

RELAZIONE

“VALUTAZIONE TECNICA DELLA TECNOLOGIA DI BIO-ON E DELL’IMPIANTO PRODUTTIVO IN VIA DI REALIZZAZIONE”

Dott. Ing. Prof. Augusto Di Giulio

*Docente di Impianti Industriali e di
Sicurezza e Ambiente presso il
Politecnico di Milano*

Dott. Ing. Roberto Piattoli

*Senior EPC Advisor
Già: Presidente Eni Ricerche SpA
Presidente Snamprogetti SpA
Presidente ANIMP
V.Presidente AldiC*

MILANO, 16 Giugno 2014

INDICE

- 1. Executive Summary**
- 2. Premesse- Fonti delle Informazioni**
- 3. Descrizione del processo e dell’Impianto “Tipo”**
- 4. Risultati della ricerca e dell’impianto pilota**
- 5. Analisi delle informazioni ottenute dall’Impianto Pilota e Scale Up Industriale**
- 6. Analisi delle soluzioni adottate sulla base degli schemi di processo**
- 7. Analisi delle soluzioni tecnologiche adottate e delle apparecchiature / macchinari proposti**
- 8. Analisi del Lay Out , delle soluzioni impiantistiche, dei criteri di progettazione**
- 9. Soluzioni di prevenzione rischi e tutela ambientale**
- 10. Prodotti ottenibili, loro caratteristiche.**
- 11. Commenti e Conclusioni**

1. EXECUTIVE SUMMARY

Questa RELAZIONE è stata redatta dal Professore Augusto di Giulio e dall'Ingegnere Roberto Piattoli, in buona fede avvalendosi delle loro conoscenze tecniche e scientifiche nonché della loro esperienza professionale, applicando la massima diligenza.

Oggetto della RELAZIONE è la valutazione della validità della documentazione disponibile, dei risultati della sperimentazione su scala pilota, e della correttezza delle soluzioni impiantistiche previste per lo "scale up" su dimensione semi industriale di un impianto per la produzione di PHAs a partire da substrati zuccherini con il processo Bio-on

I risultati sono basati sulle informazioni fornite dalla BIO-ON srl, attraverso interviste con il dottor Simone Begotti e l'ingegnere Vittorio Folla, su quanto visto ed annotato nel corso della visita e sopralluogo all'impianto pilota in Minerbio il giorno 10 giugno 2014, e sulla documentazione tecnica elaborata dalla TECHINT SpA, messi a disposizione, e elencata al paragrafo 2

Il processo BIO-ON) (da ora in poi :la Tecnologia) consta di fasi successive che consentono di trasformare le fonti di carbonio contenute in coprodotti dell'agricoltura o trasformazioni agroindustriali , usati come materia prima, per la produzione di poli-idrossi-alcanoati (PHA), molecole aventi proprietà tali da poter sostituire a livello commerciale molte materie plastiche ottenute da materie prime fossili, avendo in più una peculiare differenza : la biodegradabilità totale.

I poli-idrossi-alcanoati (PHA) sono biodegradabili in fase di compostaggio, come altre bioplastiche, ma anche in acque libere, cosa assolutamente peculiare, grazie alla attività metabolica dei microrganismi naturalmente presenti nell'ambiente.

La Tecnologia è stata concepita in maniera tale da rispettare ed esaltare il carattere eco e bio dei poli-idrossi-alcanoati (PHA).

La Tecnologia comprende le seguenti tre fasi :

- a) fermentazione o *up-stream-phase*,
- b) recovery e purificazione o *down-stream-phase*,
- c) produzione di *compound*, formulati a base di Minerv-PHATM.

Bio-on, con la collaborazione della ben nota Società Techint E&C , di Milano sulla base del processo su descritto e dei risultati e sperimentazioni condotte sull'impianto pilota di Minerbio ha progettato una versione di impianto semi industriale, che partendo dalla capacità iniziale di 500 o 1000 T/a a seconda che si installerà uno o due fermentatori principali, potrà raggiungere la potenzialità di 2000 t/a con l'istallazione di complessivi quattro fermentatori per i quali è stato già previsto lo spazio ed i collegamenti. La taglia prevista per i successivi impianti industriali è di 10 000 t/a.

