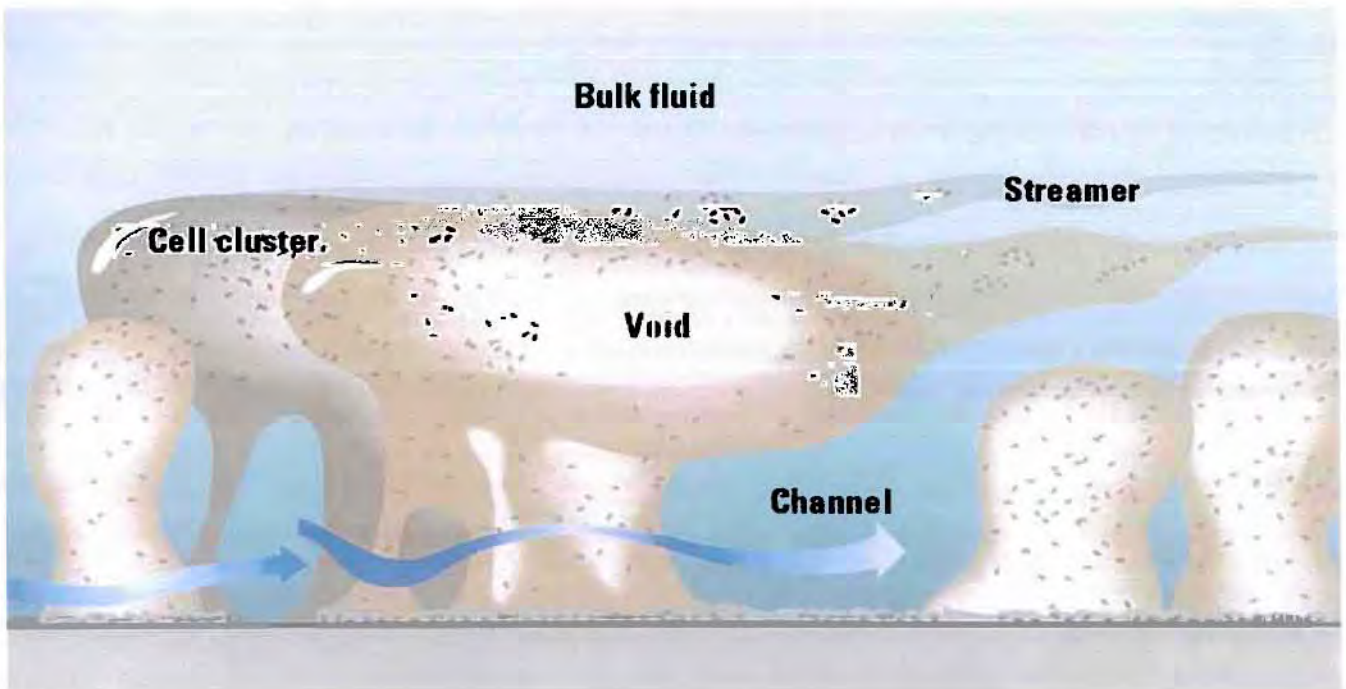




ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΠΟΛΥΤΕΧΝΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΤΜΗΜΑ ΠΟΛΙΤΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ- ΔΟΜΟΣΤΑΤΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Μαθηματικά Μοντέλα Ανάπτυξης Βιοφίλμ: Σύγκριση Μοντέλων βάσει της Προσομοίωσης των Μηχανικών τους Ιδιοτήτων



Εκπόνηση: Κατσανδρής Παναγιώτης

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια: Λασπίδου Χρυσή

ΒΟΛΟΣ

Μάρτιος 2009

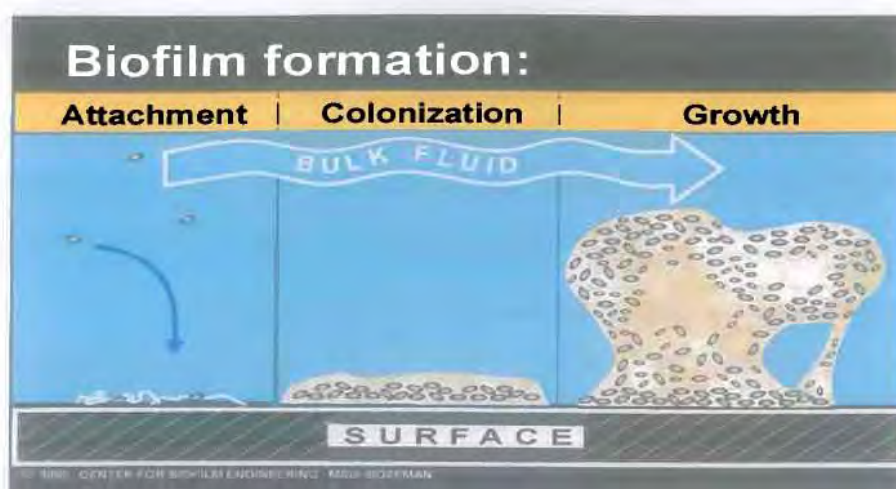
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

Βιοφίλμ: Ανασκόπηση της βιβλιογραφίας – Κίνητρα & στόχοι

1. Εισαγωγή

Τα βιοφίλμ είναι πολύπλοκα και ετερογενή συστήματα που περιέχουν μικροβιακά κύτταρα, κυρίως βακτήρια, διανεμημένα με ανομοιόμορφο τρόπο σε πολυμερή υλικά και αναπτύσσονται προσκολλημένα σε μία σταθερή επιφάνεια. Τα βιοφίλμ, που είναι φυσικά ακινητοποιημένα κύτταρα, τυχάνουν παντού στη φύση και γίνονται όλο και πιο σημαντικά σε τεχνολογίες που χρησιμοποιούνται στον έλεγχο ρύπανσης, όπως βιοφίλτρα, τεχνολογίες επεξεργασίας αποβλήτων προσκολλημένης βιομάζας και αναερόβια φίλτρα. Οι διεργασίες με βιοφίλμ είναι απλές, αποτελεσματικές και σταθερές επειδή η φυσική ακινητοποίηση των κυττάρων επιτρέπει την άριστη κατακράτηση βιομάζας και συσσώρευση χωρίς την ανάγκη χρήσης διάταξης διαχωρισμού στερεών. Στο σχήμα 1 φαίνεται ο τρόπος ανάπτυξης τους:

Τα φυσικά βιοφίλμ μπορεί να είναι ευεργετικά ή καταστροφικά. Σε μικρά ρυάκια και ποτάμια, τα βιοφίλμ οδηγούν στον καθαρισμό του νερού και στη βιοεξυγίανση του υδάτινου περιβάλλοντος. Αυτό επιτυγχάνεται επειδή οι μικροοργανισμοί τρέφονται με τα οργανικά που ρυπαίνουν κι επιβαρύνουν τους φυσικούς αποδέκτες μας, μπορούν και



Σχήμα 1: τρόπος ανάπτυξης βιοφίλμ

κατακρατούν τα στερεά, αναπτύσσονται σε περιβάλλοντα αερόβια ή αναερόβια, οπότε μπορούν να διεξάγουν διαδοχικές αντιδράσεις που χρειάζονται παρουσία και έλλειψη οξυγόνου, όπως για παράδειγμα νιτροποίηση-απονιτροποίηση. Είναι ενδιαφέρον ότι τα δύο είδη οργανισμών (αερόβιοι-αναερόβιοι) μπορούν να συνυπάρχουν και να συμβιώνουν ακόμη και στο ίδιο βιοφίλμ.

