



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SALERNO

Dipartimento di Ingegneria Industriale
Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Chimica

Analisi del processo di produzione dei criogel di agarosio

Tesi in
Fenomeni di trasporto

Relatori:

Prof. Ing. Gaetano Lamberti

Ing. Diego Caccavo

Ing. Rosario Cavallo

Candidato:

Raffaele Mancino

matricola 0622200951

Anno Accademico 2020/2021

Ai miei genitori

Questo testo è stato stampato in proprio, in Times New Roman

La data prevista per la discussione della tesi è il 20/07/2021

Fisciano, 08/07/2021

Sommario

Sommario.....	I
Indice delle figure.....	V
Indice delle tabelle	XI
Abstract.....	XIII
Introduzione	1
1.1 I gel polimerici.....	2
1.1.1 Generalità _____	2
1.1.2 Proprietà e parametri caratteristici _____	3
1.1.3 Classificazione _____	5
1.2 Gli Idrogel.....	6
1.3 I Criogel	8
1.3.1 Caratterizzazione dei criogel _____	10
1.4 Stato dell'arte	13
1.5 Obiettivi	21
Materiali, apparecchiature e metodi.....	23

2.1 Materiali	24
2.1.1 Agarosio	24
2.2 Apparecchiature e applicazioni	24
2.2.1 Refrigeratore	24
2.2.2 Texture analyzer	25
2.3 Metodi.....	26
2.3.1 Preparazione dei campioni	26
2.3.2 Il profilo di temperatura dei gel	27
2.3.3 Stima della dimensione dei cristalli di solvente	34
2.3.4 L'analisi dell'immagine	35
2.3.5 Le prove di compressione non confinata	41
Modellistica	43
3.1 La fisica del sistema	44
3.2 Le equazioni di energia e moto del modello.....	44
3.2.1 Le equazioni del moto.....	45
3.2.2 L'equazione dell'energia termica	47
3.3 La geometria	50
3.4 Le condizioni al contorno	51
3.5 Le proprietà dei materiali	53
3.6 Implementazione del modello.....	61
Risultati e discussione	69
4.1 I profili di temperatura.....	70
4.1.1 Il profilo di temperatura dei criogel a -12°C	70
4.1.2 Il profilo di temperatura dei criogel a -19°C	74

4.1.3 Il profilo di temperatura dei criogel a -25°C _____	76
4.1.4 Il profilo di temperatura dell'acqua a -19°C _____	78
4.2 Validazione del modello.....	80
4.2.1 Confronto con i dati sperimentali _____	81
4.3 La dimensione dei cristalli di solvente	83
4.4 I risultati delle prove di compressione	86
4.4.1 I criogel prodotti a -12°C _____	87
4.4.2 I criogel prodotti a -19°C _____	92
4.4.3 I criogel prodotti a -25°C _____	96
4.4.4 I criogel a confronto _____	100
Conclusioni	105
Bibliografia	109

Indice delle figure

Figura 1. Struttura di un gel [1].	2
Figura 2. Le differenti conformazioni delle subchain e le corrispondenti dimensioni del gel [1].	3
Figura 3. Meccanismo di gelificazione degli idrogel di agarosio [12].	7
Figura 4. Fasi della criogelazione [21].	9
Figura 5. Fotografia al SEM di batteri di escherichia coli intrappolati nella matrice di un criogel [23].	10
Figura 6. Rappresentazione delle diverse tipologie di pori: (a) pori chiusi, (b) pori aperti, (c) pori ciechi [24].	11
Figura 7. Compressione ad espansione laterale libera (ELL) [25].	12
Figura 8. Comportamento poroviscoelastico di criogel di agarosio al 2% w/w sottoposto a compressione non confinata con deformazione del 15%. Con la linea nera è riportato il valore dello sforzo, in rosso la sua deviazione. Le linee blu, verde, magenta e grigia riportano i risultati del modello in termini di sforzo-rilassamento e acqua persa a diversi valori di diffusività dell'acqua D1 . Le frecce nere aiutano la lettura del grafico [27].	13
Figura 9. Influenza della concentrazione e della temperatura sui test meccanici per idrogel di agarosio al 2% (w/v) (a), 4% (w/v) (b), 6% (w/v) (c) [28].	15
Figura 10. Schema semplificato dell'apparecchiatura per il controllo della temperatura: 1 bagno termico, 2 termocoppia, 3 tubo in vetro, 4 iniettore, 5 soluzione del campione, 6 etanolo, 7 trasformatore A/D, 8 personal computer [29].	16
Figura 11. Variazione di temperatura di un campione di concentrazione 7% (w/v) ad una velocità di raffreddamento di 0,17°C/min [29].	17
Figura 12. Evoluzione della temperatura a diverse velocità di raffreddamento per un campione al 7% (w/w) [29].	18
Figura 13. Evoluzione della temperatura a diversa concentrazione, dal 1% al 10% (w/w), con velocità di raffreddamento pari a 0,1°C/min [29].	19
Figura 14. Foto al SEM di criogel prodotti a diverse condizioni: (a) e (b) con velocità di raffreddamento di 0,17°C/min in una colonna dal diametro di 10 mm, (c) e (d) con velocità di raffreddamento di 0,17°C /min in una colonna dal diametro di 26 mm, (e) e (f) con velocità di raffreddamento di 0,34°C/min in una colonna dal diametro di 26 mm [30].	20

