunts (2016). Assignatura *Cinètica i Reactors*, impartida a l'Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Industrial de Barcelona. Consultat: Agost 2018.

- [15] 1,3-Butadiene. Recuperat de https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1_3-butadiene#section=Top. Consultat: Abril 2018.
- [16] Butadiene production process overview. Recuperat de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17324391>. Consultat: Abril 2018.
- [17] Cespi, D., Passarini, F., Vassura, I., i Cavani, F. (2016). Butadiene from biomass, a life cycle perspective to address sustainability in the chemical industry. *Green Chem.* Consultat: Maig 2018.
- [18] Sivaraman, B., Sanjay, S., i Rangaswamy, V. (2016). Production of 1,2-Butadiene from Erythritol. *ChemistrySelect* 1, 4630-4632. Consultat: Maig 2018.
- [19] Zacharopoulou, V., i Lemonidou, A. (2017). Olefins from Biomass Intermediates: A Review. *Catalysts* 2018, 8, 2. Consultat: Maig 2018.
- [20] Adler, R. (2016). Versalis and Genomatica produce bio-ruber with bio-butadiene from sugars. Genomatica Press Office. Consultat: Maig 2018.
- [21] Paschoal, A. B. (2015). Genomatica and Braskem Confirm Direct, Single-Step Biological Production of Butadiene. Braskem USA. Consultat: Maig 2018.
- [22] (2R,3R)-(-)-2,3-Butanediol. Recuperat de <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.196452.html>. Consultat: Maig 2018.
- [23] (2S,3S)-(+)-2,3-Butanediol. Recuperat de <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.388924.html>. Consultat: Maig 2018.
- [24] 2,3-Butanediol. Recuperat de <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.21106093.html>. Consultat: Maig 2018.
- [25] Production of (2R,3R)-2,3-butanediol using engineered *Pichia pastoris*: strain construction, characterization and fermentation. Recuperat de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5808657/>. Consultat: Maig 2018.
- [26] Rapid and stable production of 2,3-butanediol by an engineered *Saccharomyces cerevisiae* strain in a continuous airlift bioreactor. Recuperat de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29605870>. Consultat: Maig 2018.
- [27] Kallbach, M., Horn, S., Kuenz, A., i Psüße, U. (2016). Screening of novel bacteria for the 2,3-butanediol production. Thünen Institute of Agricultural Technology. Consultat: Maig 2018.
- [28] Roberts, M. S., Nakamura, L. K., i Cohan, F. M. (1996). *Bacillus vallismortis* sp. nov., a Close Relative of *Bacillus subtilis*, Isolated from Soil in Death Valley, California. International Union of Microbiological Societies. Consultat: Juny 2018.
- [29] Herranz Agustín, C. (2010). Química para la ingeniería 2. Edicions UPC. Pàgines 211-214. Consultat: Maig 2018.

