Rapport bioreactor

Wouter Raateland en Diederik van Engelenburg

17 maart 2015

Inhoudsopgave

Hoofdstuk 1

Inleiding

Het onderzoek zoals ....

Hoofdstuk 2

Introductie in de vergelijkingen.

2.1 Interpretatie van de vergelijkingen.

Bacterie-concentratie

De vergelijkingen zoals beschreven in hoofdstuk 1, de inleiding, komen niet uit de lucht vallen. Hier zullen we een korte analyse geven over de interpretatie van de vergelijkingen. Hiertoe beginnen we met de analyse van de bacterie-groei. In eerste instantie beschouwen we hiertoe vat bacteriën in optima-forma, oftwel: er is geen enkele beperkende factor met betrekking tot de groei van de kolonie en we bekijken een omgeving waarin geen bacteriën worden weggenomen. Dan weten we dat, afhankelijk van het type bacterie, moet gelden:

$$X(t) = X(0)e^{\alpha_1 t}$$

voor een zekere constante α_1, waarbij $X(t)$ de concentratie bacteriën is t.o.v. de tijd t. Er geldt dan dus ook dat $\frac{\mathrm{d}X}{\mathrm{d}t} = \alpha_1 X$ voor dezelfde constante α_1. Deze α_1 is dus de maximale groei van de bacterie-kolonie.

Een van de meest logische en meest voor de hand liggende beperkende factoren is dan natuurlijk de voedsel-hoeveelheid. Deze noemen we $S(t)$, een functie die afhankelijk is van de tijd. S is dus de concentratie voedsel. We weten een aantal eigenschappen van de verhouding tussen S en X. Een van de meest logische is: als $S(t) = 0$, dan geldt dat er geen groei van bacteriën mogelijk is. Er moet dus een verband gekozen worden tussen de bacterie-groei en de voedselconcentratie, zo dat dit kleiner of gelijk is aan 1. Daarom kiezen we voor het volgende verband, waarin de 1 onder de deelstreep een gekozen getal is, die waarschijnlijk zal afhangen van de maten waarin gemeten wordt en andere constanten.

$$\frac{\mathrm{d}X}{\mathrm{d}t} = \alpha_1 \frac{S}{1+S} X$$

Dit doen we zodat hoe hoger het voedsel, hoe dichter we tegen de maximale groei (α_1) aan gaan zitten. Met dit verband houden we dus rekening met drie eisen: hoe hoger de voedselconcentratie, hoe hoger de bacterie groei, de bacterie-groei is nooit hoger dan de maximum of optimale groei en als de voedselconcentratie nul is, is de toename van bacteriën ook nul. Daarmee zitten we bij een redelijk goed verband. De 1 onder de deler in de factor $\frac{S}{1+S}$ zal enkel afhangen van de eenheden waarin gemeten wordt.

Het vat bacteriën, of de bioreactor, is echter niet alleen een plaats waar bacteriën normaal kunnen groeien. We willen natuurlijk ook constant een deel van de bacteriën wegnemen. In dit geval bepalen we dat we $X(t)$, de totale concentratie bacteriën op ieder moment weghalen. Er volgt dus dat er een uitstroom van bacteriën is, die per t gelijk is aan X. Dus volgt dat we de volgende vergelijking hebben voor de groei van bacteriën in de bioreactor:

$$\frac{\mathrm{d}X}{\mathrm{d}t} = \alpha_1 \frac{S}{1+S} X - X \tag{2.1}$$

en dat is precies de vergelijking zoals gegeven / beschreven in ??

voedselconcentratie

Vervolgens beschouwen we de voedselconcentratie S in de bioreactor. Wederom beschouwen we eerst een reactor zonder in- of uitstroom. De voedselhoeveelheid hangt dan enkel af van de hoeveelheid bacteriën aanwezig in de reactor. Bovendien zal de voedselconcentratie enkel afnemen in het geval we hier beschouwen. We zien dus dat er ongeveer moet gelden dat $\frac{\mathrm{d}S}{\mathrm{d}t} = -a(t)X$ voor een van de tijd afhankelijke $a(t)$. Om uit te zoeken wat $a(t)$ zou moeten zijn, bekijken we weer een aantal voorwaarden: als $S(t) = 0$ is er geen toename in het voedsel mogelijk is zonder voedseltoevoer. Wederom willen we dat, naarmate het voedsel toeneemt, de voedselafname (relatief) groter wordt, ook wegens vergelijking (2.1).