1.1. Βιοφίλμ: ευεργετικά και καταστροφικά

Οι βιοστοιβάδες είναι πανταχού παρούσες. Σχεδόν κάθε είδος μικροοργανισμού και όχι μόνο τα βακτηρίδια και τα αρχαία (αρχαιοβακτηρίδια) έχουν μηχανισμούς με τους οποίους μπορούν να προσκολλώνται σε επιφάνειες και μεταξύ τους. Τα βιοφίλμ μπορεί να βρεθούν σε βράχους και βότσαλα στο βυθό ρευμάτων και ποταμών και συχνά στην επιφάνεια λιμναζόντων υδάτων. Αποτελούν σημαντικά συστατικά της διατροφικής αλυσίδας των ποταμών και των ρευμάτων και αποτελούν τροφή των υδρόβιων ασπόνδυλων, με τα οποία τρέφονται πολλά ψάρια. Μπορεί να αναπτυχθούν σε δεξαμενές με όξινο νερό, ακόμα και στους παγετώνες της ανταρκτικής. Τα βιοφίλμ υπάρχουν στα δόντια σχεδόν όλων των ζώων, ενώ μπορεί να τους αποδοθεί ευθύνη για τη σήψη των δοντιών. Επίσης αναπτύσσονται σε καθετήρες και ιατρικά εμφυτεύματα προκαλώντας μολύνσεις. Προβλήματα διάβρωσης σε πλοία είναι σχεδόν πάντοτε συνδεδεμένα με την ανάπτυξη βιοφίλμ πάνω στο πλοίο. Οι ιδανικές συνθήκες στη διεπιφάνεια αυτών των φιλμ για την ανάπτυξη αναερόβιων βακτηρίων υπεύθυνων για τη διάβρωση (sulfate reducing bacteria—SRBs) που προκαλείται από έκλυση θειικού οξέως είναι το υψηλό επίπεδο θρεπτικού υλικού, χωρίς O₂, χαμηλό δυναμικό οξειδοαναγωγής και χαμηλή προστασία από μικροβιακούς παράγοντες.

Στο βιομηχανικό περιβάλλον τα βιοφίλμ μπορεί να αναπτυχθούν στο εσωτερικό σωλήνων διέλευσης νερού και λυμάτων, πράγμα που μπορεί να οδηγήσει σε απόφραξη τους ή σε διάβρωση. Στα πατώματα και σε πάγκους παρασκευής τροφίμων μπορεί να καταστήσουν δυσχερή την αποστείρωσή τους.

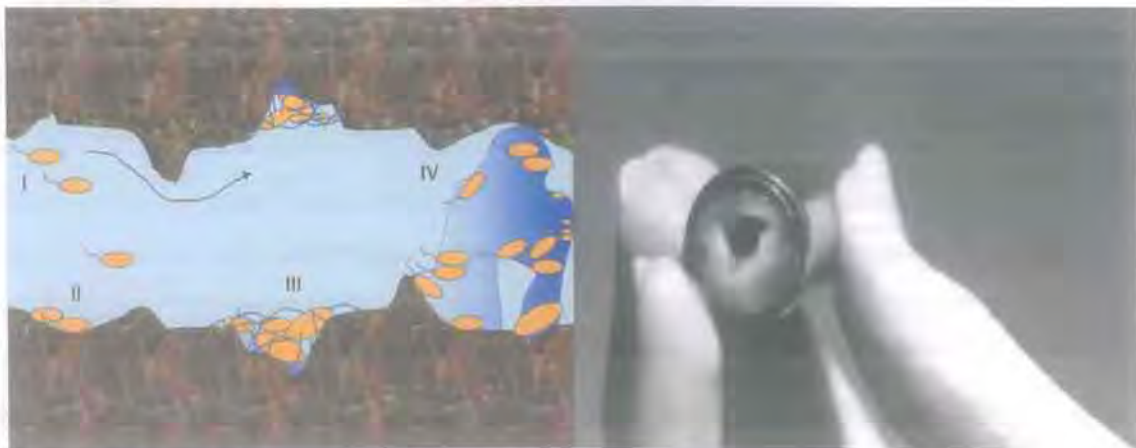
Καταστροφικά βιοφίλμ αναπτύσσονται σε βιομηχανικό εξοπλισμό, ή στη βιομηχανία των τροφίμων, εξαπλώνοντας παθογόνους μικροοργανισμούς που προσβάλλουν τους ανθρώπους.

Μερικά προβλήματα που δημιουργεί η παρουσία βιοφίλμ είναι:

- Το βιολογικό «βούλωμα» (biofouling) (Σχήμα 2): Οι διεργασίες μεμβρανών που χρησιμοποιούνται στην αφαλάτωση νερού και στην επεξεργασία υγρών αποβλήτων συχνά επηρεάζονται από το βιολογικό "βούλωμα" (biofouling) της μεμβράνης και συνεπώς την υποβάθμιση της ποιότητας της μεμβράνης και τη χρήσιμη ζωή της. Αυτό συμβαίνει λόγω του σχηματισμού βιοφίλμ στην επιφάνεια, καθιστώντας τα βιοφίλμ πολύ σημαντικά σε αυτή τη διεργασία και κάνοντας έτσι την προσομοίωση της ανάπτυξής τους πολύ σημαντική.
- Δυσκολία στη μεταφορά θερμότητας, όταν αναπτύσσονται σε σωληνώσεις εναλλακτών θερμότητας.
- Αύξηση της διάβρωσης, οφειλόμενη στην παρουσία και τη δραστηριότητα βακτηρίων που αναπτύσσονται στα βιοφίλμ σε επιφάνειες που έρχονται σε επαφή με νερό, όπως σε πλοία για παράδειγμα.
- Προβλήματα υγείας που προκύπτουν από την ανάπτυξη βιοφίλμ σε ιατρικά εμφυτεύματα, όπως βαλβίδες καρδιάς, ή προσθετικές διατάξεις.

Ο Πίνακας 1 παρουσιάζει μία λίστα διαφόρων προβλημάτων που πιθανόν να αντιμετωπίζονται στη βιομηχανία λόγω της ανάπτυξης βιοφίλμ.

Στα πλαίσια της βιοτεχνολογίας μπορεί να επιτευχθεί εσκεμμένη ανάπτυξη συγκεκριμένου βιοφίλμ αποτελεσματικού σε κάποια διεργασία και μπορεί να εξυπηρετήσει σε πολλούς τομείς, όπως π.χ. στον καθαρισμό του νερού ή στην επεξεργασία υγρών αποβλήτων. Για παράδειγμα, πολλές εγκαταστάσεις επεξεργασίας βοθρολυμάτων περιλαμβάνουν σε κάποιο στάδιο της λειτουργίας τους τη διέλευση του απόβλητου νερού μέσα από βιομεμβράνες, που αναπτύσσονται μέσα σε φίλτρα, τα οποία αποστάζουν και πέπτουν οργανικές ενώσεις. Σε αυτές τις βιοστοιβάδες τα βακτηρίδια



Σχήμα 2: Το βιολογικό "βούλωμα"

Πίνακας 1. Παραδείγματα βιομηχανικών προβλημάτων λόγω σχηματισμού βιοφίλμ.

Βιομηχανία	Πρόβλημα
Μεταφορά υγρών (γενικά)	Απόφραξη σωλήνων
Δίκτυο διανομής νερού	Μείωση ταχύτητας ροής λόγω μείωσης εσωτερικής διατομής σωλήνων Μείωση ταχύτητας νερού
Παρασκευή χαρτιού	Μη αναμενόμενη μικροβιολογική φόρτιση Χαμηλή ποιότητα
Παρασκευή άλευρων/ζάχαρης	Εμπλοκές στη διαδικασία
Ύφαλα πλοίων	Αύξηση κατανάλωσης καυσίμων λόγω αντίστασης
Μεταλλικές κατασκευές	Επιτάχυνση διάβρωσης
Λειτουργίες θέρμανσης/ψύξης	Μειωμένη αποτελεσματικότητα λόγω μειωμένης κινητικότητας των κλιματιστικών υγρών
Παραγωγή τροφίμων	Επιβίωση μικροοργανισμών, πιθανόν και παθογόνων
Εκτυπώσεις	Απόφραξη σωλήνων μελάνης Αλλοίωση ποιότητας

είναι κυρίως υπεύθυνα για την απομάκρυνση οργανικών υλικών, ενώ τα πρωτόζωα και τροχόζωα (*rotifers*) είναι κυρίως υπεύθυνα για την απομάκρυνση αιωρούμενων στερεών, περιλαμβανομένων παθογόνων και άλλων μικροοργανισμών. Τα φίλτρα καθαρισμού πόσιμου νερού βραδείας άμμου (*Slow sand filters*) λειτουργούν με τη δημιουργία βιοστοιβάδων με παρόμοιο τρόπο. Στο σχήμα 3 φαίνεται μια διάταξη που χρησιμοποιείται για την ανάπτυξη βιοφίλμ για ερευνητικούς σκοπούς. Ο Πίνακας 2 παρουσιάζει μία λίστα διαφόρων ευεργετικών ιδιοτήτων των βιοφίλμ και τρόποι αξιοποίησής τους στην επεξεργασία υδάτων.



Σχήμα 3: Ελεγχόμενη ανάπτυξη βιοφίλμ για ερευνητικούς σκοπούς

Πίνακας 2. Διαδικασίες αξιοποίησης της ανάπτυξης βιοφίλμ.