Figura 15. Caratteristiche dei criogel di agarosio-alginato a diversa concentrazione di agarosio [31].	21
Figura 16. Struttura chimica dell'agarosio.	24
Figura 17. Labo® SM3 C300-H23.	25
Figura 18. Texture analyzer TA.XT Plus, Stable Micro Sysyem Ltd con fotocamera per l'analisi d'immagine.	26
Figura 19. Un criogel di agarosio dalla superficie appuntita a causa dell'aumento di volume dell'acqua. La punta verrà successivamente rimossa.	27
Figura 20. Tappo al PLA con tre termocoppie tipo K posizionate al centro e ad una distanza di 6,7 mm e 9,6 mm.	28
Figura 21. Scheda di acquisizione della temperatura.	29
Figura 22. Dettaglio del collegamento fra le termocoppie e gli amplificatori MAX31856 della Adafruit.	29
Figura 23. Elegoo nano con microcontrollore CH340 ATmega328P.	30
Figura 24. Generico profilo di temperatura del raffreddamento di un liquido [34].	33
Figura 25. In alto i riferimenti utilizzati da Sman et al. per il confronto della dimensione dei cristalli di acqua nei solidi. In basso il grafico risultante con la retta di fitting [36].	35
Figura 26. In alto a sinistra lo scatto originale, a destra l'immagine trasformata in bianco e nero ottenuta con il comando "imbinarize". In basso a sinistra l'area bianca della sonda è tagliata con il comando "imcrop", a destra l'immagine "BWm" ottenuta dopo aver eliminato le aree bianche più piccole.	38
Figura 27. Noto il valore di diametro_medio/2 può essere ricavato "Rcost" e l'angolo teta compreso fra i due segmenti. Infine il cateto "di" è calcolato come prodotto fra l'ipotenusa e l'angolo opposto.	39
Figura 28. Modellazione del passaggio di fase. In foto $\theta 1$ e $\theta 2$ corrispondono a rispettivamente a φ e $(1 - \varphi)$, Tpc corrisponde a Tmc .	49
Figura 29. La geometria del modello. In blu, dall'alto verso il basso: tappo in PLA, gel, stampo in alluminio, becher. In grigio, dall'alto verso il basso: aria, bagno termico glicole-acqua.	51
Figura 30. Calore specifico del PLA al variare della temperatura fino a 55°C.	53
Figura 31. Conducibilità del PLA al variare della temperatura fino a 48°C.	54
Figura 32. Conducibilità della soluzione acquosa al 40% w/w di glicole al variare della temperatura.	55
Figura 33. Viscosità della soluzione acquosa al 40% w/w di glicole al variare della temperatura.	55
Figura 34. Calore specifico della soluzione acquosa al 40% w/w di glicole al variare della temperatura.	56

