



نهمین کنگره ملی مهندسی شیمی ایران

دانشگاه علم و صنعت ایران
۳-۵ آذر ماه ۱۳۸۳

شبیه سازی رقابت بین میکروارگانیسرها در یک بیوراکتور بیوفیلمی با سوبسترای بازدارنده

محمد رحیم زاده^{۱*}، سهیلا یغمایی^۲

۱. دانشگاه تبریز، دانشکده کشاورزی گروه صنایع غذایی؛

۲. دانشگاه صنعتی شریف، دانشکده مهندسی شیمی و نفت

mamadrkhoyi@yahoo.com

چکیده

در این مقاله از یک مدل ساده برای شبیه سازی بیوفیلیم و رقابت میکروارگانیسرها در آن استفاده شده است. برای توصیف رشد میکروارگانیسرهای A و B از مدل رشد اندروز با محدودیت فضایی استفاده شده است. برای مدلسازی نفوذ سوبسترا، حرکت میکروارگانیسرها و کاهش بیوماس در اثر تنش برشی از معادلاتی شبیه قانون فیک استفاده شده است. رفتار کیفی بیوراکتور به صورت چهار ناحیه مشخص شده است. در ناحیه I هر دو میکروارگانیسیم از بیوراکتور تخلیه می شوند. در نواحی II و III یک میکروارگانیسیم از راکتور تخلیه می شود. در ناحیه IV هم هر دو میکروارگانیسیم حضور دارند. برای بررسی بیشتر چهار حالت فرض شده که همگرایی معادلات به یکی از نواحی I-IV به شرایط عملیاتی بستگی دارد.

کلمات کلیدی: بیوفیلیم، رقابت، محدودیت فضایی، شبیه سازی

مقدمه

پدید آمدن مشکلات زیست محیطی فراوان در اثر دفع فاضلابها به محیط زیست، تصفیه فاضلابها را به امری اجتناب ناپذیر تبدیل کرده است. از میان روشهای مختلف تصفیه، روشهای بیولوژیکی اقتصادی تر و مفیدتر از سایر روشها می باشند و بیشتر مورد توجه قرار گرفته اند. به این جهت معمولاً با استفاده از یک یا چند میکروارگانیسم در بیوراکتورهای کوچکی در محل تولید فاضلاب انجام می گیرد. میکروارگانیسمها از مواد سمی فاضلاب به عنوان سوسترا استفاده کرده و آن را به مواد غیر سمی مانند دی اکسید کربن، آب، متان و دیگر ترکیبات آلی بی خطر تبدیل می کنند. عملکرد چنین بیوراکتورهایی به سینتیک رشد میکروارگانیسمها بستگی دارد و در نتیجه برای کنترل بهتر و بهینه سازی شرایط عملیاتی، دانستن اطلاعاتی در مورد سینتیک میکروارگانیسمها لازم است. اخیراً هم استفاده از راکتورهایی با میکروارگانیسمهایی ویژه مورد توجه قرار گرفته است که یا به طور طبیعی و یا در اثر دستکاری ژنتیکی توانایی تجزیه مواد سخت تجزیه پذیر را دارند [۱] و در چنین راکتورهایی هم تعیین شرایط عملیاتی به گونه ای که میکروارگانیسم مطلوب گونه غالب بوده و از راکتور تخلیه نشود، ضروری است.

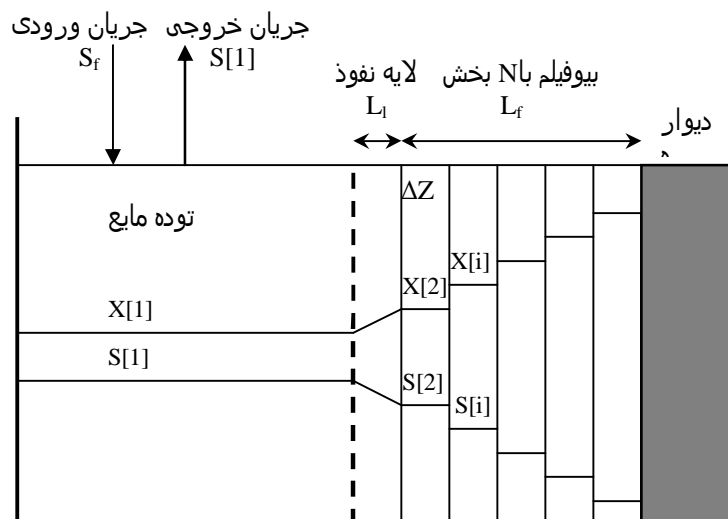
آریس وهامفری [۲] رقابت بین دو میکروارگانیسم را که از یک سوسترای بازدارنده استفاده می کنند را در یک راکتور کاملاً مخلوط بررسی کرده و سه حالت پایا را مشاهده نمودند. تخلیه شدن هر دو میکروارگانیسم از راکتور، تخلیه شدن فقط یک میکروارگانیسم از راکتور و همزیستی دو میکروارگانیسم در راکتور. هر چند همزیستی دو میکروارگانیسم فقط در یک نقطه پدید می آید که نرخ رقت راکتور دقیقاً با نرخ رشد در نقطه تلاقی منحنی های رشد دو میکروارگانیسم برابر باشد.

در سیستمهای تصفیه فاضلاب معمولاً راکتورهایی مانند فیلترهای چکنده یا بیودیسکها که دارای بیوفیلم هستند به راکتورهای کاملاً مخلوط ترجیح داده می شوند [۳] زیرا در اینگونه راکتورها میکروارگانیسمها در بیوفیلم تثبیت شده اند و می توانند غلظتهای بالاتر فاضلاب با شدت جریانهای بیشتر را تحمل کنند و زمان ماند سلولی بیشتر از زمان ماند هیدرولیکی است و همچنین میکروارگانیسمها در لایه های درونی تر بیوفیلم از شرایط سخت بیرونی محافظت می شوند. اما مطالعات کیفی انجام گرفته برای توصیف دینامیک جمعیت میکروبی بیوفیلمها با استفاده از مدلهای ریاضی بسیار محدود می باشند [۴، ۵، ۶، ۷ و ۸]. البته مدلهای ارائه شده هم بیشتر برای تعیین توزیع مکانی میکروارگانیسمها با نیازهای غذایی متفاوت مانند میکروارگانیسمهای اتوتروف و هتروتروف (به خصوص در مورد بیوفیلمهای نیتراژ که واکنش مطلوب را میکروارگانیسمهای اتوتروف انجام می دهند) بکار می رود. در این تحقیق با استفاده از یک مدل ریاضی ساده رقابت بین دو میکروارگانیسم که از یک سوسترای بازدارنده استفاده می کنند شبیه سازی شده است و تأثیر شرایط عملیاتی بر ترکیب جمعیتی میکروارگانیسمها بررسی شده است.