La parte a monte dei fermentatori principali, è stata dimensionata per alimentare 4 fermentatori, mentre la sezione a valle (*recovery*, purificazione ecc.) è dimensionata sulla produzione di due fermentatori ed è stato previsto lo spazio per il futuro raddoppio.

Questo impianto semi-industriale è stato previsto per produzione di PHA_s in polvere e pertanto non comprende l'estrusione e *compounding*, che comunque rientrano nelle lavorazioni classiche ed affermate dei polimeri, ove l'unico elemento di Know How risiede nelle ricette degli additivi, già ampiamente sperimentate da Bio-on presso terzi nella fase di produzione su pilota.

L'evoluzione della Tecnologia è basata sull'attività sostenuta presso l'impianto microbiologico della Bio-on, laboratorio e impianto pilota, a Minerbio, dal quale sono stati ottenuti i dati necessari a sviluppare la progettazione concettuale per un impianto semi industriale.

La sperimentazione effettuata, sostanzialmente, non si discosta da quella relativa a processi fermentativi tradizionali sviluppati a partire dalla seconda guerra mondiale, negli anni '40 del '900 per la produzione della prima forma di penicillina.

La sperimentazione iniziale è avvenuta con prove di laboratorio, prima su agar terreno e poi su terreni liquidi, e ha permesso di:

- ottimizzare la linea cellulare specificamente per le fonti di nutrimento utilizzate;
- determinare i tempi ottimali per la crescita
- determinare i momenti migliori di passaggio di coltura da una fase vegetativa a quella successiva.

Le fasi iniziali di fermentazione sono avvenute con fermentatori da banco, in vetro:

Il brodo produttivo ottenuto con il fermentatore di laboratorio è stato utilizzato per le prove preliminari di *recovery*.

Partendo dai dati ottenuti nel fermentatore di laboratorio si è trasferito il processo alla fase pilota.

Il processo di fermentazione è facilmente trasferibile dal laboratorio al pilota, poiché tutti gli strumenti e le sonde di controllo sono analogamente utilizzabili sia in fase di laboratorio che in fase pilota (e successivamente in fase industriale), ed è quindi possibile garantire la ripetitività dei processi e l'attendibilità della riproduzione dei parametri..

Nello *scale-up* (*passaggio di scala*) del processo fermentativo si tratta infatti di creare microcondizioni circostanti la singola cellula che siano ottimali ai fini della produzione.

Lo *scale-up* del processo fermentativo è stato effettuato mantenendo la resa produttiva riscontrata nel fermentatore di laboratorio, con le ottimizzazioni di ceppo micorbiologico nel frattempo messe a punto.

La fase di *recovery* per l'impianto pilota è stata concepita con l'utilizzo unicamente di apparecchiature di tipologia industriale, prodotte da primarie aziende che dispongono di questa gamma di apparecchiature e macchinari in varie dimensioni e capacità anche per elevati volumi e portate. Ciò al fine di praticamente eliminare i rischi di *scale-up* nel successivo passaggio alla dimensione industriale

I parametri di processo, utilizzati nell'impianto pilota, saranno esattamente replicabili in fase industriale, in quanto sarà possibile mantenere i parametri critici . L'impianto pilota di Minerbio è stato progettato da ingegneri e biotecnologi sulla base dei dati sperimentali ottenuti dalla sperimentazione di laboratorio.

L'impianto pilota di Minerbio consta essenzialmente di 3 zone:

- a) laboratorio microbiologico
- b) impianto pilota di fermentazione e recovery
- c) produzione utilities.

Le apparecchiature per la realizzazione ed ottimizzazione del processo a livello industriale sono:

- fermentatore 1400L
- fermentatore 80L
- 2 tank da 800L per il trattamento del coprodotto
- pompe (peristaltiche, a lobi, centrifughe,...)
- 6 tank per la fase recovery
- centrifuga
- impianto di filtrazione
- essiccatore.