Figura 35. Densità della soluzione acquosa al 40% w/w di glicole al variare della temperatura.	56
Figura 36. Calore specifico dell'acqua.	57
Figura 37. Conducibilità dell'acqua.	57
Figura 38. Densità dell'acqua.	58
Figura 39. Densità del ghiaccio al variare della temperatura.	58
Figura 40. Calore specifico del ghiaccio al variare della temperatura.	59
Figura 41. Conducibilità del ghiaccio al variare della temperatura.	59
Figura 42. Calore specifico dell'alluminio.	60
Figura 43. Viscosità dell'aria.	60
Figura 44. Conducibilità dell'aria.	61
Figura 45. Calore specifico dell'aria.	61
Figura 46. Geometria implementata su Comsol.	62
Figura 47. Specifiche del <i>Physical Model</i> per il moto turbolento.	63
Figura 48. Condizioni al contorno per il moto turbolento.	63
Figura 49. Condizioni al contorno per il moto turbolento.	64
Figura 50. Pareti interessate dalla condizione di "No Slip".	64
Figura 51. Domini interessati dal primo blocco "Heat Transfer in Fluids".	65
Figura 52. Condizioni al contorno per il blocco "Heat Transfer in Fluids".	66
Figura 53. Pareti per le quali vale la condizione $T1=T2$	67
Figura 54. Condizioni al contorno per il blocco "Heat Transfer in Fluids 2". ...	68
Figura 55. Profilo di temperatura nei criogel prodotti a -12°C , ottenuto come media dei campioni analizzati. Le curve sono state ottenute usando tre termocoppie posizionate al centro del campione e ad una distanza dallo stesso di 6,7 mm e 9,6 mm. La distanza delle sonde dalla base del campione è di circa 1 mm.	71
Figura 56. Profilo di temperatura nei criogel prodotti a -12°C , utilizzando un campione di riferimento per i tempi di congelamento. Le curve sono state ottenute usando tre termocoppie posizionate al centro del campione e ad una distanza dallo stesso di 6,7 mm e 9,6 mm. La distanza delle sonde dalla base del campione è di circa 1 mm.	72
Figura 57. Dettaglio del tempo di congelamento per la curva ottenuta a $r=0$	73
Figura 58. Tempi medi di congelamento per i criogel prodotti a -12°C con termocoppie poste ad una distanza di circa 1 mm dalla base dello stampo.	74
Figura 59. Profilo di temperatura nei criogel prodotti a -19°C . Le curve sono state ottenute usando tre termocoppie posizionate al centro del campione e ad	

una distanza dallo stesso di 6,7 mm e 9,6 mm. La distanza delle sonde dalla base del campione è di circa 1 mm.75

Figura 60. Tempi medi di congelamento per i criogel prodotti a -19°C con termocoppie poste ad una distanza di circa 1 mm dalla base dello stampo.76

Figura 61. Profilo di temperatura nei criogel prodotti a -25°C. Le curve sono state ottenute usando tre termocoppie posizionate al centro del campione e ad una distanza dallo stesso di 6,7 mm e 9,6 mm. La distanza delle sonde dalla base del campione è di circa 1 mm.77

Figura 62. Tempi medi di congelamento per i criogel prodotti a -25°C con termocoppie poste ad una distanza di circa 1 mm dalla base dello stampo.78

Figura 63. Profilo di temperatura dell'acqua a -19°C. Le curve sono state ottenute usando tre termocoppie posizionate al centro del campione e ad una distanza dallo stesso di 6,7 mm e 9,6 mm. La distanza delle sonde dalla base del campione è di circa 1 mm.79

Figura 64. Tempi medi di congelamento per l'acqua a -19°C con termocoppie poste ad una distanza di circa 1 mm dalla base dello stampo.80

Figura 65. Il profilo di temperatura sperimentale a confronto con quello modellistico per ghiaccio ottenuto con una temperatura del bagno di -19°C. Con i simboli sono rappresentati i risultati sperimentali, con le curve quelli modellistici.81

Figura 66. Variazione della temperatura dei campioni lungo l'asse z e lungo il raggio r.82

Figura 67. Confronto sui tempi di congelamento medi fra acqua e criogel prodotti a -19°C con termocoppie poste ad una distanza di circa 1 mm dalla base dello stampo.83

Figura 68. Dimensione dei pori in μm per criogel a prodotti con una temperatura del bagno di -19°C.84

Figura 69. Dimensione dei pori in μm per criogel a prodotti con una temperatura del bagno di -12°C.85

Figura 70. Dimensione dei pori in μm per criogel a prodotti con una temperatura del bagno di -25°C.86