We weten dat bacteriën het voedsel omzetten[1]. Als we een bioreactor hebben waar bacteriën inzitten, is het dus onvermijdelijk dat het voedsel op raakt als er niet constant voedsel wordt toegevoegd. Deze constante toename noemen we α_2. Deze toename is dus enkel afhankelijk van hoe hij gekozen is en de eenheden waarin gerekend wordt. De vergelijking voor de voedseltoename op ieder tijdstip t wordt dus

$$\frac{\mathrm{d}S}{\mathrm{d}t} = -\frac{S}{1+S} X + \alpha_2.$$

Als we de bioreactor nu zo uitbreiden dat er ook nog uitstroom is, dan weten we dat (aangezien de eenheden gelijk zijn) moet gelden dat er een afname van voedsel is, die een recht-evenredig verband heeft met de voedselconcentratie

[1] referentie hier

op tijdstip t. Dus is er een afname van $aS(t)$ op ieder tijdstip. Afhankelijk van de eenheden en de grootte van de uitstroom wordt de constante a gekozen. In dit geval kiezen we $a = 1$, vanwege onder andere de hoeveelheid bacteriën die uitstroomt op tijdstip t. Bovendien gebruiken we voor zowel de bacterieconcentratie als de voedselconcentratie dezelfde eenheden. Dus volgt er dat de vergelijking voor de verandering in voedselconcentratie er als volgt uitziet:

$$\frac{\mathrm{d}S}{\mathrm{d}t} = -\frac{S}{1+S}X - S + \alpha_2. \tag{2.2}$$

Wat precies de vergelijking is zoals gegeven in ?? / beschreven in ??

2.2 Berekening evenwicht.

We beschouwen de differentiaal vergelijkingen zoals beschreven in sectie ??:

$$\frac{\mathrm{d}X}{\mathrm{d}t} = \alpha_1 \frac{S}{1+S}X - X \tag{2.3}$$

$$\frac{\mathrm{d}S}{\mathrm{d}t} = -\frac{S}{1+S}X - S + \alpha_2 \tag{2.4}$$

Er bevindt zich een evenwicht, wanneer de hoeveelheid bacteriën niet meer groeit of daalt én hetzelfde geldt voor het voedsel. We gaan nu op zoek naar deze evenwichten, als het er meerdere zijn. In andere woorden, we stellen dat zowel vergelijking (2.3) als vergelijking (2.4) nul moeten zijn. Er vindt dan immers geen verandering plaats in zowel de voedselvoorziening als de groei in bacteriën.

Hiertoe bekijken we eerst vergelijking (2.3). Er volgt snel dat, als $\frac{\mathrm{d}X}{\mathrm{d}t} = 0$, dan

$$\begin{aligned} \alpha_1 \frac{S}{1+S}X - X = 0 &\iff \\ X = \alpha_1 \frac{S}{1+S}X &\iff \\ \alpha_1 = \frac{1+S}{S} & \end{aligned}$$

waarbij aangenomen wordt dat $X(t) \neq 0$. Als $X(t) = 0$, geldt namelijk dat de bacteriën constant zijn, maar ook dat het voedsel constant zal toenemen ($S(t) = \alpha_2 t$). In dat geval hebben we natuurlijk te maken met een stabiel evenwicht, maar ook een triviaal en voor dit onderzoek niet zo belangrijk evenwicht. Dus geldt er dat

$$S = \frac{1}{\alpha_1 - 1} \tag{2.5}$$

als er geen verandering plaatsvindt in bacterie populatie.