L'impianto di Minerbio dispone, inoltre di tutte le apparecchiature relative ai servizi ausiliari:

Nel laboratorio sono a disposizione tutti i dati prodotti nella fase sperimentale, in registri, raccoglitori, cartelle digitali e non, ovviamente accessibili entro i limiti definiti dalle responsabilità di ruolo, e dalla segretezza dei dati sensibili.

L'impianto pilota di Minerbio ha iniziato i suoi cicli produttivi nel 2010, con la fermentazione, e successivamente dal 2012 con tutte le sezioni a valle ed è tuttora in esercizio.

Nel periodo ha prodotto circa 1400 kg di polveri di PHA, che sono state successivamente addizionate ed estruse. I prodotti granulati sono stati caratterizzati e sottoposti a lavorazione ottenendo manufatti con caratteristiche del tutto equivalenti a quelli ottenuti dalle tradizionali poliolefine (PE, PP) e policarbonati (PC). I risultati di questi lavori di caratterizzazione esulano dalla presente relazione e sono oggetto di apposite diverse relazioni.

Lo scopo della ricerca e sperimentazione della Bio-on è stato quello di sviluppare una tecnologia in grado di competere sul mercato con le altre bio-plastiche ma, e soprattutto con le plastiche da materie prime fossili avendo l'obiettivo di una loro progressiva sostituzione, ma offrendo al tempo stesso il grosso vantaggio della totale biodegradabilità, eliminando il grosso problema dell'inquinamento ambientale da plastica.

Per questo fin dall'inizio sono stati seguiti alcuni principi di base:

-utilizzo di materie prime di *grado tecnico* (e non pure da laboratorio), e reperibili sul mercato a prezzo contenuto;

-utilizzo di apparecchiature aventi tecnologia consolidata, già presenti sul mercato ed utilizzate nel campo alimentare, farmaceutico, trattamento acque, trattamento delle polveri, ed ovviamente in campo fermentativo;

-esclusione di ogni utilizzo di solventi organici, che oltre ad essere contrastanti con i principi eco e bio professati da Bio-on, impatterebbero in maniera sensibile sui costi di produzione;

-utilizzo di un microrganismo non geneticamente modificato; perché i ceppi geneticamente modificati in campo fermentativo possono presentare instabilità genetica e inficiare le rese produttive, in particolare con i grossi volumi;

-determinazione del numero di generazioni coinvolte nei test, facendo sì che il numero di replicazioni sia almeno uguale a superiore a quelle necessarie in impianto con fermentatori da 100 metri cubi.

Durante la fase di sviluppo su pilota del processo si è posta particolare cura nella sperimentazione e selezione delle principali apparecchiature.

Gli schemi relativi all'Impianto di produzione, (da 2.3 a 2.11) riportano tutte le apparecchiature necessarie richieste dal processo, le relative caratteristiche, e l'indicazione di tutte le linee di collegamento,

L'insieme di questi dati, che, di per sé indica che è stato svolto un accurato lavoro di analisi del processo e di dimensionamento mediante *scale-up* secondo la metodologia esposta al paragrafo precedente, è tale da ritenere soddisfacente la progettazione concettuale a livello impiantistico e costituisce altresì un base sufficiente per la successiva compilazione delle specifiche di dettaglio.

Per quanto riguarda le apparecchiature ed i macchinari previsti si ritiene che dal punto di vista impiantistico, come riportato nella documentazione esaminata ed elencata al paragrafo 2, rispondano a quanto richiesto dalla buona prassi dell'ingegneria impiantistica industriale.

La planimetria mostra un impianto correttamente disposto, accessibile per la costruzione e manutenzione e agevolmente operabile

Come già accennato, la Tecnologia denominata Minerv-PHATM è in grado di produrre poli-idrossi-alcanoati che tra le bio plastiche sono contemporaneamente bio derivate e bio degradabili e sono al contempo anche smaltibili in stazioni di compostaggio.