Figura 71. Il grafico dello sforzo medio (a), della variazione media di diametro (b), volume (c) e altezza (d) durante le prove di compressione non confinata, con deformazione del 10%, per i criogel prodotti a -12°C. Le linee tratteggiate rappresentano la deviazione dai risultati medi.88

Figura 72. A sinistra il criogel al termine della compressione, a destra lo stesso criogel 2 s dopo.89

Figura 73. Scatti effettuati a un criogel, prodotto ad una temperatura di -12°C, durante una prova di compressione non confinata con deformazione del 10%.90

Figura 74. Grafico del diametro e dello sforzo contro il tempo per criogel prodotti a -12°C.91

Figura 75. Il grafico dello sforzo medio (a), della variazione media di diametro (b), volume (c) e altezza (d) durante le prove di compressione non confinata, con deformazione del 10%, per i criogel prodotti a -19°C . Le linee tratteggiate rappresentano la deviazione dai risultati medi.	93
Figura 76. Scatti effettuati a un criogel, prodotto ad una temperatura di -19°C , durante una prova di compressione non confinata con deformazione del 10%. 94	
Figura 77. Grafico del diametro e dello sforzo contro il tempo per criogel prodotti a -19°C	96
Figura 78. Il grafico dello sforzo medio (a), della variazione media di diametro (b), volume (c) e altezza (d) durante le prove di compressione non confinata, con deformazione del 10%, per i criogel prodotti a -25°C . Le linee tratteggiate rappresentano la deviazione dai risultati medi.	97
Figura 79. Scatti effettuati a un criogel, prodotto ad una temperatura di -25°C , durante una prova di compressione non confinata con deformazione del 10%. 98	
Figura 80. Grafico del diametro e dello sforzo contro il tempo per criogel prodotti a -25°C	100
Figura 81. Confronto del profilo di sforzo nelle prove di compressione non confinata con deformazione del 10%. In rosso i criogel ottenuti a -12°C , in blu quelli a -19°C e in verde quelli prodotti con una temperatura del bagno di -25°C	101
Figura 82. Dall'alto verso il basso: Grafico del diametro e dello sforzo contro il tempo per criogel prodotti a -12°C , -19°C e -25°C	103

Indice delle tabelle

Tabella 1. Valore delle costanti utilizzate per la modellazione della turbolenza.	46
Tabella 2. Diametro, altezza e volume iniziale dei campioni a -12°C.	87
Tabella 3. Valore di sforzo massimo per i campioni a -12°C in seguito di una deformazione del 10%.	91
Tabella 4. Diametro, altezza e volume iniziale dei campioni a -19°C.	92
Tabella 5. Valore di sforzo massimo per i campioni a -19°C in seguito ad una deformazione del 10%.	95
Tabella 6. Diametro, altezza e volume iniziale dei campioni a -25°C.	96
Tabella 7. Valore di sforzo massimo per i campioni a -25°C in seguito ad una deformazione del 10%.	99

Abstract

A gel that consists of a cross-linked polymer network of three dimensions is a polymer gel. The gel matrix takes on different characteristics depending on the production technique. Cryogelification, a technique which occurs at low temperatures, ensures a porous structure; the size of the pores depends on the thermal conditions at which they are produced. In this work the effect of the external bath temperature, which influences the cooling and freezing rate, on production step of cryogels of 2% w/w agarose is studied.

Cryogels were produced in a temperature controlled aqueous ethylene glycol bath. Three thermocouples were placed into the samples during preparation, thus obtaining, using MATLAB®, the temperature profile along the radius. This allowed to obtain important information when the production temperature varies, such as: the crystallization and the transition temperature, as well as the time necessary for the complete freezing of the product.

Thanks to the collected data it has been possible to implement on Comsol Multiphysics® a model able to provide information about the production process. After describing the fluid dynamics, using a low Reynolds number $k-\epsilon$ RANS model coupled with the energy balance, the geometry of the cooling system was constructed. By solving the mass and energy balances, the model was able to provide valuable information on a large number of variables. Implemented on Comsol Multiphysics® it can also be used to simulate the freezing of many substances, if the properties are known.

Once the information on the production step was obtained, evaluations on the product structure were carried out to study the differences between the cryogels obtained. In particular, the pore size was estimated using the empirical equations available in the literature;

observing that the lower the production temperature, the smaller the pore size.