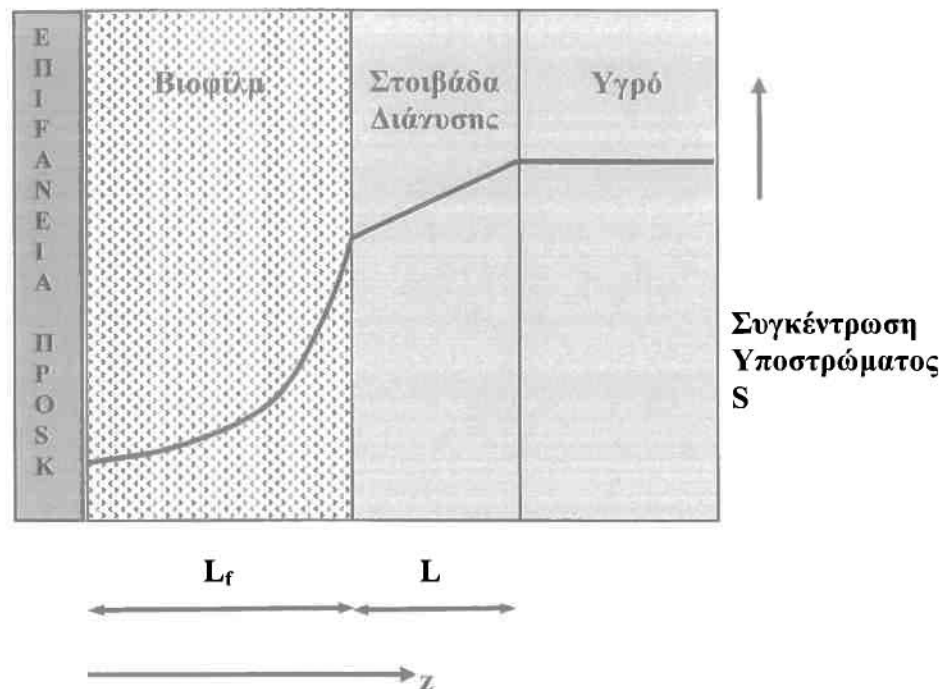
Διαδικασία	Παράδειγμα αξιοποίησης
Εξυγίανση νερού	Αργό φιλτράρισμα με άμμο
Εξυγίανση αποβλήτων	Βιολογικά φιλτράρισμα (percolating filters)
Εξυγίανση αγροτικών αποβλήτων	Βιολογικά φιλτράρισμα (flocor tower)
Εξυγίανση βιομηχανικών αποβλήτων	Βιοαντιδραστήρες
Απομάκρυνση βαρέων μετάλλων	Αποκομιδή αποβλήτων υδραργύρου
Ανάκτηση μετάλλων από χαμηλής ποιότητας μέταλλευμα	Έκλυση μετάλλου λόγω μικροβιακής δράσης

1.2. Ανάπτυξη του Βιοφίλμ

Το κύριο χαρακτηριστικό του βιοφίλμ είναι ότι για να αναπτυχθεί χρειάζεται μεταφορά υλικού από το υποστρωματικό υγρό, μέσω της διάχυσης, σε όλο το σώμα του βιοφίλμ. Η συγκέντρωση του υποστρώματος δεν είναι σταθερή σε όλο το πάχος του, αλλά είναι η μέγιστη στο επάνω μέρος του. Τα βακτήρια που είναι πιο κοντά στη διεπιφάνεια απολαμβάνουν μεγαλύτερων συγκεντρώσεων, ενώ όσο μικραίνει η απόσταση από την επιφάνεια προσκόλλησης, η περιεκτικότητα τείνει στο μηδέν. Τα βακτήρια που βρίσκονται σε μηδενική συγκέντρωση υποστρώματος δεν μπορούν να είναι ενεργά στη χρήση του. Συνεπώς, το να αυξήσουμε το πάχος του βιοφίλμ, δεν συνεπάγεται μεγαλύτερη κατανάλωση υποστρώματος (τροφής). Η συγκέντρωση του υποστρώματος αλλάζει ανάλογα με τη θέση στο βιοφίλμ, συνεπώς, όποια αντίδραση βασίζεται στην κατανάλωση υποστρώματος, διαφέρει από περιοχή σε περιοχή.

Εξαιτίας της ανάγκης μεταφοράς υλικού από τον κύριο όγκο του υγρού στο στρώμα διάχυσης, και από εκεί στη βιοστοιβάδα, συχνά δημιουργούμε ένα γράφημα υποστρώματος-συγκέντρωσης. Το σχήμα 4 δείχνει τη μεταβολή της συγκέντρωσης υποστρώματος σε ένα ιδανικό μονοδιάστατο βιοφίλμ, όπου το στρώμα διάχυσης αντιπροσωπεύει την αντίσταση στη μεταφοράς εξωτερικής μάζας, και η μόνη μεταφοράς μάζας κάθετα στο βιοφίλμ είναι η μοριακή διάχυση.

Το πιο σημαντικό αποτέλεσμα της αντίστασης στη μεταφοράς μάζας είναι ότι η συγκέντρωση υποστρώματος δεν παραμένει σταθερή μέσα στη βιοστοιβάδα. Σαν



Σχήμα 4: Μεταβολή συγκέντρωσης υποστρώματος κατά ύψος

αποτέλεσμα, η συγκέντρωση υποστρώματος όπου βρίσκεται το κάθε βακτήριο του βιοφίλμ είναι συνήθως χαμηλότερη από ότι στον κύριο όγκο του υγρού. Τα βακτήρια που βρίσκονται κοντύτερα στην επιφάνεια προσκολλησέως, αντιμετωπίζουν χαμηλότερες συγκεντρώσεις υποστρώματος από ότι αυτά που βρίσκονται κοντά στην επιφάνεια επαφής με το υγρό. Ακόμη, στην ειδική περίπτωση που το βιοφίλμ είναι αρκετά βαθύ, η συγκέντρωση υποστρώματος πλησιάζει το μηδέν κοντά στην επιφάνεια προσκολλησέως. Η βιομάζα που βρίσκεται σε αυτά τα σημεία δεν μπορεί να είναι ενεργή στη χρήση υποστρώματος.

Λόγω του ότι οι συγκεντρώσεις αλλάζουν ανάλογα με την περιοχή στο βιοφίλμ, οι ρυθμοί όποιας αντίδρασης βασίζεται στην κατανάλωση υποστρώματος, διαφέρει αναλόγως. Ακόμη, γραφήματα μπορούν να κατασκευαστούν για τις ουσίες που παράγονται και καταναλώνονται μέσα στο βιοφίλμ. Παραδείγματα ουσιών που η συγκέντρωσή τους μπορεί να μεταβάλλεται στο βιοφίλμ περιλαμβάνουν διάφορους τύπους ενεργών βακτηρίων και πολυμερικά υλικά που ελέγχουν τη δομή και τις μηχανικές ιδιότητες του βιοφίλμ.

Αν όμως τα βακτήρια σχηματίζοντας βιοφίλμ αντιμετωπίζουν ένα μειονέκτημα όσον αφορά τη συγκέντρωση του υποστρώματος, δηλαδή την ποσότητα τροφής τους, γιατί τα σχηματίζουν;

Οι Rittman and McCarty (2001) δίνουν μερικές εξηγήσεις, οι οποίες δείχνουν ρεαλιστικές: για παράδειγμα, εφόσον τα βακτήρια προσκολληθούν στο βιοφίλμ, με τη ροή του νερού, εκτίθενται συνεχώς σε φρέσκο υπόστρωμα. Έτσι, οι μικροοργανισμοί που βρίσκονται τα επάνω στρώματα του βιοφίλμ είναι κοντύτερα στην πηγή του υποστρώματος, οπότε βρίσκονται σε περιοχή μεγαλύτερης συγκέντρωσης. Από την άλλη, οι μικροοργανισμοί που βρίσκονται χαμηλά στο βιοφίλμ, δηλαδή κοντά στη σταθερή επιφάνεια προστατεύονται από φυσικούς κυνηγούς και τοξικές ουσίες, αλλά και δεν υφίστανται δυνάμεις αποκόλλησης από το υγρό που το περιβάλλει. Ακόμα, η διαφορετική συγκέντρωση υποστρώματος στη στήλη του βιοφίλμ προάγει τη δημιουργία διαφορετικών συνθηκών και επιτρέπει την ανάπτυξη και συμβίωση διαφορετικών ειδών οργανισμών. Για παράδειγμα, είναι δυνατό σε ένα «βαθύ» βιοφίλμ να έχουμε πλήρη έλλειψη οξυγόνου στο κάτω μέρος του (αναερόβιες συνθήκες και ανάπτυξη αναερόβιων οργανισμών), μικρές ποσότητες οξυγόνου στη μέση της στήλης βιοφίλμ (ανοξικές συνθήκες και ανάπτυξη επαμφοτεριζόντων οργανισμών) και πλήρως αερόβιες συνθήκες στο επάνω μέρος του που έρχεται σε επαφή με φρέσκο υπόστρωμα (αερόβιες συνθήκες και ανάπτυξη αερόβιων οργανισμών). Τέτοια συμβίωση μικροοργανισμών μπορεί να αποδειχθεί πολύ ευεργετική, μια και επιτρέπει σε μικρό χώρο τη διεξαγωγή αντιδράσεων που θα απαιτούσαν πολύπλοκες διατάξεις για να επιτευχθούν οι απαιτούμενες διαφορετικές συνθήκες, καθώς και την πιθανή ωφέλιμη ανταλλαγή ενζύμων μεταξύ των διαφορετικών πληθυσμών.