مدل ریاضی و معادلات حاکم

شرح مدل

در این بخش مدلی بر مبنای مدل پیشنهاد شده توسط سودا و همکاران [۵] ارائه می شود. در این مدل از چند فرض ساده کننده استفاده شده است که عبارتند از : ۱- ضخامت بیوفیلیم ثابت بوده و در تمام نقاط بیوفیلیم یکسان می باشد. ۲- رشد میکروارگانیسمها از مدل اندروز با محدودیت فضایی تبعیت می کند و سقفی برای مجموع غلظت دو میکروارگانیسم A و B در نظر گرفته شده است. ۳- نفوذ سوپسترا، حرکت میکروارگانیسمها و کاهش بیوماس بیوفیلیم در اثر تنش برشی از معادلاتی شبیه قانون فیک تبعیت می کند. برای حل معادلات، بیوفیلیم به پنج قسمت مساوی (المان های هم اندازه) تقسیم شده است. در شکل ۱ نمایی از بیوفیلیم نشان داده شده است. ضخامت بیوفیلیم $L_f(m)$ می باشد که به $N(=5)$ قسمت مساوی تقسیم شده است که ضخامت هر قسمت با $\Delta Z(m)$ نمایش داده شده است. فاضلاب با دبی ثابت به بیوراکتور وارد می شود و غلظت سوپسترا در آن $S_f(mg/l)$ می باشد. توده مایع داخل راکتور کاملاً مخلوط و در نتیجه همگن در نظر گرفته شده است. سوپسترا از توده مایع با غلظت $S[1]$ به سطح بیوفیلیم با غلظت $S[2]$ منتقل می شود برای نشان دادن مقاومت انتقال جرم از توده مایع به سطح بیوفیلیم لایه فرضی به نام لایه نفوذ در نظر گرفته شده است که ضخامت آن $L_l(m)$ می باشد. سوپسترا پس از نفوذ از لایه نفوذ و رسیدن به سطح بیوفیلیم باید به درون آن نفوذ نماید. در این مدل فرض شده است که غلظت اکسیژن محدود کننده نمی باشد و در سینتیک رشد میکروارگانیسمها تأثیری ندارد.



شکل ۱ - مخزن کاملاً مخلوط دارای بیوفیلیم با N بخش با ضخامت ثابت.

موازنه جرم در توده مایع

در راکتورهای بیوفیلیمی همواره بین توده مایع و بیوفیلیم تبادل جرم صورت می گیرد به طوری که سوپسترا از توده مایع به داخل بیوفیلیم وارد می شود و سلولهای مرده که قابلیت چسبندگی خود را از دست داده اند به همراه بعضی از سلولهای زنده در اثر تنش برشی از بیوفیلیم جدا شده و به توده مایع وارد می شوند. جدا شدن و چسبیدن سلولها به بیوفیلیم مقوله بسیار مهمی است که به طور کامل مطالعه نشده است و مدل مناسبی برای آن وجود ندارد [۵ و ۷]. موازنه جرم سوپسترا و سلولهای میکروارگانیسمهای A و B به قرار زیر است:

$$\frac{dS[1]}{dt} = D(S_f - S[1]) - aD_s \frac{S[1] - S[2]}{\Delta Z} - \frac{\mu_A[1]X_A[1]}{Y_A} - \frac{\mu_B[1]X_B[1]}{Y_B} \quad (1)$$

$$\frac{dX_A[1]}{dt} = -DX_A[1] - aD_{XA} \frac{X_A[1] - X_A[2]}{\Delta Z} + (\mu_A[1] - b_A)X_A[1] \quad (2)$$

$$\frac{dX_B[1]}{dt} = -DX_B[1] - aD_{XB} \frac{X_B[1] - X_B[2]}{\Delta Z} + (\mu_B[1] - b_B)X_B[1] \quad (3)$$

که در آن S غلظت سوپسترا (mg/l) می باشد. X_A و X_B غلظت میکروارگانیسمهای A و B بر حسب mg/l می باشد. هر عدد داخل کروشه نشانگر توده مایع یا بخشهای نشان داده شده در شکل ۱ می باشد. D_X ، b، Y و μ به ترتیب عبارتند از ضریب نفوذ میکروارگانیسمها (m^2/d)، ضریب کاهش بیوماس (d^{-1})، راندمان (بی واحد) و نرخ رشد ویژه (d^{-1}). زیرنویسهای A و B هم به میکروارگانیسمها مربوط است و D_s ، D و a به ترتیب عبارتند از نرخ رقت (d^{-1})، ضریب نفوذ سوپسترا (m^2/d)، مساحت مخصوص عمود بر جریان (m^{-1}) و زمان (d).