To confirm what was observed, mechanical tests were conducted. The cryogels were deformed by 10% in unconfined compression tests. During these several photos were taken, obtaining information on the variation in height, diameter and volume of gels. The mechanical results coupled with the image analysis confirmed the higher poroelasticity of the samples at lower production temperature.

In conclusion it was built a model that can replicate the cryogel production process, observing that the temperature of the thermal bath has a significant influence on the structure and properties of the gels. Temperatures close to the point of crystallization result in larger pores, faster release of water and a weaker structure.

Bibliografia

1. Philippova, O.E. and A.R. Khokhlov, *Polymer Science: A Comprehensive Reference*, in *Polymer Gels*. 2012, Elsevier. p. 339-366.
2. Tolinski, M., *Additives for polyolefins : getting the most out of polypropylene, polyethylene and TPO*. 2009, Oxford: William Andrew.
3. Christensen, R.M., *Theory of viscoelasticity : an introduction*. 2nd ed. ed. 1982, New York ; London: Academic.
4. Cai, S., et al., *Poroelasticity of a covalently crosslinked alginate hydrogel under compression*. 2010: Journal of Applied Physics.
5. Caccavo, D., et al., *Hydrogels: experimental characterization and mathematical modelling of their mechanical and diffusive behaviour*. Chemical Society Reviews, 2018. **47**(7): p. 2357-2373.
6. Cavallo, R., *Characterization of poroviscoelasticity of hydrogels*, in *Ingegneria industriale*. 2019, Università degli studi di Salerno.
7. Ahmed, E.M., *Hydrogel: Preparation, characterization, and applications* Journal of Advanced Research, 2003. **6**(2): p. 105-121.
8. Ullah, F., et al., *Classification, Processing and Application of Hydrogels: A Review*. 2015: Materials Science & Engineering C.
9. Park, K., T. Okano, and R.M. Ottenbrite, *Biomedical applications of hydrogels handbook*. 2010, New York: Springer.
10. Wichterle, O. and D. Lím, *Hydrophilic Gels for Biological Use*. Nature, 1960: p. 117-118.
11. Bahram, M., N. Mohseni, and M. Moghtader, *An Introduction to Hydrogels and Some Recent Applications*, in *Emerging Concepts in Analysis and Applications of Hydrogels*. 2016.

12. Bioscience, L. *Agarose Physical Chemistry*. 2021.
 13. Shoukat, H., et al., *Hydrogels as potential drug-delivery systems: network design and applications*. Therapeutic delivery, 2021. **12**(5).
 14. Tran, V., D. Park, and Y.-C. Lee, *Hydrogel applications for adsorption of contaminants in water and wastewater treatment*. Environmental Science and Pollution Research, 2018. **25**: p. 24569–24599.
 15. Jin, R. and P. Dijkstra, *Hydrogels for Tissue Engineering Applications*, in *Biomedical Applications of Hydrogels Handbook*. 2010, Springer. p. 203-225.
 16. Batista, R.A., P.J.P. Espitia, and J.d.S.S. Quintansc, *Hydrogel as an alternative structure for food packaging systems*. Carbohydrate Polymers, 2019. **205**: p. 106-116.
 17. Lozinsky, V.I., *A Brief History of Polymeric Cryogels*, in *Polymeric Cryogels*. 2014. p. 1-48.
 18. Plieva, F.M., I.Y. Galaev, and B. Mattiasson, *Macroporous gels prepared at subzero temperatures as novel materials for chromatography of particulate-containing fluids and cell culture applications* J. Sep. Sci., 2007. **40**(11): p. 1657–1671.
 19. Villani, M.C., *Produzione e caratterizzazione di diverse strutture porose a base di alginato*, in *DIIN*. 2019, Università degli studi di Salerno.
 20. Mattiasson, B., A. Kumar, and I. Galaev, *Macroporous polymers : production properties and biotechnological/biomedical applications*. 2010, Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis.
 21. Plieva, F.M., et al., *Characterization of supermacroporous monolithic polyacrylamide based matrices designed for chromatography of bioparticles*. Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, 2004. **807**(1): p. 129-137.
 22. Mattiasson, B., *Cryogels for Biotechnological Applications*, in *Polymeric Cryogels*. 2014. p. 245-281.
 23. P., A., et al., *Chromatography of microbial cells using continuous supermacroporous affinity and ion-exchange columns*. J. Chromatogr. A., 2002: p. 27-38.
 24. Savina, I., et al., *Characterization of Macroporous Gels*, in *Macroporous Polymers: Production Properties and Biotechnological/Biomedical Applications*. 2009. p. 211-235.
-