- [30] Voloch, M., Jansen, N. B., Ladisch, M. R., Tsao, G. T., Narayan, R. I Rodwell, V. W. (1985). 2,3-Butanediol. Pergamon press. Consultat: Maig 2018.
- [31] Eyer, K. Development of an Industrial Biotechnology Process. École Polytechnique Fédérale de Lausanne. Consultat: Maig 2018.
- [32] Apunts (2017). Assignatura *Elasticitat i Resistència de Materials*, impartida a l'Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Industrial de Barcelona. Consultat: Juliol 2018.
- [33] Nebot, X., i Casafont, M. (2017). Introducció al disseny pràctic d'equips a pressió. Assignatura *Elasticitat i Resistència de Materials*. Departament de Resistència de Materials i Estructures a l'Enginyeria, Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Industrial de Barcelona. Consultat: Juliol 2018.
- [34] Marimon, F., Nebot, X., i Casafont, M. (2017). Sòlids de revolució amb càrrega axisimètrica. Canonades i recipients a pressió. Departament de Resistència de Materials i Estructures a l'Enginyeria, Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Industrial de Barcelona. Consultat: Juliol 2018.
- [35] Perry, R. H. (1997). Perry's Chemical Engineers' Handbook Seventh Edition. McGraw-Hill. Pàgines 6.34-6.35. Consultat: Juliol 2018.
- [36] Apunts (2017). Assignatura *Operacions Bàsiques*, impartida a l'Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Industrial de Barcelona. Consultat: Juny 2018.
- [37] Controlador/Regulador de Medidor de pH para Acuario/Piscina. Recuperat de <https://www.ebay.es/i/351374044161?chn=ps>. Consultat: Agost 2018.
- [38] Compartment-specific pH monitoring in *Bacillus subtilis* using fluorescent sensor proteins: a tool to analyze the antibacterial effect of weak organic acids. Recuperat de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3685010/#!po=58.9286>. Consultat: Agost 2018.
- [39] Brototermic, Resistencia Eléctricas Calefactoras. Recuperat de <http://www.brototermic.com/docs/catalogo-resistencias-calefactoras.pdf>. Consultat: Agost 2018.
- [40] Aislamiento térmico. Recuperat de http://www.leroymerlin.es/productos/construccion/aislamiento/aislamiento_termico. Consultat: Juliol 2018.
- [41] Tipos de aislamientos térmicos: ¿cuál necesitas?. Recuperat de <http://www.leroymerlin.es/ideas-y-consejos/comoHacerlo/tipos-de-aislamientos-termicos-cual-necesitas.html>. Consultat: Juliol 2018.
- [42] Eckenfelder, W. W., Malina, JR. J. F., i Patterson, J. W. (2002). AERATION: Principles and Practice, Volume 11. CRC Press. Consultat: Juliol 2018.
- [43] JECS Portable Air Compressor 100 Watt. Recuperat de

<https://www.jeggs.com/i/JEGS/555/81040/10002/-1>. Consultat: Agost 2018.

[44] Mikuni VM22 Aftermarket Air Filter. Recuperat de <https://www.gopowersports.com/mikuni-vm22-aftermarket-air-filter/>. Consultat: Juliol 2018.

[45] Micro- and ultrafiltration. Recuperat de <https://ocw.tudelft.nl/wp-content/uploads/Micro-and-ultrafiltration-1.pdf>. Consultat: Agost 2018.

[46] Hailing Duan (2017). Dehydration of 2,3-butanediol into 3-buten-2-ol ad 1,3-butadiene over acid-base catalysts. Chiba University. . Consultat: Agost 2018.

[47] Kärcher K2 Basic - Hisrolimpiadora. Recuperat de https://www.amazon.es/dp/B00HH9QAT2/ref=asc_df_B00HH9QAT253927302/?tag=goshopes-21&creative=24538&creativeASIN=B00HH9QAT2&linkCode=df0&hvdev=c&hvnetw=g&hvqmt=. Consultat: Agost 2018.

[48] Powder liquid glucose price. Recuperat de https://www.alibaba.com/product-detail/Powder-liquid-glucose-price_60776749834.html?spm=a2700.7724838.2017115.1.175d1cc6Bgti2i&s=p. Consultat: Agost 2018.

[49] La factura del agua para suministros comerciales/industriales año 2018. Recuperat de http://www.aiguesdebarcelona.cat/facturadelaigua/pdfs/factura_comercial_2018_es.pdf. Consultat: Agost 2018.

[50] 2,3- Butandiol SDS. Recuperat de http://www.merckmillipore.com/INTERSHOP/web/WFS/Merck-ES-Site/es_ES/-/EUR/ProcessMSDS-Start?PlainSKU=MDA_CHEM-818801&Origin=PDP. Consultat: Agost 2018.

[51] Oficina catalana del canvi climàtic. Recuperat de <http://canviclimatic.gencat.cat/ca/index.html>. Consultat: Agost 2018.