Άρα, τα πλεονεκτήματα που προσφέρει στα βακτήρια ο σχηματισμός βιοφίλμ συνοψίζονται ως εξής:

- (1) Προστασία από αποκόλληση από σημεία με υψηλές συγκεντρώσεις υποστρώματος
- (2) Προστασία από φυσικούς κυνηγούς
- (3) Προστασία από τοξικές ουσίες
- (4) Εδραίωση ωφέλιμων κοινωνιών

Η έρευνα πάνω στα βιοφίλμ έχει ως στόχο την απόκτηση γνώσης και τη μεγιστοποίηση του ελέγχου που μπορούμε να έχουμε επάνω τους. Ο έλεγχος αυτός γίνεται ολοένα και πιο απαραίτητος, καθώς το φάσμα εφαρμογής των βιοφίλμ γίνεται συνεχώς ευρύτερο, από την παρεμπόδιση λειτουργίας βιομηχανικού εξοπλισμού, έως τη χρήση τους σε συγκεκριμένες εφαρμογές, όπως τη διαχείριση αποβλήτων ή των υδάτων. Προκειμένου να κατανοήσουμε πλήρως τη δυναμική των βιοφίλμ, πρέπει να εμβαθύνουμε στις βασικές διαδικασίες σχηματισμού και ανάπτυξής τους. Μεταξύ

άλλων, αυτό προϋποθέτει την κατανόηση των χαρακτηριστικών των διαδικασιών μεταφοράς μάζας στα βιοφίλμ, που είναι σημαντικά διαφορετικές από ότι στα βακτηριακά κύτταρα. Για παράδειγμα, στα βιοφίλμ, η ροή υγρών είναι μειωμένη, και οι αποστάσεις διάχυσης είναι συχνά τόσο μεγάλες, ώστε να προκαλούν σημαντική μείωση στην περιεκτικότητα των ουσιών. Έτσι, χρειάζεται γνώση του μικροπεριβάλλοντος του, ώστε να εξηγηθεί η συμπεριφορά του, και ο τρόπος κίνησης των κυττάρων του.

1.3. Παράμετροι ανάπτυξης βιοφίλμ

Η ανάπτυξη του βιοφίλμ εξαρτάται από διάφορες φυσικές, χημικές και μικροβιολογικές παραμέτρους:

1.3.1. Επίδραση της θερμοκρασίας.

Η θερμοκρασία επιδρά σημαντικά (όπως άλλωστε και σε όλες τις χημικές αντιδράσεις) στην ανάπτυξη και στο θάνατο των μικροβιακών πληθυσμών στο βιοφίλμ. Όλοι οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται σε ένα συγκεκριμένο εύρος θερμοκρασιών, έξω από το οποίο ο ρυθμός μεταβολισμού καταστέλλεται και οδηγεί στον θάνατο των κυττάρων.

Υπάρχουν τρεις ζώνες θερμοκρασιών για τον διαχωρισμό των μικροβιακών αναπτύξεων, στις οποίες μπορούν να μελετηθούν διαφορετικοί ρυθμοί ανάπτυξης:

- psychrophyles : κάτω από 20°C
- mesophyles : 20-45°C
- thermophyles : πάνω από 45°C

Κάθε είδος βιοφίλμ αναπτύσσεται σε συγκεκριμένο εύρος θερμοκρασιών, που πρέπει να είναι διαθέσιμο στην επιφάνεια που θα αναπτυχθεί.

1.3.2. Ρυθμός ροής του ρευστού.

Οι επιδράσεις της ταχύτητας του ρευστού στην ανάπτυξη του βιοφίλμ εμφανίζονται εκ πρώτης όψεως να είναι αμφιλεγόμενες. Μία αύξηση στο ρυθμό ροής προκαλεί αύξηση στο πάχος του, αυξημένες όμως ροές μπορεί να προκαλέσουν αύξηση στις δυνάμεις αποκόλλησης, μειώνοντας τη μικροβιακή προσκόλληση και

απομακρύνοντας κομμάτια του. Έτσι, το πάχος του βιοφίλμ καθορίζεται από τη σχετική δύναμη της αύξησης της διέγερσης και από τις δυνάμεις διάσπασης και αφαίρεσης.

Μια ελάττωση της ταχύτητας μπορεί να διευκολύνει την προσκόλληση του φιλμ και να ελαττώσει τις δυνάμεις διάσπασης, παρόλο που χαμηλότερες ταχύτητες μπορεί να αυξήσουν το μήκος της συνοριακής στρώσης (boundary layer) παρακείμενης στο βιοφίλμ, οδηγώντας σε αυξημένη αντίσταση στη διάχυση των θρεπτικών υλικών και του οξυγόνου στα μικροβιακά κύτταρα μέσα στο βιοφίλμ και σε μια μεγαλύτερη δυσκολία στη διάχυση των απορριπτόμενων υλικών προς το ρεύμα του νερού. Οι διαφορές γίνονται εντονότερες όταν ληφθεί υπόψη το επίπεδο διαταραχής.

1.3.3. Διαθεσιμότητα θρεπτικών ουσιών.

Μια συγκέντρωση θρεπτικού υλικού της τάξης του 1 ppm μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία ενός ουσιαστικού βιοφίλμ και τέτοια επίπεδα χαμηλού θρεπτικού υλικού τείνουν στην ανάπτυξη πυκνών, λεπτών και συνεκτικών βιοφίλμ. Μια αύξηση στη διαθεσιμότητα θρεπτικού υλικού (οφειλόμενη στην ποιότητα του αέρα, του νερού, σε τυχόν διαρροές της διεργασίας) οδηγεί στην ανάπτυξη του βιοφίλμ, παράγοντας ογκώδη μανιταροειδή κομμάτια τα οποία όμως μπορούν εύκολα να αποκοπούν.

1.3.4. Επιφάνεια υλικού - Τραχύτητα.

Μελέτες που χρησιμοποιούν ένα μεγάλο εύρος υλικών (που περιλαμβάνει μέταλλα όπως αλουμίνιο, χαλκό, σίδηρο και μη μεταλλικά υλικά, όπως το πλαστικό και ξύλο), με ποικίλες επιφάνειες επεξεργασίας, απέδειξαν ότι τα χαρακτηριστικά της επιφάνειας παίζουν σημαντικό ρόλο στην αρχική προσκόλληση των μικροοργανισμών.

Η επίδραση της τραχύτητας (roughness) της επιφάνειας μπορεί να έχει δύο πτυχές. Η τραχύτητα μπορεί να αυξήσει τη διαταραχή και είναι πιθανό να επηρεάσει τις δυνάμεις αποκόλλησης (διαχωρισμού) και τη διάχυση θρεπτικού υλικού. Η παρουσία μιας τραχείας επιφάνειας μπορεί επίσης να προάγει τη συνοχή των μικρο-αποικιών, παρέχοντας θέσεις λιγότερο επηρεαζόμενες από τη ροή.

Πρέπει παρόλα αυτά να σημειωθεί ότι, από τη στιγμή που έχει δημιουργηθεί το βιοφίλμ, ο αρχικός παράγοντας τραχύτητα, θα τροποποιηθεί. Το αποτέλεσμα είναι μία περίπλοκη αλληλεπίδραση ανάμεσα στην αρχική τοπογραφία της επιφάνειας, στους ρυθμούς ανάπτυξης σε διαφορετικές περιοχές και στη τραχύτητα του εξωτερικού περιβλήματος του βιοφίλμ.