موازنه جرم در بیوفیلیم

واکنشهای درون بیوفیلیم به صورت معادلات انتقال جرم شبیه سازی شده است. موازنه جرم در بخش سطحی بیوفیلیم به صورت زیر است:

$$\frac{dS[2]}{dt} = D_s \frac{S[1] - S[2]}{L_i \Delta Z} - D_s \frac{S[2] - S[3]}{\Delta Z^2} - \frac{\mu_A[2]X_A[2]}{Y_A} - \frac{\mu_B[2]X_B[2]}{Y_B} \quad (4)$$

$$\frac{dX_A[2]}{dt} = D_{XA} \frac{X_A[1] - X_A[2]}{L_i \Delta Z} - D_{XA} \frac{X_A[2] - X_A[3]}{\Delta Z^2} + (\mu_A[2] - b_A)X_A[2] \quad (5)$$

$$\frac{dX_B[2]}{dt} = D_{XB} \frac{X_B[1] - X_B[2]}{L_i \Delta Z} - D_{XB} \frac{X_B[2] - X_B[3]}{\Delta Z^2} + (\mu_B[2] - b_B)X_B[2] \quad (6)$$

برای بخشهای دوم تا ماقبل آخر بیوفیلیم موازنه جرم به صورت زیر است:

$i = 2, \dots, N$

$$\frac{dS[i]}{dt} = D_s \frac{S[i-1] - 2S[i] + S[i+1]}{\Delta Z^2} - \frac{\mu_A[i]X_A[i]}{Y_A} - \frac{\mu_B[i]X_B[i]}{Y_B} \quad (7)$$

$$\frac{dX_A[i]}{dt} = D_{XA} \frac{X_A[i-1] - 2X_A[i] + X_A[i+1]}{\Delta Z^2} + (\mu_A[i] - b_A)X_A[i] \quad (8)$$

$$\frac{dX_B[i]}{dt} = D_{XB} \frac{X_B[i-1] - 2X_B[i] + X_B[i+1]}{\Delta Z^2} + (\mu_B[i] - b_B)X_B[i] \quad (9)$$

موازنه جرم در بخش انتهایی چسبیده به جداره راکتور یا آکنه به قرار زیر است:

$$\frac{dS[N+1]}{dt} = D_s \frac{S[N] - S[N+1]}{\Delta Z^2} - \frac{\mu_A[N+1]X_A[N+1]}{Y_A} - \frac{\mu_B[N+1]X_B[N+1]}{Y_B} \quad (10)$$

$$\frac{dX_A[N+1]}{dt} = D_{XA} \frac{X_A[N] - X_A[N+1]}{\Delta Z^2} + (\mu_A[N+1] - b_A) X_A[N+1] \quad (11)$$

$$\frac{dX_B[N+1]}{dt} = D_{XB} \frac{X_B[N] - X_B[N+1]}{\Delta Z^2} + (\mu_B[N+1] - b_B) X_B[N+1] \quad (12)$$

ضرایب نفوذ D_{XA} و D_{XB} نشانگر جابجایی سلول در اثر تقسیم و تکثیر و نیز در اثر تنش برشی در سطح بیوفیلم می باشد.

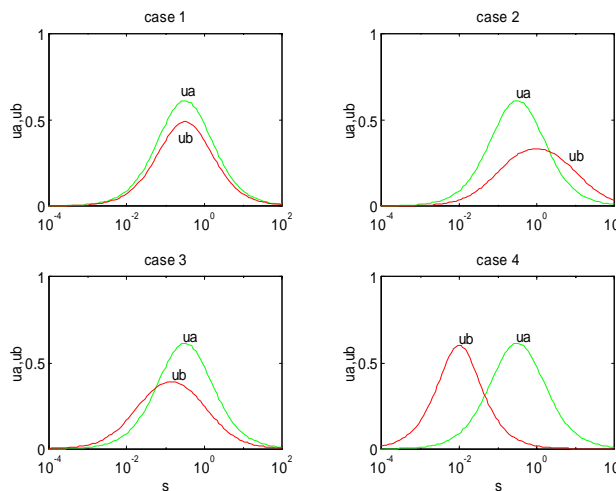
سینتیک رشد میکروارگانیسمها

برای توصیف رشد میکروارگانیسمها با سوبسترای بازدارنده از مدل رشد اندروز [۹] استفاده شده است. میکروارگانیسمهای A و B در بیوفیلم باید برای استفاده از سوبسترا با یکدیگر رقابت کنند و در ضمن برای فضای محدودی که در بیوفیلم وجود دارد نیز با یکدیگر رقابت خواهند کرد و برای توصیف چنین رقابتی یک جمله محدودیت فضایی نیز باید به مدل رشد اضافه گردد که چنین جمله ای را هان و لونشپیل [۱۰] به صورت زیر پیشنهاد نموده اند :

$$\mu_A[i] = \frac{\mu_{mA} S[i]}{K_{SA}[i] + S[i] + \frac{S[i]^2}{K_{IA}}} \left(1 - \frac{X_A[i] + X_B[i]}{X_m} \right) \quad (13)$$

$$\mu_B[i] = \frac{\mu_{mB} S[i]}{K_{SB}[i] + S[i] + \frac{S[i]^2}{K_{IB}}} \left(1 - \frac{X_A[i] + X_B[i]}{X_m} \right) \quad (14)$$

که در آن K_I ، ثابت بازدارندگی بر حسب mg/l و μ_m حداکثر نرخ ویژه رشد بر حسب d^{-1} می باشد و X_m (بر حسب mg/l) حداکثر غلظت بیوماس (مجموع غلظت میکروارگانیسمهای A و B) ممکن در هر بخش بیوفیلم را نشان می دهد.



شکل ۲ - نمودارهای رشد میکروارگانیسمهای A و B بدون در نظر گرفتن محدودیت فضایی؛

در این شکل ua و ub به ترتیب نشان دهنده μ_A و μ_B بر حسب d^{-1} می باشند.

مقادیر پارامترها

در شکل ۲ نمودارهای رشد میکروارگانیسمهای A و B در چهار حالت مختلف و با در نظر گرفتن مقدار بی نهایت برای X_m (یعنی بدون محدودیت فضایی) نشان داده شده است.

در حالت ۱ میکروارگانیسم A در تمام غلظت‌های سوبسترا سریعتر از میکروارگانیسم B رشد می‌کند. در حالت ۲ منحنی‌های رشد دو میکروارگانیسم همدیگر را قطع می‌کنند و میکروارگانیسم A در غلظت‌های پایینتر از نقطه تلاقی سریعتر از میکروارگانیسم B رشد می‌کند و در حالت ۳ نیز دو منحنی همدیگر را قطع می‌کنند ولی در غلظت‌های پایینتر از نقطه تلاقی دو منحنی، میکروارگانیسم B سریعتر رشد می‌کند و در حالت ۴ نیز دو منحنی همدیگر را قطع می‌کنند ولی ماکسیمم هر منحنی خارج از منحنی دیگر است و در غلظت‌های پایینتر از نقطه تلاقی، میکروارگانیسم B سریعتر از میکروارگانیسم A رشد می‌کند.