Da quanto constatato sull'impianto di Minerbio, dalla documentazione fornita, e dalle interviste effettuate risulta che, Bio-on ha già terminato con successo studi di formulazione di gradi rigidi e rinforzati 100% naturali a base di PHB, di cui è confermata la facile processabilità in presse ad iniezione standard anche con stampi a geometria complessa e di grandi dimensioni. Il risultato è stato riferito come buono sia in termini di produttività sia di resa qualitativa ed estetica

Nelle campagne effettuate in questi circa quattro anni di sperimentazione, nel laboratorio e nell'impianto di Minerbio sono stati prodotti i seguenti quantitativi di polimeri:

(produzione PHA come polvere dopo processo completo)

produzione PHA				
anno	2011	2012	2013	2014 (fino a maggio)
PHB	64,7	250,1	578,6	363,9
PHBVV	0	0	76,6	55

Dal punto di vista della sicurezza e dell'impatto ambientale non si rilevano particolari problematiche, poiché tutti fluidi impiegati rientrano tra quelli di normale e largo uso nell'industria, ed è sufficiente seguire nella progettazione di dettaglio le prescrizioni e normative relative esistenti. In quanto ai reflui ed effluenti, come indicati da Bio-on, risultano tutti trattabili (con trattamenti biologici e non chimici) secondo le tecnologie ampiamente provate ed a disposizione per permettere la loro emissione ed immissione nell'ambiente e/o corpi riceventi nel rispetto delle disposizioni legislative.

In conclusione possiamo dire che, sulla base dei documenti e delle informazioni messeci a disposizione, e di quanto rilevato e constatato presso l'impianto pilota di Minerbio la tecnologia Minerv-PHA™, sotto l'aspetto tecnico impiantistico, sia adatta per essere applicata a livello industriale senza particolari problemi e criticità, seguendo quanto indicato nella documentazione tecnica sviluppata da Techint e le indicazioni riportate nella presente relazione.

L'IMPIANTO PILOTA DI MINERBIO



Foto di assieme dell'Impianto Pilota di Minerbio

La prima fase di fermentazione è vegetativa. Questa fase ha lo scopo di aumentare la biomassa, ossia la quantità di cellule batteriche presenti. La fase successiva in fermentatore produttivo è divisa in due sottofasi:

- fase di accrescimento della biomassa e del numero di cellule;
- fase di vera e propria produzione del poli-idrossi-alcanoato (PHA), con riempimento della cellula.



fermentatore vegetativo, 80L dell'impianto di Minerbio

Il fermentatore vegetativo ha un volume totale di 80 litri, mentre il fermentatore produttivo ha un volume di 1400 litri.

Le prime prove sono state fatte anche in un fermentatore da 2 L come volume totale, il passaggio di scala è uguale a $1400L/2\text{ l} = 700$. I risultati delle campagne produttive effettuate sull'impianto pilota hanno

confermato la validità dei criteri di scale up usati e validano l'adozione degli stessi per il proporzionamento dell' impianto semi industriale, per il quale il fattore di scala è un decimo del precedente.