Καθώς το βιοφίλμ παχαίνει, η επίδραση της αρχικής επιφάνειας γίνεται όλο και μικρότερη και η τοπογραφία του εξωτερικού περιβλήματος του γίνεται περισσότερο σημαντική. Θα γίνει περισσότερο εύκαμπτο και ικανό να παραμορφωθεί κάτω από την επίδραση της κυρίως υγρής φάσης και η κίνηση της επιφάνειας του θα έχει μία άμεση συμπεριφορά στη σταθερότητα του και στη διάχυση προς την και από την βιομάζα, προσθέτοντας επιπλέον παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη του πάχους του.

1.3.5. pH

Ένα προσεγγιστικά ουδέτερο pH είναι ιδανικό για την ανάπτυξη των περισσότερων βιοφίλμ, παρόλο που, αφού δημιουργηθεί, μπορεί να επιζήσει και σε πιο ακραίες τιμές pH. Κάτω από πειραματικές συνθήκες προσομοίωσης της ανάπτυξης των βιοφίλμ σε προσομοιωμένες επιφάνειες μεταφοράς θερμότητας (τραχειές και λείες), σε ένα εν λειτουργία σύστημα νερού που έχει ιστορία slime, το μέγιστο δημιουργούμενο πάχος του slime ήταν σε pH 7. Αυτό βέβαια προέρχεται από πληροφορίες της βιβλιογραφίας. Στην πράξη, στα βιομηχανικά συστήματα έχουμε παρατηρήσει ότι η δύσκολη περιοχή για την αντιμετώπιση των βιοφίλμ είναι το pH 8,6 - 8,9. Στις τιμές κάτω από 8,6, τα συνήθη μέτρα αντιμικροβιακής προστασίας είναι αρκετά δραστικά, ώστε, αν εφαρμοσθούν σωστά, το βιοφίλμ να μην δημιουργείται. Άπαξ όμως και δημιουργηθεί, αντιμετωπίζεται πλέον πολύ δύσκολα.

Στις τιμές pH 8.6 - 9, εκτός από κάποιες νέες τεχνολογίες, δεν έχουμε κανένα μέσο άμυνας στην δημιουργία του βιοφίλμ. Έτσι, ενώ οι συνθήκες δημιουργίας του δεν είναι 100 % ιδανικές, το βιοφίλμ αναπτύσσεται ανεξέλεγκτα και αποτελεί πραγματική μάστιγα.

Σε τιμές pH πάνω από 9 δεν έχουμε διαπιστώσει μέχρι σήμερα σε καμία περίπτωση εμφάνιση βιοφίλμ. Ίσως το υψηλά αλκαλικό pH κροκκιδώνει τα πολυσακχαρίδια και δεν επιτρέπει την δημιουργία τους. Στις τιμές αυτές επίσης πιθανώς δεν επιβιώνουν βιολογικά είδη, απαραίτητα για την συνεργατική δημιουργία της αποικίας. Δεν πρέπει να ξεχνάμε όμως ότι, η δημιουργία των βιοφίλμ είναι προϊόν μετάλλαξης φυσικών ειδών, που αποτελεί την άμυνα των μικροοργανισμών στα πολύ εξελιγμένα μικροβιοκτόνα και αντιβιοτικά που δημιούργησε ο άνθρωπος.

1.3.6. Συγκέντρωση ανόργανων συστατικών

Τα ανόργανα συστατικά (προϊόντα απόθεσης και διάβρωσης) βοηθούν κατά πάσα πιθανότητα στη διάβρωση των βιοφίλμ, αλλά μπορεί επίσης να εγκλωβισθούν στη μήτρα

και να δημιουργήσουν επιπρόσθετο όγκο και θέσεις προσκόλλησης για την ανάπτυξη βακτηριδίων.

1.3.7. Συγκεντρώσεις O₂

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης του διαλυμένου O₂ μέσα στο βιοφίλμ σε συστήματα εν λειτουργία, αποδεικνύει ταχύτερη μείωση της ποσότητας του O₂ που είναι διαθέσιμο στους μικροοργανισμούς στο κατώτερο επίπεδο του βιοφίλμ και έχει αποδειχθεί ότι μπορούν να αναπτυχθούν αναερόβιες συνθήκες στη διεπιφάνεια βιοφίλμ – επιφάνειας, όταν το βιοφίλμ είναι αρκετά βαθύ.

1.4. Δομή των Βιοφίλμ

Η δομή του βιοφίλμ προσδιορίζεται από τον τρισδιάστατο χώρο που καταλαμβάνουν οι βιοτικές κ αβιοτικές ουσίες που το αποτελούν. Η δομή αυτή παίζει καθοριστικό ρόλο στη διατήρηση της δραστηριότητας του βιοφίλμ. Έρευνες, πειραματικές και θεωρητικές, έχουν δείξει ότι το σχήμα της επιφάνειας του βιοφίλμ, δηλαδή η διεπιφάνεια από όπου μεταφέρεται μάζα ανάμεσα στο βιοφίλμ και στο περιβάλλον, επηρεάζει σημαντικά τη λειτουργία του.

Τα κύρια συστατικά που συνιστούν μια βιοστοιβάδα είναι:

- Τα μικροβιακά κύτταρα
- Το στρώμα του εξωκυττάριου πολυμερούς (γλυκοκάλυκας ή EPS)
- Επιφάνεια προσκόλλησης

Γενικά, το 15% του όγκου του βιοφίλμ αποτελείται από τα κύτταρα των βακτηρίων και το 85% από το γλυκοκάλυκα. Επειδή ο γλυκοκάλυκας συγκρατεί μεγάλη ποσότητα νερού, η επιφάνεια που καλύπτεται από βιοφίλμ είναι ζελατινώδης και γλιστερή.

1.4.1. Μικροβιακά κύτταρα

Τα μικροβιακά κύτταρα είναι φυσικά απαραίτητο συστατικό του βιοφίλμ, οι οποίοι σε κατάλληλες συνθήκες μπορούν να προσκολληθούν σε επιφάνειες και να δομήσουν βιοφίλμ. Ορισμένα είδη παρουσιάζουν εντονότερη τάση δημιουργίας βιοφίλμ

από αλλά. Επίσης κάποια από τα είδη αυτά αποτελούν μέρος της φυσικής μικροβιακής χλωρίδας του ανθρώπου.

1.4.2. Εξωκυτταρικά πολυμερή (Extracellular Polymeric Substances—EPS)

Το στρώμα του γλυκοκάλυκα αποτελείται από:

- Πολυσακχαρίτες που παράγουν τα ίδια τα βακτήρια
- Εξωγενείς ουσίες, που ποικίλουν ανάλογα με το περιβάλλον όπου αναπτύσσεται το βιοφίλμ
- Προϊόντα μεταβολισμού των βακτηρίων και νερό σε ποσοστό 95-97%

Έτσι οι ιδιότητες του εξωκυτταρικού πολυμερούς διαφέρουν ανάλογα με την σύνθεση, το στάδιο ωρίμανσης του βιοφίλμ και το περιβάλλον.

1.4.3. Επιφάνεια προσκόλλησης

Η επιφάνεια προσκόλλησης μπορεί να είναι έμβια, όπως π.χ. κάποιος ιστός, ή κάποιο αδρανές υλικό, π.χ. σωληνώσεις, καθετήρες κ.α..

Η μελέτη με τη βοήθεια της μικροσκοπίας συνεστίασης έδειξε ότι η βασική δομική μονάδα του βιοφίλμ είναι οι μικροαποικίες μικροβίων, δομές σαν μανιτάρι ή σαν πυραμίδα. Ανάμεσα τους δημιουργούνται κανάλια, μέσα στα οποία ρέει υγρό μεταφέροντας θρεπτικά συστατικά, οξυγόνο, και ανόργανες ουσίες.

Η δομή του βιοφίλμ είναι σχετικά απλή όταν αναπτύσσεται στα βιοϊατρικά πρόσθετα υλικά, ενώ γίνεται ιδιαίτερα πολύπλοκη όταν αναπτύσσεται στο περιβάλλον. Κατα την ωρίμανση του βιοφίλμ παρατηρείται συνεχής αλλαγή της δομής του. Έτσι συσσωρεύονται μη μικροβιακά συστατικά από το περιβάλλον (σωματίδια διάβρωσης, αργίλου), και όσο η δομή πυκνώνει δημιουργείται ιδανικό περιβάλλον για ανάπτυξη κυτταρικής επικοινωνίας και ανταλλαγής γονιδίων.