جدول ۱ - مقادیر پارامترهای استفاده شده در مدل و نمودارهای شکل ۲.

میکروارگانیسم B				میکروارگانیسم A		
حالت ۴	حالت ۳	حالت ۲	حالت ۱	حالت‌های ۱ تا ۴		
1/8	0/5	0/4	0/8	1/0		$\mu_m (d^{-1})$
0/01	0/02	0/1	0/1	0/1		$K_s (mg/l)$
0/01	1/0	10/0	1/0	1/0		$K_i (mg/l)$
0/05	0/05	0/05	0/05	0/05		$b(d^{-1})$
0/5	0/5	0/5	0/5	0/5		$Y(-)$
5×10^{-8}	5×10^{-8}	5×10^{-8}	5×10^{-8}	5×10^{-8}		$D_x (m^2/d)$

این چهار حالت ممکن برای منحنی‌های رشد از طریق تعیین مقادیر شش پارامتر K_{SA} ، K_{SB} ، μ_{mA} ، μ_{mB} ، K_{IA} و K_{IB} بدست می‌آید. برای شبیه‌سازی حالت‌های ۱ تا ۴ از مقادیر فهرست شده در جدول ۱ استفاده شده است و سایر مشخصات فیزیکیوشیمیایی بیوفیلیم در جدول ۲ آورده شده است.

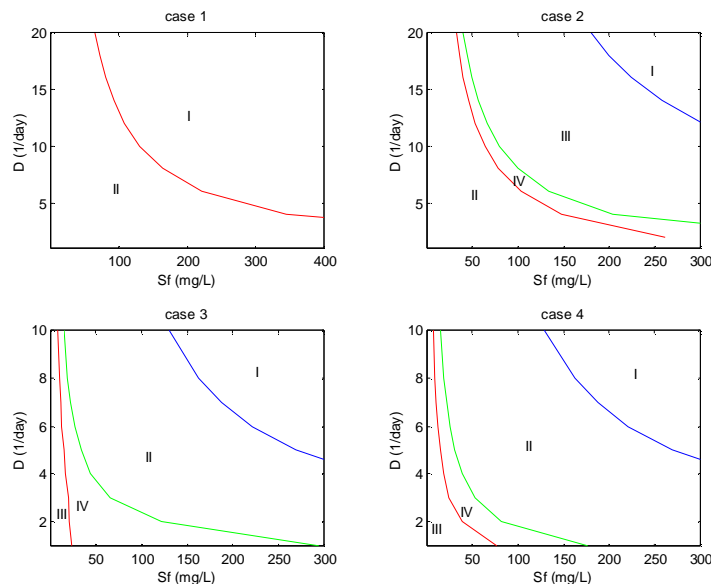
ضریب نفوذ سوبسترا برای موادی مانند استات آمونیوم و اکسیژن در شبیه‌سازی بیوفیلیم معمولاً بین 10^{-4} تا $10^{-5} (m^2/d)$ در نظر گرفته شده است [۴، ۵، ۶، ۱۱ و ۱۲]. ضریب نفوذ میکروارگانیسمها در بیوفیلیم هم تا کنون به طور کامل مطالعه نشده است ولی بایستی بسیار کمتر از ضریب نفوذ میکروارگانیسمها در آب خالص باشد. وانر و رایشرت [۷] برای شبیه‌سازی بیوفیلیم، ضریب نفوذ هتروتروفها و اتوتروفها را $5 \times 10^{-9} (m^2/d)$ در نظر گرفته بودند و سودا و همکاران [۵] مقدار $5 \times 10^{-8} (m^2/d)$ را برای ضریب نفوذ میکروارگانیسمها انتخاب کرده بودند که در این مقاله نیز از این مقدار استفاده شده است. حداکثر غلظت بیوماس در هر بخش بیوفیلیم $400 mg/l$ در نظر گرفته شده است که برای کل بیوفیلیم $2 g/l$ می‌باشد و این مقدار در سایر مقالات بین ۱ تا $100 g/l$ فرض یا محاسبه شده است [۳، ۴، ۱۳، ۱۴ و ۱۵]. برای حل معادلات نیز از نرم افزار MATLAB 5.3 استفاده شد.

جدول ۲ - خصوصیات فیزیکیوشیمیایی بیوفیلیم.

$a(m^{-1})$	2000	$L_f (m)$	1×10^{-3}
$D_s (m^2/d)$	5×10^{-5}	$X_m (mg/l)$	400
$L_i (m)$	1×10^{-4}	$\Delta Z (m)$	2×10^{-4}

نتایج

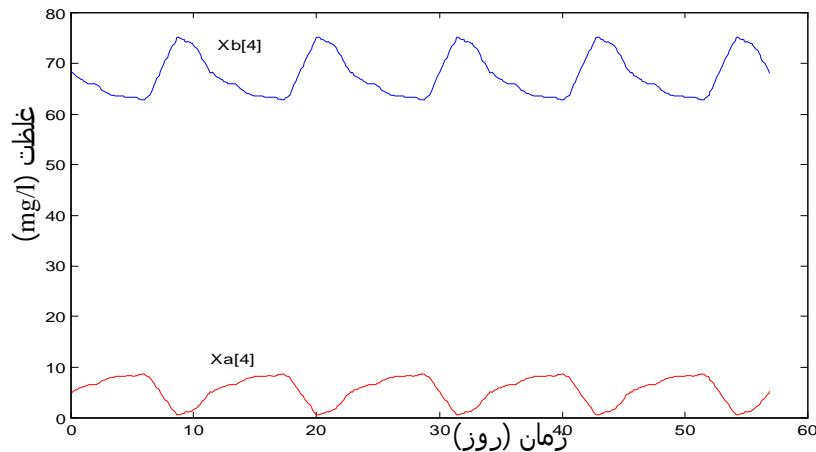
با توجه به وابستگی جوابهای معادلات به مقادیر پارامترهای عملیاتی S_f و D معادلات با استفاده از مقادیر متفاوت S_f و D حل گردید که نتایج در نمودارهای شکل ۳ برای هر چهار حالت نشان داده شده است. میکروارگانیسمها در راکتور بیوفیلمی می توانند در نرخهای رقت بیشتر از نرخ رشدشان حضور داشته باشند و بر اساس حضور یا عدم حضور یکی از میکروارگانیسمها یا هر دو آنها چهار ناحیه متفاوت قابل مشاهده است. در ناحیه I هیچکدام از میکروارگانیسمها در حالت پایا وجود ندارند. در ناحیه II میکروارگانیسم B از راکتور تخلیه می شود و فقط میکروارگانیسم A در راکتور حضور دارد. در ناحیه III میکروارگانیسم A از راکتور تخلیه می شود و فقط میکروارگانیسم B در بیوفیلیم باقی می ماند و در ناحیه IV هر دو میکروارگانیسم می توانند در بیوفیلیم حضور داشته باشند که در بعضی از نقاط ناحیه IV این همزیستی توأم با نوسان در مقادیر غلظتهای میکروارگانیسمها می باشد. (سودا و همکاران [۵] این نوسان را به طور کامل بررسی نموده اند).