15. Annex

A continuació les taules utilitzades per al càlcul del gruix de la paret del bioreactor, utilitzant el codi ASME:

TABLE 1A (CONT'D) SECTION I; SECTION III, CLASSES 2 AND 3; * SECTION VIII, DIVISION 1; AND SECTION XII MAXIMUM ALLOWABLE STRESS VALUES S FOR FERROUS MATERIALS (* See Maximum Temperature Limits for Restrictions on Class)									
Line No.	Nominal Composition	Product Form	Spec. No.	Type/Grade	Alloy Designation/UNS No.	Class/Condition/ Temper	Size/Thickness, in.	P-No.	Group No.
07	1	Carbon steel	SA/AS 1548	7-460A	...	Annealed	≤ 6	1	2
07	2	Carbon steel	SA/AS 1548	7-460N	...	Normalized	≤ 6	1	2
07	3	Carbon steel	SA/AS 1548	7-460R	...	As rolled	≤ 1½	1	2
A08	4	Carbon steel	SA/EN 10028-2	P295GH	2¼ < t ≤ 4	1	1
A08	5	Carbon steel	SA/EN 10028-2	P295GH	≤ 2¼	1	1
A08	6	Carbon steel	SA/GB 6654	16MnR	2.4 < t ≤ 4	1	1
A08	7	Carbon steel	SA/GB 6654	16MnR	1.5 < t ≤ 2.4	1	1
	8	Carbon steel	SA-455	...	K03300	...	0.58 < t ≤ ¾	1	2
	9	Carbon steel	SA-675	70	1	2
	10	Carbon steel	SA-105	...	K03504	1	2
	11	Carbon steel	SA-181	...	K03502	70	...	1	2
	12	Carbon steel	SA-216	WCB	J03002	1	2
	13	Carbon steel	SA-266	2	K03506	1	2
	14	Carbon steel	SA-266	4	K03017	1	2
	15	Carbon steel	SA-350	LF2	K03011	1	...	1	2
	16	Carbon steel	SA-350	LF2	K03011	2	...	1	2
	17	Carbon steel	SA-508	1	K13502	1	2
	18	Carbon steel	SA-508	1A	K13502	1	2
	19	Carbon steel	SA-541	1	K03506	1	2
	20	Carbon steel	SA-541	1A	K03020	1	2
	21	Carbon steel	SA-660	WCB	J03003	1	2
	22	Carbon steel	SA-765	U	K03047	1	2
	23	Carbon steel	SA-515	70	K03101	1	2
	24	Carbon steel	SA-516	70	K02700	1	2
	25	Carbon steel	SA/JIS G3116	SGV480	1	2

Taula 12. Identificació d'acers segons el codi ASME

TABLE 1A (CONT'D)
SECTION I; SECTION III, CLASSES 2 AND 3; SECTION VIII, DIVISION 1; AND SECTION XII
MAXIMUM ALLOWABLE STRESS VALUES S FOR FERROUS MATERIALS
(* See Maximum Temperature Limits for Restrictions on Class)

Line No.	Min. Tensile Strength, ksi	Min. Yield Strength, ksi	Applicability and Max. Temperature Limits (NP = Not Permitted) (SPT = Supports Only)				External Pressure Chart No.	Notes	
			I	III	VIII-1	XII			
1	66.5	...	1000	NP	1000	NP	CS-2	G10, G18, S1, T1	07
2	66.5	...	1000	NP	1000	NP	CS-2	G10, G18, S1, T1	07
3	66.5	...	1000	NP	1000	NP	CS-2	G10, G18, S1, T1	07
4	66.5	37.5	850	NP	1000	NP	CS-2	G10, S1, T1	A08
5	66.5	...	850	NP	1000	650	CS-2	G10, G18, S1, T1	A08
6	67	41	NP	NP	482	NP	CS-2	...	A08
7	68	44	NP	NP	482	NP	CS-2	...	A08
8	70	35	NP	406 (Cl. 3 only)	650	650	CS-2	...	
9	70	35	850	650 (Cl. 3 only)	1000	650	CS-2	G10, G15, G22, G35, S1, T2	
10	70	36	1000	700	1000	650	CS-2	G10, G35, S1, T2	
11	70	36	1000	700	1000	650	CS-2	G10, G35, S1, T2	
12	70	36	1000	700	1000	650	CS-2	G1, G10, G17, S1, T2	
13	70	36	1000	700	1000	650	CS-2	G10, S1, T2	
14	70	36	NP	NP	1000	650	CS-2	G10, T2	
15	70	36	NP	700	1000	650	CS-2	G10, T2	
16	70	36	NP	700	1000	650	CS-2	G10, T2	
17	70	36	NP	700	1000	650	CS-2	G10, T2	
18	70	36	NP	700	1000	650	CS-2	G10, T2	
19	70	36	NP	700	1000	650	CS-2	G10, T2	
20	70	36	NP	700	1000	650	CS-2	G10, T2	
21	70	36	1000	700	NP	NP	CS-2	G1, G10, G17, S1, T2	
22	70	36	NP	NP	1000	650	CS-2	G10, T2	
23	70	38	1000	700	1000	650	CS-2	G10, S1, T2	
24	70	38	850	700	1000	650	CS-2	G10, S1, T2	
25	70	38	850	NP	NP	NP	CS-2	G10, S1, T2	