fermentatore produttivo da 1400L



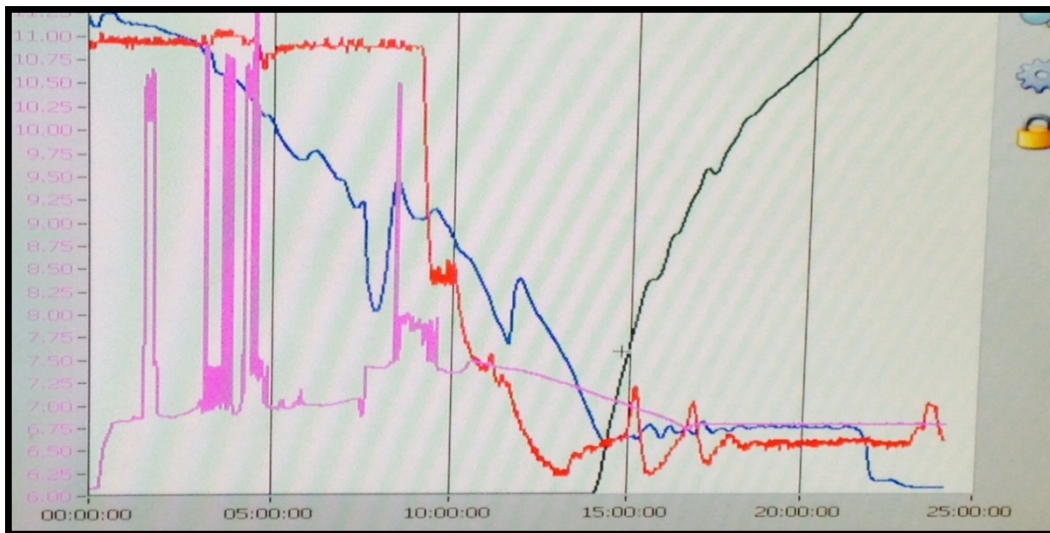
polvere di PHA

Fase analitica.

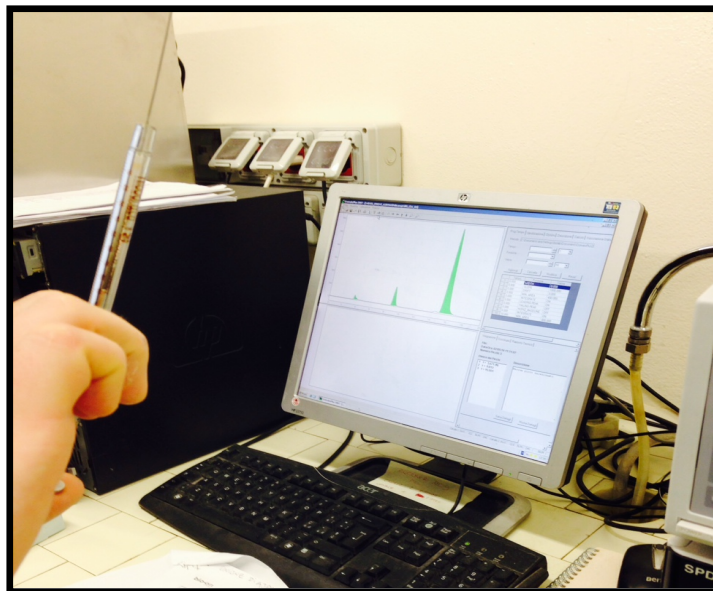
Al fine di gestire il processo, ogni fase produttiva è stata accompagnata da fasi analitiche di vario tipo, che possiamo distinguere essenzialmente in:

-analisi distruttive, che necessitano l'interazione col campione, quali la determinazione del contenuto in biomassa, in PHA, la concentrazione delle fonti di carbonio ed il contenuto d'azoto;

-analisi non distruttive, che avvengono grazie all'utilizzo di sonde a contatto col brodo o con i fluidi che ne originano, al fine di determinare ossigeno disciolto, composizione gas esausti, pH, temperatura e pressione. Altre analisi più raffinate hanno permesso di misurare l'esotermia del processo, al fine di ottimizzare lo scale up industriale.



controlli in linea non distruttivi



HPLC, esempio di controllo che non distrugge il campione

Tutta la fase sperimentale è registrata su materiale cartaceo ed in digitale, con back up.

In prima approssimazione possiamo dire che i documenti cartacei registrano i dati grezzi, derivati direttamente dalle rilevazioni sperimentali.

Le interpretazioni e le fasi di studio sono registrate prevalentemente in forma digitale.

Nel laboratorio sono a disposizione tutti i dati prodotti nella fase sperimentale, in registri, raccoglitori, cartelle digitali e non, ovviamente accessibili entro i limiti definiti dalle responsabilità di ruolo e dalla segretezza dei dati sensibili.

Disclaimer for accessing sensitive documents

This document contains, in whole or in part, sensitive information, personal data, confidential information, and/or material protected by intellectual property rights.