شکل ۳ - نمودارهای عملیاتی برای راکتور بیوفیلمی در حالت‌های ۱ تا ۴.

در حالت ۱ فقط دو ناحیه وجود دارد: نواحی I و II. در حالت ۲ هر چهار ناحیه مشاهده می شود به طوری که در مقادیر کم سوپسترا ناحیه I و بعد ناحیه IV و در مقادیر بالاتر سوپسترا (S_f و D) ناحیه III و در مقادیر بسیار زیاد S_f و D ناحیه I مشاهده می شوند. با توجه به این نتایج می توان گفت که برای همزیستی این دو میکروارگانیسم بایستی نمودارهای نرخ رشد همدیگر را قطع کرده باشند و اینکه مشاهده می شود در حالت ۲ ابتدا ناحیه II (مقادیر کمتر سوپسترا) مشاهده می شود ولی در حالت‌های ۳ و ۴ ناحیه III در ابتدا مشاهده می شود نیز با توجه به نمودارهای رشد قابل توجیه است به این ترتیب که در حالت ۲ در غلظتهای پایینتر سوپسترا میکروارگانیسم A سریعتر از میکروارگانیسم B رشد می کند و در حالت‌های ۳ و ۴ در غلظتهای پایینتر سوپسترا میکروارگانیسم B سریعتر رشد می کند. در حالت‌های ۳ و ۴ این نکته نیز قابل توجه است که

در ناحیه IV میکروارگانیسم B بدون حضور میکروارگانیسم A نمی تواند حضور داشته باشد زیرا در این ناحیه میکروارگانیسم A از غلظت سوبسترا می کاهد و در نتیجه میکروارگانیسم B که به بازدارندگی سوبسترا حساستر است می تواند از سوبسترا استفاده نموده و رشد کند. به علاوه در بعضی از نقاط ناحیه IV می توان همزیستی توأم با نوسان در مقادیر غلظتهای میکروارگانیسمها را مشاهده نمود. به عنوان مثال، در نقطه d^{-1} $S_f = 10 \text{ mg/l}$ ، $D = 1$ از حالت ۴ نوسان در مقادیر $X_A[4]$ و $X_B[4]$ در شکل ۴ نشان داده شده است.



شکل ۴ - نوسان در مقادیر غلظتهای میکروارگانیسمها با دوره نوسان حدود

۱۱/۲۴ روز با مقادیر نرخ رقت d^{-1} ۱ و غلظت ورودی 10 mg/l .

تأثیر پارامترهای عملیاتی D و S_f بر جمعیت میکروارگانیسمها

تأثیر پارامتر S_f

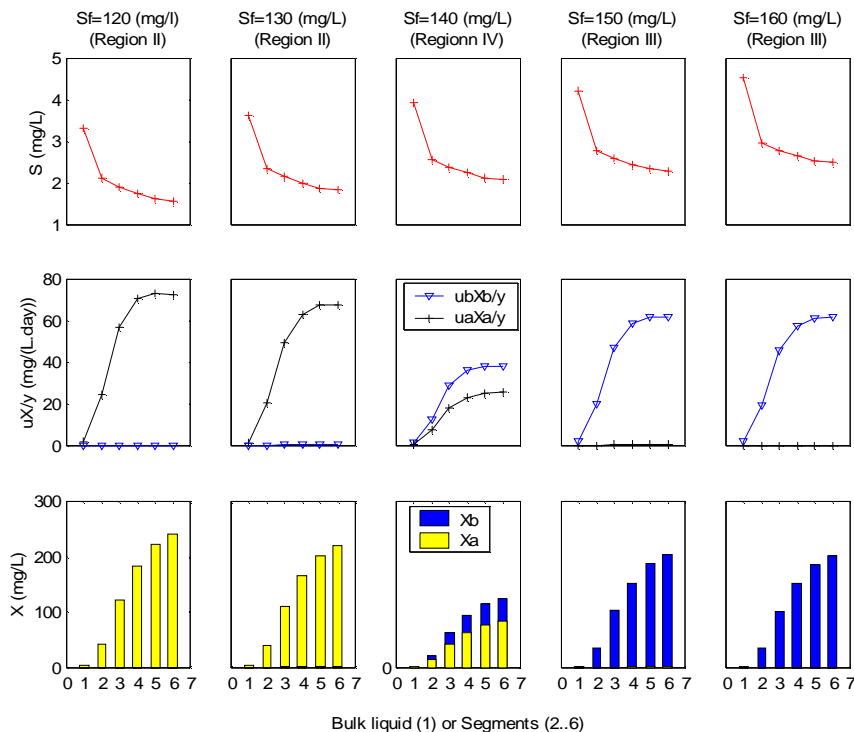
در شکل ۵ چند حالت پایا را که با در نظر گرفتن مقدار $D = 5 d^{-1}$ در پنج مقدار مختلف S_f در حالت ۲ بدست آمده است، آورده شده است. ردیف بالایی شکل نشان دهنده مقدار سوبسترا در بخشهای مختلف توده مایع و بیوفیلیم بوده و ردیف پایینی هم مقادیر غلظتهای میکروارگانیسمهای A و B را نشان می دهد. ردیف میانی نیز نشان دهنده نرخ مصرف سوبسترا توسط هر کدام از میکروارگانیسمها یا میزان فعالیت آنهاست که با پارامترهای $\mu_A X_A/Y_A$ و $\mu_B X_B/Y_B$ تعیین شده است.