25. Guardiani, A., *Messa a punto di un protocollo sperimentale per lo studio del effetto della rigidezza della matrice sulla differenziazione cellulare del tessuto cardiaco*. 2010.
 26. Caccavo, D. and G. Lamberti, *PoroViscoElastic model to describe hydrogels' behavior*. *Materials Science and Engineering C*, 2017. **76**: p. 102–113.
 27. Caccavo, D., G. Lamberti, and A. Barba, *Mechanics and drug release from poroviscoelastic hydrogels: Experiments and modeling*. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2020. **152**: p. 299-306.
 28. Buckley, C.T., et al., *The effect of concentration, thermal history and cell seeding density on the initial mechanical properties of agarose hydrogels*. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 2009. **2**(5): p. 512-521.
 29. He, X., et al., *Freezing characteristics of acrylamide-based aqueous solution used for the preparation of supermacroporous cryogels via cryo-copolymerization*. *Chemical Engineering Science*, 2007. **62**(5): p. 1334-1342.
 30. Yao, K., et al., *Preparation of polyacrylamide-based supermacroporous monolithic cryogel beds under freezing-temperature variation conditions*. *Chemical Engineering Science*, 2006. **61**(20): p. 6701-6708.
 31. Tripathi, A. and A. Kumar, *Multi-Featured Macroporous Agarose–Alginate Cryogel: Synthesis and Characterization for Bioengineering Applications*. *Macromolecular Bioscience*, 2011. **11**(1): p. 22-35.
 32. Sigma-Aldrich. *Agarose*. 2020; Available from: <https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/biology/agarose.html>.
 33. Mancino, R., *Analisi del comportamento meccanico di idrogel e criogel di agarosio*. 2018, Università degli studi di Salerno.
 34. Pellizzari, A., *Fusione di paraffine in schiume metalliche in alluminio*, in *Ingegneria industriale*. 2017, Università degli studi di Padova
 35. Arsiccio, A., A. Barresi, and R. Pisano, *Prediction of ice crystal size distribution after freezing of pharmaceutical solutions*. 2017, American Chemical Society: *Crystal Growth & Design*.
 36. van der Sman, R.G.M., et al., *Ice crystal interspacing in frozen foods*. *Journal of Food Engineering*, 2013. **116**(2): p. 622-626.
-

37. Frei, W. *Which Turbulence Model Should I Choose for My CFD Application?* 2017; Available from: <https://www.comsol.it/blogs/which-turbulence-model-should-choose-cfd-application/>.
 38. Fares, E. and W. Schroder, *A differential equation for approximate wall distance*. *Int. J. Numer. Meth. Fluids*, 2002. **39**: p. 743–762.
 39. Nakagawa, K., et al., *Modeling of Freezing Step during Freeze-Drying of Drugs in Vials* 2007, American Institute of Chemical Engineers: Wiley InterScience. p. 1362-1372.
 40. Farah, S., D. Anderson, and R. Langer, *Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications — A comprehensive review*. 2016. **107**: p. 367-392.
 41. Bohne, D., S. Fisher, and E. Obermeier, *Thermal Conductivity, Density, Viscosity, and Prandtl-Numbers of Ethylene Glycol-Water Mixtures*. *Phys. Chem.*, 1984. **88**(8): p. 739-742.
 42. Toolbox, T.E. *Engineering ToolBox - Resources, Tools and Basic Information for Engineering and Design of Technical Applications!* 2001; Available from: <https://www.engineeringtoolbox.com/>.
 43. Perry, R.H. and M. Hays, *Perry's chemical engineers' handbook*. 1999, New York: McGraw-Hill. 1 computer optical disc : col.
 44. Cerasi, B. *Compressibility Options and Buoyancy Forces for Flow Simulations*. 2016; Available from: <https://www.comsol.it/blogs/compressibility-options-and-buoyancy-forces-for-flow-simulations/>.
-