Το μέγεθος των βιοφίλμ κυμαίνεται από μερικά μμ έως μακροσκοπικές διαστάσεις, ανάλογα με τις ιδιότητες του εκάστοτε περιβάλλοντος.

Η λειτουργία του βιοφίλμ, επηρεάζει τη δομή του. Παράγοντες όπως η παραγωγή βιομάζας και EPS (εξωκυτταρικές πολυμερείς ουσίες), καθορίζουν την ανάπτυξη του βιοφίλμ.

Επιπλέον, εξωτερικοί παράγοντες που προκαλούν αποκόλληση μάζας, τους τέμνουσες δυνάμεις κ τους μηχανικές τάσεις, επηρεάζουν σημαντικά τη διαμόρφωση του σχήματος του βιοφίλμ. Η κατανόηση τους περίπλοκης σχέσης ανάμεσα στη δομή και τη λειτουργία του βιοφίλμ είναι σημαντική για τον έλεγχο τους, σε βιομηχανικές και ιατρικές εφαρμογές.

Η γενική άποψη της δομής των βιοφίλμ έχει αλλάξει δραματικά την τελευταία δεκαετία. Για πολλά χρόνια η επικρατούσα αντίληψη της δομής τους αναπαρίστατο με μονοδιάστατα μοντέλα (π.χ., Kissel et al., 1984, Wanner και Gujer, 1986, Rittmann and Manem, 1992, Furumai and Rittmann, 1994). Σε ένα μονοδιάστατο βιοφίλμ, η δομή του παρουσιάζεται διαστρωματωμένη πάνω σε μια επιφάνεια προσκολλησεως. Θεωρείται ομογενές στη παράλληλη με την επιφάνεια διεύθυνση, αν και είναι διαπερατό στην κάθετη διεύθυνση.

Η ετερογένεια του βιοφίλμ που μόλις πρόσφατα ανακαλύφθηκε, ώθησε τους ερευνητές να αναθεωρήσουν τις υποθέσεις τους. Για παράδειγμα, η προηγουμένως υποτιθεμενη κοινή πυκνότητα σε όλη τη δομή του βιοφίλμ, προφανώς απέχουν από την πραγματικότητα όταν έρευνες όπως αυτές των Zhang & Bishop (1994) και Bishop et al. (1995) προσφέρουν πειραματικές αποδείξεις ότι υπάρχουν διαφορές στην πυκνότητα, το πορώδες, και ότι κενά μπορούν να προκύψουν στη δομή της βιοστοιβάδας. Το ότι η πυκνότητα του βιοφίλμ καθορίζει πολλές μεταβλητές, όπως αυτή της χρήσης υποστρώματος, ανάπτυξης βιομάζας, και αποκόλλησης, δημιουργεί μια ανάγκης εξεύρεσης νέων τρόπων χαρακτηρισμού και ποσοτικοποίησης της πυκνότητας του βιοφίλμ.

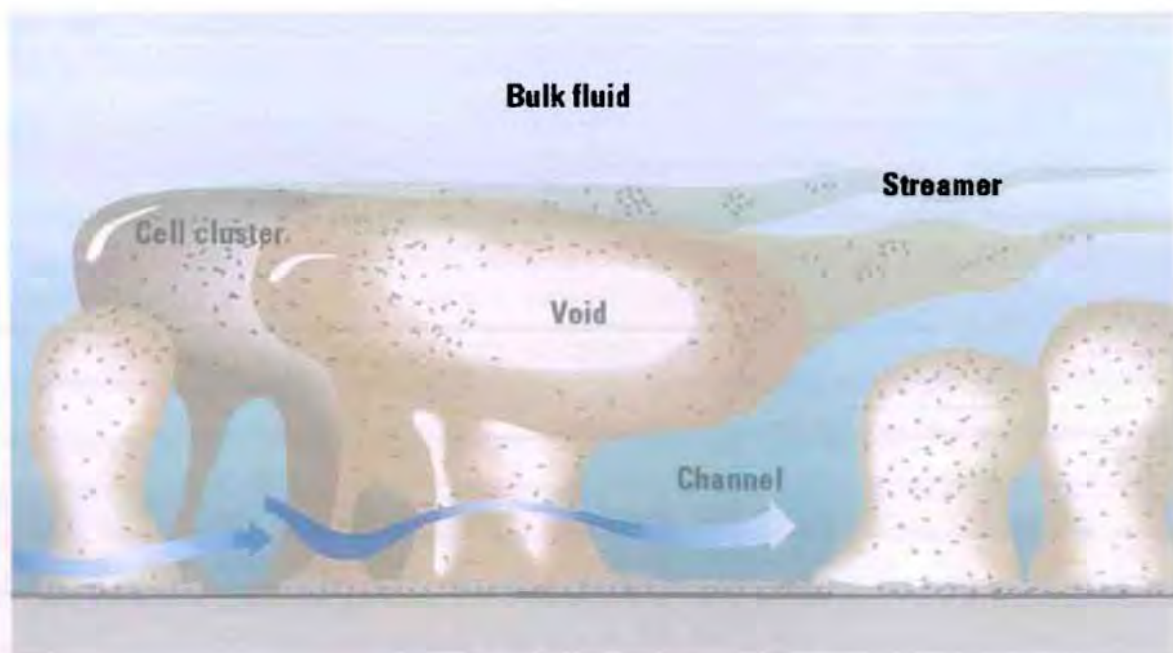
Για να εξηγήσουμε τις αλλαγές στην πυκνότητα και τις μηχανικές ιδιότητες του βιοφίλμ, πρέπει να συμπεριλάβουμε στην ανάλυση μας κάτι διαφορετικό από τα ίδια τα βακτήρια: τις εξωκυτταρικές πολυμερικές ουσίες (extracellular polymeric substances - EPS). Το EPS δημιουργείται και απελευθερώνεται από τα βακτήρια. Αν και τα περισσότερα βακτήρια παράγουν EPS, το οποίο και σχηματίζει και την εξωκυτταρική μήτρα η οποία είναι υπεύθυνη για τη δομική ακεραιότητα του βιοφίλμ και ουσιαστικά προσδιορίζει τις μηχανικές του ιδιότητες, λίγη προσοχή του έχει δοθεί από τους ερευνητές που αναπτύσσουν τα μοντέλα. Προκειμένου να αναπτυχτεί ένα μοντέλο που να προβλέπει την ανάπτυξη και τη δομή της βιοστοιβάδας με ακρίβεια, η παραγωγή EPS και οι φυσικές του ιδιότητες δεν μπορούν να αγνοηθούν.

1.5. Αποκόλληση Βιομάζας

Πρόσφατες έρευνες αποκάλυψαν την εσωτερική δομή των βιοφίλμ, διαχωρίζοντας τα συστατικά της βιομάζας τους, σε διάφορα είδη βακτηριδίων, ανενεργή βιομάζα, EPS κ.α.. Δεν μπορούμε να θεωρήσουμε κοινές μηχανικές ιδιότητες για ολόκληρο το βιοφίλμ, καθώς είναι φύσει ιδιαίτερα ετερογενές. Οι μηχανικές ιδιότητες των διαφορετικών συστατικών του μπορεί να διαφέρουν σημαντικά. Έτσι, κατά την χρήση των βιοφίλμ, επιβάλλονται πάνω τους μηχανικές τάσεις που δημιουργούν τοπικές αστοχίες, ανάλογα με την τοπική αντοχή του κάθε συστατικού. Για παράδειγμα ροή υγρού κάθετα στην επιφάνεια προσκόλλησης, διάβρωση λόγω σωματιδίων κ.α. είναι ικανά να προκαλέσουν σημαντικές (σε αυτή την κλίμακα) τέμνουσες δυνάμεις. Τέτοιοι μηχανισμοί οδηγούν στην αποκόλληση μερών του βιοφίλμ, που οδηγεί σε σημαντική μείωση της βιομάζας του. Έτσι δημιουργείται η ανάγκη για μοντέλα με μη συγκεκριμένο αριθμό συνιστούντων μερών, επέκταση δηλαδή των υφιστάμενων μοντέλων, ώστε να μπορούμε να υπολογίσουμε τις ιδιότητες του βιοφίλμ με μεγαλύτερη ακρίβεια.

Η αποκόλληση βιομάζας από το βιοφίλμ είναι ο κυριότερος παράγοντας εξισορρόπησης της θετικής ανάπτυξης του. Συνεπώς, η αποκόλληση παίζει σημαντικό ρόλο στον προσδιορισμό των παραμέτρων που επηρεάζουν τόσο τη δραστηριότητα του βιοφίλμ, όσο και τη σύνθεσή του, την ανάπτυξή του και τη διατήρηση της μάζας του.