For this reason, the document is not publicly available in its entirety. Some pages have been made available solely to provide an initial overview of the document and its contents, while the remaining sections are not available for public consultation because they contain information subject to confidentiality, privacy, or other legal restrictions.

The restriction on public access does not prevent the provision, where possible and in compliance with the rights of the individuals and entities concerned and with any applicable confidentiality obligations, of information that may be relevant to journalistic work, research, or further investigation.

Journalists, researchers, and other professionals interested in reviewing the document may contact the “Exploring the BIO-ON Case” team at capirobioon@gmail.com, stating the purpose of their request and, where possible, the specific information they are seeking.

Each request will be considered individually, taking into account the nature of the information contained in the document, intellectual property rights, and any confidentiality obligations or other restrictions that may apply to its disclosure.

11.COMMENTI e CONCLUSIONI

Lo scopo della presente Relazione è quello di verificare lo stato di sviluppo della tecnologia Minerv-PHA™ dal punto di vista tecnico - impiantistico in relazione alla fattibilità di un impianto di dimensioni industriali (1 000 – 10 000 t/a).

La documentazione fornita è riferita alla dimensione di circa 1 000 t/a, ma poiché le varie sezioni di impianto sono perfettamente modulari, quanto verificato e quanto oggetto delle nostre conclusioni si applica a capacità multiple superiori.

In ogni paragrafo abbiamo riportato i nostri commenti in relazione alle specifiche tematiche, che qui di seguito riportiamo in sintesi:

- L'impianto pilota comprende le fasi critiche del processo e dell'impianto produttivo, esso è in scala significativa ed ha permesso di verificare le varie operazioni unitarie e di verificare l'idoneità delle apparecchiature selezionate.
- I risultati dell'impianto pilota appaiono positivi e sufficienti per permettere i successivi passi della progettazione; i criteri di *scale-up* impiegati per sviluppare il progetto concettuale dell'impianto industriale risultano in accordo con le buone prassi di progettazione impiantistica
- Gli schemi di processo rispecchiano la logica del processo e le fasi sperimentate sull'impianto pilota; essi sono inoltre completi e redatti secondo i criteri della buona ingegneria impiantistica
- Le apparecchiature previste ed indicate dimensionalmente appaiono conformi alla buona prassi impiantistica industriale; per le apparecchiature particolari da approvvigionarsi come *packages* esistono i dati per compilare a cura di una qualificata società di ingegneria le specifiche particolareggiate come indicato al paragrafo 7
- La planimetria e la concezione impiantistica generale, rispecchiano i criteri della buona prassi progettuale per gli impianti di processo chimici e chimico-biologici
- Non si rilevano particolari problematiche dal punto di vista della sicurezza e dell'impatto ambientale, poiché tutti fluidi impiegati rientrano tra quelli di normale e largo uso nell'industria, ed è sufficiente seguire nella progettazione di dettaglio le prescrizioni e normative relative esistenti. In quanto ai reflui ed effluenti, come indicati da Bio-on, risultano tutti trattabili secondo le tecnologie ampiamente provate ed a disposizione per permettere la loro emissione ed immissione nell'ambiente e/o corpi riceventi nel rispetto delle disposizioni legislative.

Tutto ciò premesso riteniamo sulla base dei documenti e delle informazioni messeci a disposizione, e di quanto rilevato in occasione della visita all'impianto pilota di Minerbio, che la tecnologia Minerv-PHA™ possa essere, sotto l'aspetto tecnico impiantistico, applicata a livello industriale senza particolari problemi e criticità, seguendo quanto indicato nella documentazione tecnica sviluppata da Techint e le indicazioni riportate nella presente relazione



ELENCO ALLEGATI

- Tutti i disegni e di documenti da 2.1 a Rapporti di prova N2.26 dettagliatamente elencati al paragrafo 2
- I Rapporti di Prova del Laboratorio Innovazione Chimica S.r.l.
 - N° 12 LA 11713
 - N° 12 LA 11714
 - N° 12 LA 11715
 - N° 12 LA 11716
 - N° 12 LA 11717
- Quadro refflui liquidi prima del trattamento (110614 docx)