در غلظتهای پایینتر از $S_f = 122 \text{ mg/l}$ فقط میکروارگانیسم A می تواند در بیوفیلیم حضور داشته باشد (ناحیه II). از ۱۲۲ تا 157 mg/l هر دو میکروارگانیسم به طور همزیستی در بیوفیلیم حضور دارند (ناحیه IV) و از ۱۵۷ تا 772 mg/l فقط میکروارگانیسم B قادر به ادامه حیات است (ناحیه III). از 773 mg/l به بالاتر هم هر دو میکروارگانیسم از راکتور تخلیه می شوند (ناحیه I).

در شکل ۶ نیز تأثیر میزان S_f بر جمعیت میکروبی بیوفیلیم، غلظت سوبسترا و نرخ مصرف سوبسترا یا میزان فعالیت هر میکروارگانیسم در حالت ۴ و $D = 3 d^{-1}$ نشان داده شده است. در این حالت بر خلاف حالت ۲،

میکروارگانسیم B نسبت به سوبسترا حساستر است و فقط می تواند در غلظت‌های کم سوبسترا در بیوفیلیم حضور داشته باشد و در غلظت‌های بالاتر از راکتور تخلیه می شود. در این حالت در غلظت‌های پایینتر از mg/l $25/2$ فقط میکروارگانسیم B حضور دارد و از $25/2$ تا $53/3$ mg/l هر دو میکروارگانسیم در بیوفیلیم وجود دارند (ناحیه IV). از $53/3$ تا 476 mg/l فقط میکروارگانسیم A در بیوفیلیم باقی می ماند (ناحیه II) و در غلظت‌های بالاتر از 476 mg/l هر دو میکروارگانسیم از راکتور تخلیه می شوند (ناحیه I).

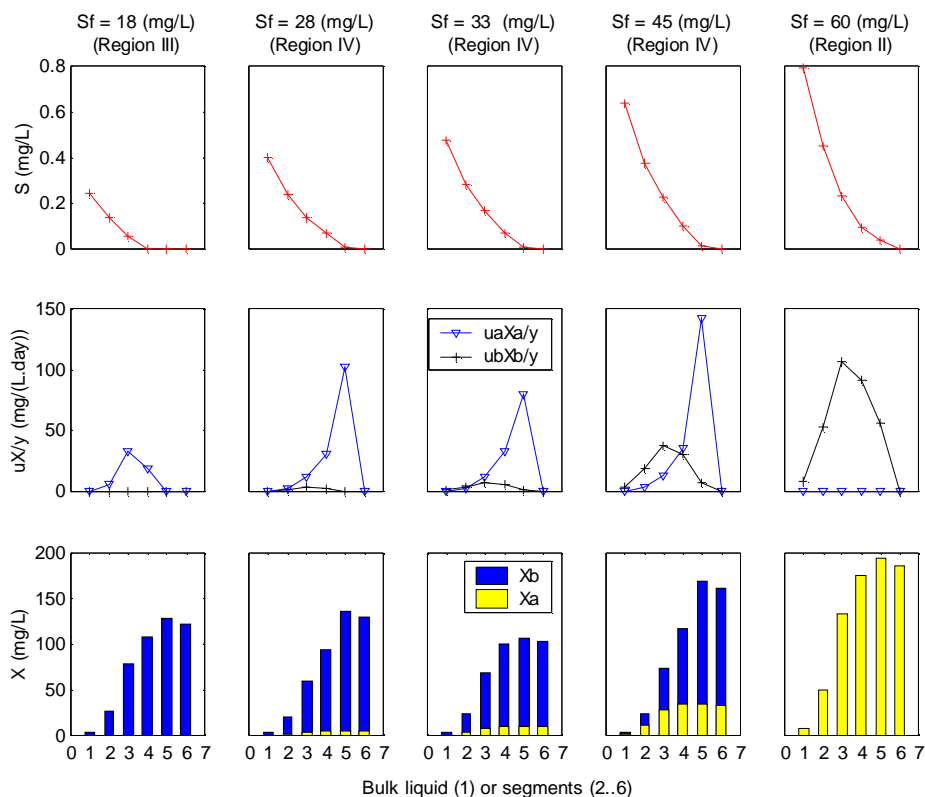
در هر دو حالت غلظت میکروارگانسیمها در بخشهای بیرونی کم است که نشان دهنده تأثیر تنش برشی موجود در توده مایع است که میکروارگانسیمها را از سطح بیوفیلیم جدا می کند و بیشترین غلظت میکروارگانسیمها در لایه های درونی بیوفیلیم قابل مشاهده است ولی در بخش انتهایی (بخش شماره ۶) غلظت میکروارگانسیمها در حالت ۴ کمتر از بخش قبلی است و در حالت ۲ اختلاف زیادی با بخش قبلی ندارد که بر کم شدن و تمام شدن سوبسترا در این بخش از بیوفیلیم دلالت دارد. از آنجاییکه در حالت ۲ غلظت سوبسترا و نرخ ورود آن به راکتور زیاد است غلظت میکروارگانسیم در بخش انتهایی از بخش قبلی کمی بیشتر است ولی در حالت ۴ این غلظت کمتر از بخش ماقبل آخر است که نتیجه کم بودن مقدار سوبسترای ورودی است که نمی تواند به انتهای بیوفیلیم برسد.