Dit nemen we mee naar de stabilisatie van het voedsel. Immers, als we te maken hebben met een evenwicht, moet gelden dat zowel $\frac{\mathrm{d}X}{\mathrm{d}t} = 0$ als $\frac{\mathrm{d}S}{\mathrm{d}t} = 0$. We weten al dat er een evenwicht plaatsvindt als $X(t) = 0$. We zien dan gelijk aan vergelijking (2.4) dat $S(t)$ ook naar nul toe gaat of gelijk wordt aan α_2. Daarnaast hebben we nog te maken met evenwicht als $S(t)$ voldoet aan vergelijking (2.5).

Uit vergelijking (2.4) vinden we dan dat, als $\frac{\mathrm{d}S}{\mathrm{d}t} = 0$,

$$\begin{aligned} -\frac{S}{1+S}X - S + \alpha_2 = 0 &\iff \\ \frac{S}{1+S}X = \alpha_2 - S &\iff \\ X = \frac{\alpha_2 + \alpha_2 S - S - S^2}{S} & \end{aligned}$$

Laten we nu weer aannemen dat $S(t) \neq 0$,als dit wel zo is, zien we gelijk dat $X(t)$ naar nul toe gaat (immers: de groei van bacteriën heeft dan een negatief verband met de hoeveelheid bacteriën dat aanwezig is). Er volgt dan dat

$$X = \alpha_2 \left(\frac{1}{S} + 1 \right) - 1 - S$$

We weten dat, mochten we een evenwicht hebben wat betreft bacteriën, er moet gelden dat S voldoet aan vergelijking (2.5). Dus geldt dat

$$X = \alpha_2 \left(\frac{\alpha_1 - 1}{1} + 1 \right) - 1 - \frac{1}{\alpha_1 - 1}$$

Dus weten we dat er een evenwicht is als we zowel hebben dat vergelijking (2.5) geldt en de volgende vergelijking:

$$X = \alpha_1\alpha_2 - \frac{1}{\alpha_1 - 1} - 1$$

Wat als een breuk geschreven kan worden door:

$$X = \frac{\alpha_1(\alpha_1\alpha_2 - \alpha_2 - 1)}{\alpha_1 - 1} \tag{2.6}$$

Hoofdstuk 3

Bepaling van constanten.

De vergelijking voor de groei van bacteriën zoals eerder beschreven hangt natuurlijk af van het type bacterie waarmee we rekenen en van een aantal factoren naast het voedsel, zoals licht, warmte en dergelijken. We spreken bij bacteriën ook wel van een 'specific growth rate', gemeten per uur.

3.1 α_1, specifieke-groeifactor

Algemeen bekend is dat bacteriën zich vermenigvuldigen doormiddel van celdeling. Daarbij ontstaan uit één bacterie twee nieuwe, identieke bacteriën. In dit model rekenen we met gewicht per inhoudsmaat, maar die zijn min of meer evenredig met de hoeveelheid bacteriën in de reactor. Hierdoor weten we dus dat er, uitgaande van het gegeven dat er een beginhoeveelheid $X(0)$ bacteriën is, $X(t) = X(0) \cdot 2^{t_d \cdot t}$, waarbij t_d een constante delingsfactor is, die verschilt per type bacterie.We kunnen dit natuurlijk herschrijven tot $X(t) = X(0) \cdot e^{\alpha_1}$, waarbij α_1 weer een constante is. Dit is ook de vergelijking zoals we die beschrijven in hoofdstuk 2. Deze α_1 word de specifieke, maximale groeifactor genoemd.

In het vervolg zullen enkel nog gegevens gebruiken van de bacteriesoort E. Coli (vanwege veelvuldig onderzoek naar deze bacteriesoort). De precieze keuze van de groeifactor α_1 is dan ook niet van enorm belang voor ons onderzoek, aangezien we de meeste berekeningen doen zonder α_1 vast te kiezen. We laten hier een aantal waarden voor de groeifactor zien, zodat er een realistischer context voor het onderzoek wordt geschapen.