Στο σχήμα 5 φαίνεται ο τρόπος που αποκόπτονται κομμάτια βιομάζας:



Σχήμα 5: Αποκόλληση βιομάζας

1.6. Κίνητρα και στόχοι

Πρωταρχικός στόχος αυτής της εργασίας είναι να μελετηθούν οι μηχανικές ιδιότητες του βιοφίλμ οι οποίες διαφέρουν μέσα στο βιοφίλμ και μεταβάλλονται με το χρόνο, όσο αυτό αναπτύσσεται. Οι μηχανικές του ιδιότητες εξαρτώνται από το ποσοστό των συστατικών του (ενεργή βιομάζα, αδρανής βιομάζα, εξωκυτταρικά πολυμερή και κενά) σε κάθε σημείο του, τα οποία φυσικά μεταβάλλονται στο χώρο και στο χρόνο, κάτι στο οποίο οφείλεται η εξαιρετικά μεγάλη ετερογένεια των βιοφίλμ. Οι μηχανικές ιδιότητες των βιοφίλμ είναι κρίσιμες για την κατανόηση των παραγόντων που βοηθούν ή όχι την ανάπτυξη του, επειδή είναι αυτές στις οποίες οφείλεται η αποκόλλησή του. Η αποκόλληση του βιοφίλμ και ιδιαίτερα η αποκόλληση μεγάλων κομματιών βιοφίλμ (sloughing) όταν δεν είναι αναμενόμενη παραμένει μια περιοχή που ενδιαφέρει πολύ έντονα την επιστημονική κοινότητα, επειδή η κατανόηση των παραγόντων που την επηρεάζουν παραμένουν περιορισμένες.

Για να επιτευχθούν οι παραπάνω στόχοι, σε αυτή την εργασία μελετούνται οι μεταβολές των μηχανικών ιδιοτήτων του βιοφίλμ υπό την επιβολή εξωτερικού φορτίου αποκαλύπτοντας έτσι τα σημεία της δομής του με τις υψηλότερες τάσεις που είναι και τα πιο ασθενή και αυτά στα οποία υπάρχει μεγαλύτερη πιθανότητα να γίνει η αποκόλληση. Η μελέτη γίνεται με την εφαρμογή μοντέλων προσομοίωσης ανάπτυξης βιοφίλμ. Συγκεκριμένα εφαρμόζονται αντιπροσωπευτικά μοντέλα των δύο επικρατέστερων ειδών μοντέλων: ένα μοντέλο «αυτόματων κελιών» (cellular automaton) το UMCCA κι ένα μοντέλο «ατόμων» (Individual based Model) από το Technical University Delft (TUDelft). Χαρακτηρίζονται οι μηχανικές ιδιότητες του βιοφίλμ όπως προκύπτουν από τα δύο μοντέλα και γίνεται σύγκριση και ανάλυση των αποτελεσμάτων που παράγουν. Τα δύο μοντέλα τροποποιούνται ανάλογα για να παράγουν δοκίμια κάτω από ίδιες συνθήκες, ώστε η σύγκρισή τους να είναι κατάλληλη και συνδέονται με το πρόγραμμα πεπερασμένων στοιχείων ABAQUS για την περαιτέρω ανάλυση των τάσεων που αναπτύσσονται στο βιοφίλμ και για το χαρακτηρισμό των μηχανικών ιδιοτήτων τους.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

Μαθηματικά Μοντέλα Προσομοίωσης Βιοφίλμ

2.1. Χρήση Μοντέλων Προσομοίωσης

Κατά την διερεύνηση των βιοφίλμ έχουν γίνει προσπάθειες δημιουργίας μοντέλων που προβλέπουν την ανάπτυξη των βιοφίλμ ανάλογα με τις συνθήκες του περιβάλλοντος. Αυτή η μοντελοποίηση στοχεύει στην περιγραφή της δυναμικής συμπεριφοράς του βιοφίλμ, μέσω ακριβούς περιγραφής των φυσικών, χημικών και βιολογικών διαδικασιών που λαμβάνουν χώρα κατά τη δημιουργία και τη λειτουργία του βιοφίλμ. Με αυτή την προσέγγιση, κάθε αλληλεξάρτηση που προκύπτει είναι ένα άμεσο χαρακτηριστικό, και όχι μια απαραίτητη προϋπόθεση στη δημιουργία του βιοφίλμ. Ένα μοντέλο που περιγράφει τη δραστηριότητα και τη δομή του βιοφίλμ είναι ένα πολύτιμο εργαλείο που βοηθά στον έλεγχο υποθέσεων, καθώς οι παράμετροι λειτουργίας των πειραματικών βιοφίλμ τείνουν να επηρεάζουν η μια την άλλη με μη γραμμικό τρόπο. Αυτά τα μοντέλα προσφέρουν έναν τρόπο να εξετάσουμε τις διάφορες αλλαγές που επιφέρουν στο βιοφίλμ συγκεκριμένες παράμετροι, που δεν θα μπορούσαν να εξετασθούν πειραματικά.

Γενικά, τα μοντέλα για τα βιοφίλμ μπορούν να ταξινομηθούν σε δυο κατηγορίες:

- μοντέλα για πρακτικές μηχανικές εφαρμογές, όπως σχεδιασμός, αντιμετώπιση προβλημάτων, διαχείριση και
- μοντέλα που χρησιμοποιούνται για ερευνητικούς σκοπούς ώστε να διερευνηθούν συγκεκριμένες διαδικασίες που συμβαίνουν στα μικροβιακά βιοφίλμ. Η χρήση αυτών των μοντέλων γίνεται ώστε να συμπληρωθούν κενά στη γενική γνώση γύρω από τη δυναμική των βιοφίλμ.

Ασχέτως από το είδος της εφαρμογής, τα μοντέλα πρέπει να είναι ρεαλιστικά. Αυτό επειδή ένα μοντέλο δεν πρέπει να πρέπει να προσπαθήσει να περιλάβει όλα τα δυνατά φαινόμενα που συμβαίνουν σε ένα βιοφίλμ, αλλά να είναι σε θέση να προβλέψει με ακρίβεια τα φαινόμενα που προτίθεται να παραστήσει. Η ευαισθησία των

αποτελεσμάτων ενός μοντέλου σε αλλαγές των δεδομένων εισόδου θα προσδιορίσει ποιες είναι οι κρίσιμες διαδικασίες που καθορίζουν τη συμπεριφορά του υπό εξέταση βιοφίλμ. Παρόλα αυτά, η σχετική μη ευαισθησία του μοντέλου στις αλλαγές μιας παραμέτρου de σημαίνει ότι αυτή η παράμετρος πρέπει να παραβλεφθεί.

Ο συνδυασμός μαθηματικών μοντέλων και επαρκής ανάλυση της ευαισθησίας παρέχουν γνώση στο βαθμό ακρίβειας που χρειάζεται στην πειραματική αξιολόγηση των παραμέτρων. Για παράδειγμα η κινητική συμπεριφορά των μικροοργανισμών στα βιοφίλμ μπορεί να είναι σημαντικά διαφορετική από ότι στα πλαγκτονικά κύτταρα. Έτσι, ο προσδιορισμός φυσικών παραμέτρων μπορεί να είναι σημαντικός όταν αναλύουμε τον ρυθμό κατανάλωσης υποστρώματος ή το σχηματισμό μικροαποικιών σε βιοφίλμ με πολλά είδη βακτηρίων. Μπορεί βέβαια η ακρίβεια κινητικών παραμέτρων να είναι σχετικά ασήμαντη όταν αναλύουμε αλλά φαινόμενα όπως οι μηχανισμοί αποκόλλησης.

Η πειραματική έρευνα των βιοφίλμ μπορεί επίσης να ωφεληθεί από προσομοιωμένα που στοχεύουν στην αποκάλυψη νέων παραμέτρων που πρέπει να μετρηθούν. Για παράδειγμα, πρόσφατες προσπάθειες να διευκρινιστούν μαθηματικά οι μηχανισμοί διάβρωσης και αποκόλλησης του βιοφίλμ, κατέδειξαν την ανάγκη να μετρηθούν πειραματικά οι μηχανικές ιδιότητες του EPS, όπως η ελαστικότητα και η δυσκαμψία (Picioreanu et al., 1999). Με πειραματικές μεθοδολογίες για την μέτρηση τους να αναπτύσσονται (Ohasi et al., 1999), η ευαισθησία των αποτελεσμάτων των μοντέλων σε μεταβολές του EPS μπορεί να βοηθήσει στην εξακρίβωση του κατά πόσο οι πειραματικές διατάξεις είναι κατάλληλες.