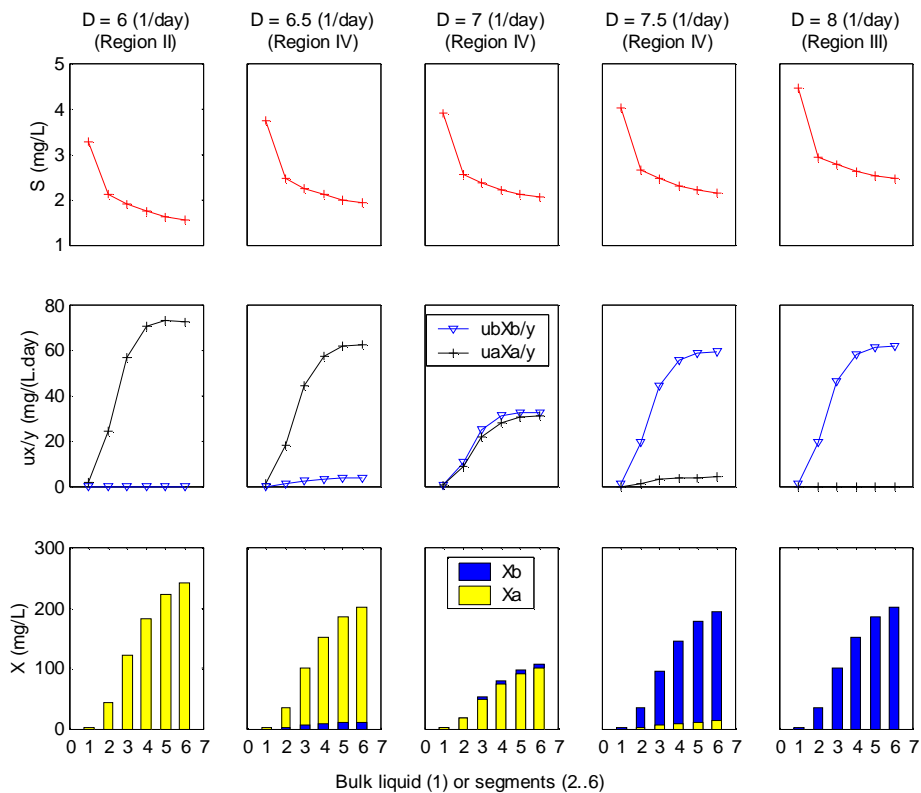
شکل ۵ - تأثیر میزان غلظت ورودی بر غلظت و فعالیت میکروارگانسیمهای A و B در حالت ۲؛ در این شکل و شکل‌های بعد از حرف u به جای μ استفاده شده است.

تأثیر پارامتر D

در شکل ۷ نتایج شبیه سازی با استفاده از مقدار ثابت $S_f = 100 \text{ mg/l}$ و D های متغیر در حالت ۲ نشان داده شده است. همانطور که در قسمت قبل نیز ذکر شد در حالت ۲ میکروارگانیسم A نسبت به سوبسترا حساستر است ولی این حساسیت کمتر از حساسیت میکروارگانیسم B در حالت ۴ می باشد و همانطور که در نمودارهای شکل ۵ قابل مشاهده است میکروارگانیسم A در حالت ۲ می تواند غلظتهای بالاتری نسبت به میکروارگانیسم B در حالت ۴ را تحمل کند. در حالت ۲ در نرخهای رقت کمتر از $6/3 \text{ d}^{-1}$ میکروارگانیسم A به تنهایی حضور دارد و میزان سوبسترا برای میکروارگانیسم B کافی نیست (ناحیه II). در نرخهای رقت میان $6/3$ تا $7/8 \text{ d}^{-1}$ همزیستی مشاهده می شود (ناحیه IV) و از $7/8$ تا 24 d^{-1} فقط میکروارگانیسم B باقی می ماند (ناحیه III) که در نرخهای بالاتر از 24 d^{-1} این میکروارگانیسم هم از راکتور تخلیه می شود. در شکل ۸ هم نتایج شبیه سازی با $S_f = 55 \text{ mg/l}$ و مقادیر D بین $0/5$ تا 3 d^{-1} در حالت ۴ نشان داده شده است. در این حالت در مقادیر کم سوبسترا میکروارگانیسم B سریعتر رشد می کند و در نتیجه در مقادیر کمتر از 1 d^{-1} میکروارگانیسم A در بیوفیلیم مشاهده نمی شود (ناحیه III) و در مقادیر بین 1 تا $2/5 \text{ d}^{-1}$ همزیستی وجود دارد (ناحیه IV).

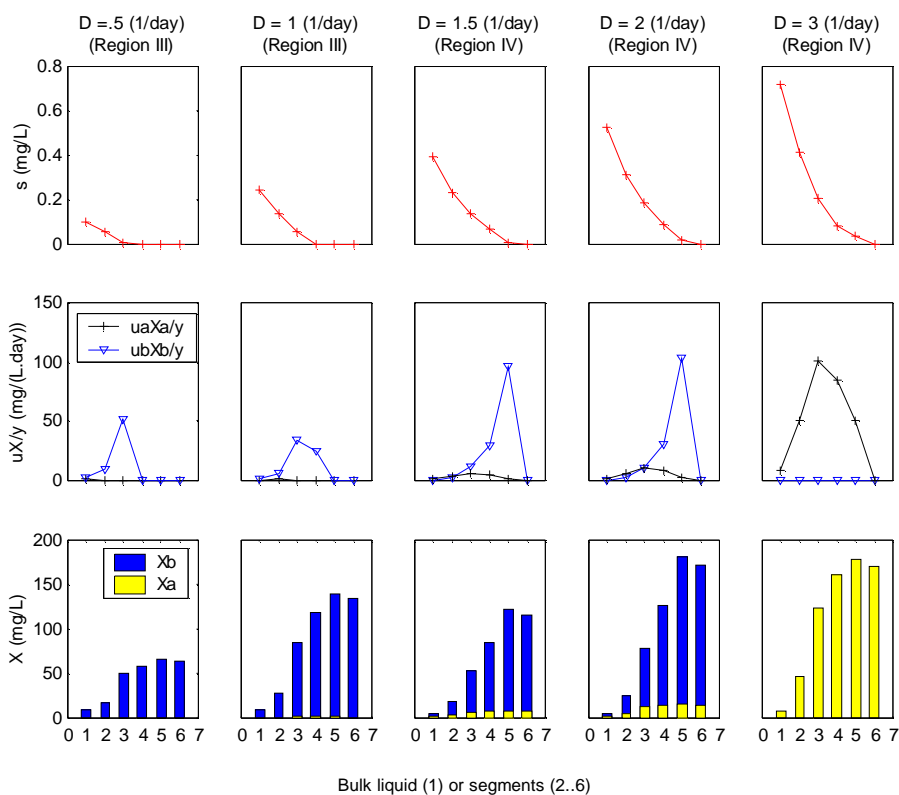


شکل ۶ - تأثیر میزان غلظت ورودی بر غلظت و فعالیت میکروارگانیسمها در حالت ۴.