Afhankelijk van een aantal factoren, zoals licht, warmte etc. is onderzoek gedaan naar verschillende groei-waarden voor E. Coli [1]. We zien dan dat de waardes sterk verschillen. In ons onderzoek hebben we niet zoveel aan waarden voor α_1 die kleiner zijn dan 1, aangezien dan de hoeveelheid bacteriën constant aan het dalen is. Dus moet er gebruik worden gemaakt van een

[1] namen hier.. (2006), Stad: , American Society for Microbiology

omgeving, zodat we bijvoorbeeld $\alpha_1 = 2.4$ krijgen. We zien dat er waarden bestaan tussen 1 en 2.4 [2]. De precieze waarde zal dus afhangen van een omstandigheden waarvoor gekozen wordt.

3.2 α_2, toevoer van voedsel.

De toevoer van voedsel wordt in de bioreactor zoals wij die beschrijven als een constante factor beschouwd. De precieze samenstelling van dit voedsel zal natuurlijk afhangen van de bacteriesoort. Duidelijk mag zijn dat kosten het laagst zijn, wanneer er zo min mogelijk voedsel wordt toegevoegd en de beginwaarde voor het voedsel zo laag mogelijk is. In die zien zullen we kijken naar een optimale waarde voor α_2, de voedseltoevoer. Uiteraard kan dit van ondergeschikt belang zijn, wanneer het voedsel erg goedkoop is of makkelijk te verkrijgen is.

Bovendien moet rekening worden gehouden met de tijd die het kost om tot een evenwicht te komen. Het zou immers kunnen zijn dat een evenwicht enkele uren op zich laat wachten. Mede om deze reden zullen we blijven rekenen met α_2, zonder hem direct vast te kiezen. We zullen wel een aantal voorbeelden verschaffen, die een realistische waarde bevat, zodat er een duidelijke interpretatie van ons onderzoek kan plaatsvinden.

3.3 $X(0), S(0)$ beginwaarde van de bacterië- en voedselconcentratie.

Het moge duidelijk zijn dat $X(0) = 0$ een niet al te veelzeggende beginwaarde is (immers, dan zou ook $S(t) = S(0) + \alpha_2 t$ zijn). De beginwaarde zal echter erg afhangen van α_1 en α_2. Als we kijken naar optimalisatie, zal dit afhangen van factoren als de mogelijkheid tot het verkrijgen van de bacteriën, hun specifieke groeifactor, de voedseltoevoer enz.

Om dieper in te gaan op de beginwaarde van de bacterië- en de voedselconcentratie, moeten we eerst verder gaan kijken naar het fasevlak bij verschillende standaardwaarden α_1 en α_2. We gaan opzoek naar beginwaarden, zodat evenwicht bereikt wordt.

[2] N.B. volgt uit het onderzoek van de A.S.M. dat er ook maximale-groeiconstanten bestaan die kleiner zijn dan 1, zoals 0.7 bij bepaalde licht-waarden. Deze waarden resulteren bij ons onderzoek in een krimp van bacteriën, dus het evenwicht $(X(t), S(t)) = (0, \alpha_2 t + S(0))$

Hoofdstuk 4

Fasevlak en Linearisatie.

4.1 Het fasevlak.

We bekijken eerst een aantal fase-vlakken voor verschillende constanten α_1 en α_2, respectievelijk de maximale bacterie-groei en de toename van voedsel. Hiertoe nemen we α_1 zoals we die vinden in hoofdstuk 3. Zoals we al eerder zagen, in hoofdstuk 2, leveren alle waarden $\alpha_1 \leq 1$ wel een evenwicht op, maar altijd zo dat $X(t) \to 0$ als t groter wordt. Daarom kiezen we waarden $1 < \alpha_1 < 2.4$ (zie hiertoe weer hoofdstuk 3). Voor het berekenen van het fase-vlak gebruiken we de methode van Euler[1].

Uit de bovenstaande fasevlakken zien we drie duidelijke evenwichten ontstaan.

[1] Zie bijlage ?? voor de precieze implementatie van deze methode.