Taula 13. Magnituds elàstiques de diferents acers segons el codi ASME

TABLE 1A (CONT'D)
SECTION I; SECTION III, CLASSES 2 AND 3; SECTION VIII, DIVISION 1; AND SECTION XII
MAXIMUM ALLOWABLE STRESS VALUES S FOR FERROUS MATERIALS
(* See Maximum Temperature Limits for Restrictions on Class)

Line No.	Maximum Allowable Stress, ksi (Multiply by 1000 to Obtain psi), for Metal Temperature, °F, Not Exceeding													
	-20 to 100	150	200	250	300	400	500	600	650	700	750	800	850	900
1	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	16.9	13.9	11.4	8.7	5.9
2	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	16.9	13.9	11.4	8.7	5.9
3	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	16.9	13.9	11.4	8.7	5.9
4	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	18.5	16.7	13.9	11.4	8.7	5.9
5	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	19.0	16.7	13.9	11.4	8.7	5.9
6	19.1	19.1	19.1	19.1	19.1	19.1	19.1
7	19.5	19.5	19.5	19.5	19.5	19.5	19.5
8	20.0	20.0	20.0	...	20.0	19.9	19.0	17.9	17.3
9	20.0	20.0	20.0	...	20.0	19.9	19.0	17.9	17.3	14.7	14.8	12.0	9.3	6.7
10	20.0	20.0	20.0	...	20.0	20.0	19.6	18.4	17.8	17.2	14.8	12.0	9.3	6.7
11	20.0	20.0	20.0	...	20.0	20.0	19.6	18.4	17.8	17.2	14.8	12.0	9.3	6.7
12	20.0	20.0	20.0	...	20.0	20.0	19.6	18.4	17.8	17.2	14.8	12.0	9.3	6.7
13	20.0	...	20.0	...	20.0	20.0	19.6	18.4	17.8	17.2	14.8	12.0	9.3	6.7
14	20.0	20.0	20.0	...	20.0	20.0	19.6	18.4	17.8	17.2	14.8	12.0	9.3	6.7
15	20.0	20.0	20.0	...	20.0	20.0	19.6	18.4	17.8	17.2	14.8	12.0	9.3	6.7
16	20.0	20.0	20.0	...	20.0	20.0	19.6	18.4	17.8	17.2	14.8	12.0	9.3	6.7
17	20.0	20.0	20.0	...	20.0	20.0	19.6	18.4	17.8	17.2	14.8	12.0	9.3	6.7
18	20.0	20.0	20.0	...	20.0	20.0	19.6	18.4	17.8	17.2	14.8	12.0	9.3	6.7
19	20.0	20.0	20.0	...	20.0	20.0	19.6	18.4	17.8	17.2	14.8	12.0	9.3	6.7
20	20.0	20.0	20.0	...	20.0	20.0	19.6	18.4	17.8	17.2	14.8	12.0	9.3	6.7
21	20.0	...	20.0	...	20.0	20.0	19.6	18.4	17.8	17.2	14.8	12.0	9.3	6.7
22	20.0	20.0	20.0	...	20.0	20.0	19.6	18.4	17.8	17.2	14.8	12.0	9.3	6.7
23	20.0	20.0	20.0	...	20.0	20.0	20.0	19.4	18.8	18.1	14.8	12.0	9.3	6.7
24	20.0	20.0	20.0	...	20.0	20.0	20.0	19.4	18.8	18.1	14.8	12.0	9.3	6.7
25	20.0	20.0	20.0	...	20.0	20.0	20.0	19.4	18.8	18.1	14.8	12.0	9.3	...

Taula 14. Tensions màximes admissibles per a diferents acers segons codi ASME