شکل ۷ - تأثیر پارامتر D بر مقدار و فعالیت میکروارگانیسمها در حالت ۲.

در مقادیر بیشتر از $2/5 \text{ d}^{-1}$ فقط میکروارگانیسم A در بیوفیلیم حضور دارد (ناحیه II) و این میکروارگانیسم هم در مقادیر D بیش از 17 d^{-1} در بیوفیلیم مشاهده نمی شود (ناحیه I). در حالت ۲ افزایش مقدار D نتایج مشابه افزایش مقدار S_f را دارد یعنی در هر دو حالت رفته رفته مجموع غلظت میکروارگانیسمها کاهش می یابد که به دلیل غلظت بالای سوبسترا و بازدارندگی آن می باشد و افزایش مقادیر S_f یا D تأثیر قابل ملاحظه ای بر میزان غلظت میکروارگانیسمها در توده مایع ندارد زیرا در هر دو حالت نرخ رقت بالا است و در نتیجه اجازه نمی دهد که غلظت میکروارگانیسم در این بخش افزایش یابد ولی در حالت ۴ که مقادیر S_f و D کمتر است در شکل ۶ افزایش اندکی در غلظت میکروارگانیسم توده مایع مشاهده می شود در حالی که در شکل ۸ چنین افزایشی دیده نمی شود زیرا افزایش مقدار D با اینکه باعث افزایش مقدار سوبسترا در راکتور می شود ولی در عین حال باعث می شود که میزان خروج میکروارگانیسمها از راکتور در فاز مایع افزایش یابد و در نتیجه افزایش D فقط باعث افزایش مجموع غلظت میکروارگانیسمها در فاز بیوفیلیم می شود.



شکل ۸ - تأثیر میزان نرخ رقت بر غلظت و فعالیت میکروارگانیسمها در حالت ۴.

بحث و نتیجه گیری

۱- در این مدل برای سهولت فرض شده است که ضخامت بیوفیلم طی زمان تغییر نمی کند ولی رشد میکروارگانیسمها توأم با افزایش ضخامت بیوفیلم می باشد و به نظر می رسد که این فرض صحیح نباشد اما معمولاً ضخامت بیوفیلم بعد از مدتی به مقدار ثابتی می رسد و تغییر چندانی ندارد [۵] زیرا رشد میکروارگانیسمها با مرگ آنها و جداشدن آنها از بیوفیلم در اثر تنش برشی جبران می شود و این ضخامت نهایتاً به مقدار ثابتی می رسد و می توان از این مدل برای پیش بینی این حالت پایا استفاده کرد اما چون داده های تجربی کافی در این زمینه موجود نیست نمی توان به سادگی در مورد صحت این مدل یا مدلهای مشابه قضاوت کرد.

۲- در این مدل رقابت دو میکروارگانیسم و تأثیر شرایط عملیاتی مختلف بر ترکیب جمعیتی بیوفیلم مطالعه گردید و مشاهده شد که در شرایط مناسب دو میکروارگانیسم در بیوفیلم تثبیت می شوند. در مواردی که حضور دو میکروارگانیسم مختلف برای تصفیه یک ماده سمی ضروری باشد و یا زمانی که میکروارگانیسم مورد استفاده برای ما با ارزش باشد، استفاده از راکتورهای بیوفیلمی مفید خواهد بود و می توان از چنین مدلی هم برای پیش بینی شرایط مناسب استفاده نمود.

منابع و مراجع

1. Soda, S., Ike, M., and Fujita, M., "Effects of inoculation of a genetically engineered bacterium on performance and indigenous bacteria of a sequencing batch activated sludge process treating phenol," *Journal of Fermentation and Bioengineering*, Vol. 86, pp. 90-96, 1998.
2. Aris, R., and Humphery, A. E., "Dynamics of a chemostat in which two microorganisms compete for a common substrate," *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 19, pp. 1375-1386, 1977.
3. Rittmann, B. E., "Comparative performance of biofilm reactor types," *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 24, pp. 1341-1370, 1982.
4. Rittmann, B. E., and Manem, J. A., "Development and experimental evaluation of a steady-state, multispecies biofilm model," *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 39, pp. 914-922, 1992.
5. Soda, S., Heinzle, E., and Fujita, M., "Modeling and simulation of competition between two microorganisms for a single inhibitory substrate in a biofilm reactor," *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 66, pp. 258-264, 1999.
6. Wanner, O., and Gujer, W., "Competition in biofilms," *Water Science and Technology*, Vol. 17, pp. 27-44, 1984.
7. Wanner, O., and Reichert, P., "Mathematical modeling of mixed-culture biofilms," *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 49, pp. 172-184, 1996.
8. Saez, P. B., and Rittmann, B. E. "Improved pseudoanalytical solution for steady state biofilm kinetics," *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 32, pp. 379-385, 1988.
9. Andrews, J. F., "A mathematical model for the continuous culture of microorganisms utilizing inhibitory substrates," *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 10, pp. 707-723, 1968.
10. Han, K., and Levenspiel, O., "Extended Monod kinetics for substrate, product, and cell inhibition," *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 32, pp. 430-437, 1988.
11. Wanner, O., Cunningham, A. B., and Lundman, R., "Modeling biofilm accumulation and mass transport in a porous medium under high substrate loading," *Biotechnology and Bioengineering* Vol. 47, pp. 703-712, 1995.
12. Wik, T., and Breitholtz, C., "Steady state solution of a two species biofilm problem," *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 50, pp. 675-686, 1996.
13. Rittmann, B. E., and McCarty, P. L., "Evaluation of steady state biofilm kinetics," *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 22, pp. 2359-2373, 1980.
14. McCarty, P. L., Reinhard, M., and Rittmann, B. E., "Trace organics in ground water," *Environmental Science and Technology*, Vol. 15, pp. 40-51, 1981.
15. Zhang, T. C., and Bishop P. L. "Density, porosity, and pore structure of biofilms," *Water Resources Research*, Vol. 28, pp. 2267-2277, 1994.