Σε σχέση με τις μηχανικές εφαρμογές, οι παρόντες στόχοι των μοντέλων περιλαμβάνουν τη μηχανική του βιοφίλμ, έλεγχο σε πρώτο χρόνο, και εφαρμογές επιμόρφωσης. Αυτοί οι στόχοι συνοψίζονται ως εξής:

- **Μηχανική του βιοφίλμ.** Ένας σημαντικός στόχος της ανάπτυξης μοντέλων για τα βιοφίλμ είναι να αποκτήσουμε άποψη στη σχέση μεταξύ των διαδικασιών που εμπλέκονται στο σχηματισμό του βιοφίλμ, ώστε να είναι δυνατό να επέμβουμε στη δομή του και τη λειτουργία του. Για παράδειγμα, φανταζόμαστε την διαχείριση των περιβαλλοντικών συνθηκών ώστε να παράγουμε πυκνό βιοφίλμ που θα μπορεί εύκολα να διαχωριστεί από την υγρή κατάσταση, βιοφίλμ με πολλές στρώσεις που θα εμπόδιζε τη διάβρωση μεταλλικών επιφανειών, κ.α..

- **Έλεγχος σε πραγματικό χρόνο (real time).** Η ικανότητα να ελέγξουμε τα βιοφίλμ απαιτεί τη δημιουργία μαθηματικών μοντέλων που θα ενσωματώνουν την δραστηριότητα του βιοφίλμ και τη στοχαστική συμπεριφορά των δεδομένων.
- **Εκπαίδευση.** Τα μοντέλα είναι επίσης εκπαιδευτικά εργαλεία. Εάν τα μαθηματικά μοντέλα πρόκειται να χρησιμοποιηθούν σαν σχεδιαστικά και προσομοιωτικά εργαλεία, είναι σημαντικό να διδάξουμε τις αρχές αυτών των μοντέλων στις μελλοντικές γενιές επιστημόνων και μηχανικών.

Η παρούσα χρήση των μοντέλων στα βιοφίλμ σαν ερευνητικά εργαλεία έχει ευρύτερους στόχους, οι περισσότεροι εκ των οποίων συνδέονται με το να αποκτήσουμε καλύτερη κατανόηση της δομής του βιοφίλμ, τη δυναμική του πληθυσμού του, και δομικές ετερογένειες.

- **Τριδιάστατη ετερογένεια.** Με άφθονα πειραματικά δεδομένα να δείχνουν ότι οι δομές των βιοφίλμ είναι ετερογενείς, οι απλοποιητικές παραδοχές των μονοδιάστατων μοντέλων τίθενται υπό αμφισβήτηση. Η αξιολόγηση αυτών των αρχικών υποθέσεων είναι μέγιστης σημασίας στην ανάπτυξη χρήσιμων μοντέλων
- **Συμπεριφορά ειδικών μικροοργανισμών.** Η επιβίωση ενός συγκεκριμένου μικροοργανισμού σε ένα βιοφίλμ είναι συχνά η πιο ενδιαφέρουσα διάσταση των διαδικασιών του βιοφίλμ.
- **Μικροοργανισμοί σαν παραγωγοί.** Μια σημαντική ιδέα που πρέπει να αναγνωριστεί στα μοντέλα των βιοφίλμ είναι η παραγωγή ουσιών από τους μικροοργανισμούς και η οικολογικές συνέπειες που αυτό επιφέρει. Τα προϊόντα αυτά περιλαμβάνουν προϊόντα χημικής μετουσίωσης, διαλυτά συστατικά αυτότροφων βακτηρίων, και EPS.
- **Ανάλυση πιθανών μηχανισμών αποκόλλησης.** Εξελεγκμένα μαθηματικά μοντέλα χρησιμοποιούνται για την κατανόηση της επίδρασης της υδροδυναμικής ροής στους μηχανισμούς αποκόλλησης στα βιοφίλμ. Αυτές οι μαθηματικές προσπάθειες πρέπει να συνοδεύονται από πειραματικές πληροφορίες στις μηχανικές ιδιότητες των βιοφίλμ, όπως η ελαστικότητα και η δυσκαμψία συναρτήσει του EPS.
- **Αποσαφήνιση των διαδικασιών που καθορίζουν τη συμπεριφορά των σωματιδίων.** Προσοχή πρέπει να δοθεί στους μηχανισμούς που εμπλέκονται στην κατανάλωση μοριακής οργανικής ύλης από το βιοφίλμ. Όμοια, η σημασία της μεταφοράς μικροοργανισμών από και προς το βιοφίλμ δεν έχει ακόμα

εκτιμηθεί μαθηματικά, ακόμα και αν αυτό το φαινόμενο μπορεί να είναι εξαιρετικά σημαντικό στον προσδιορισμό της μικροβιακής οικολογίας στο βιοφίλμ.

2.2. Μοντέλα Ανάπτυξης Βιοφίλμ

Τα μονοδιάστατα μοντέλα, χρησιμοποιούνται ευρέως στην περιγραφή μακροσκοπικών μεταβολών και για ποσοτική πρόβλεψη των διαδικασιών των βιοφίλμ. Η πιστότητα των μονοδιάστατων μοντέλων βασίζεται στη λογική ότι τα στοιχειώδη κομμάτια του βιοφίλμ, είναι τάξεις μεγέθους μεγαλύτερα στην διεύθυνση κάθετα στην επιφάνεια προσκόλλησης, από ότι παράλληλα σε αυτή. Επίσης, θεωρούν ότι τα βιοφίλμ είναι ομογενή κατά τη διεύθυνση που είναι παράλληλη στην επιφάνεια προσκόλλησης. Όμως, αρκετά χαρακτηριστικά που απορρέουν από τη δυναμική της δομής του βιοφίλμ πρέπει να υποτεθούν: συντελεστές εσωτερικής και εξωτερικής μεταφοράς μάζας, δείκτης πόρων, και κινητικότητα βακτηριδιακών ειδών είναι παραδείγματα ιδιοτήτων που πρέπει να προσδιοριστούν ρητά.

Τα μονοδιάστατα μοντέλα δίνουν γραφικές παραστάσεις υποστρώματος-συγκέντρωσης, κάθετα στην επιφάνεια προσκόλλησης. Όμως η χρήση νέων τεχνολογιών στους υπολογιστές και στη μικροσκοπική φωτογράφιση έχει αλλάξει πλήρως την εικόνα που είχαμε για τα βιοφίλμ την τελευταία δεκαετία. Αυτές οι τεχνολογίες έδειξαν ότι τα βιοφίλμ δεν αναπτύσσονται με αυτό το μονοδιάστατο μοτίβο, αλλά σχηματίζουν μικροβιακές συστοιχίες παίρνοντας μανιταροειδή σχήματα, έχοντας μεταξύ τους κανάλια επικοινωνίας (Costerton 1994). Το μανιταροειδές μοτίβο είναι ένα ακραίο παράδειγμα ριο ρεαλιστικής απεικόνισης: είναι ετερογενή σε μια μεγάλη γκάμα ιδιοτήτων που υπερβαίνουν τη μονοδιάστατη διαφοροποίηση συγκέντρωσης υποστρώματος. Πιο συγκεκριμένα, υπάρχει διαφοροποίηση ως προς:

- Είδος των βακτηρίων
- Υπόστρωμα
- Παρουσία στερεών
- Αδρανή βιομάζα
- EPS

- Πάχος
- Τραχύτητα επιφάνειας
- Πυκνότητα
- Πορώδες
- Ελαστικότητα

Η ανακάλυψη αυτής της μεγάλης ετερογένειας του βιοφίλμ είναι πολύ σημαντική. Ανέδειξε προβλήματα που αντιμετώπιζε η μονοδιάστατη ανάλυση, ιδιότητες που δεν μπορούσαν να ληφθούν υπόψη παρά μόνο σε δισδιάστατα ή τρισδιάστατα μοντέλα.

Τα πολυδιάστατα μοντέλα προσφέρουν την δυνατότητα υπολογισμού τέτοιων ιδιοτήτων από βασικές αρχές. Διάφορες προσεγγίσεις της πολυδιάστατης μοντελοποίησης των βιοφίλμ μπορούν να βρεθούν στη βιβλιογραφία. Η προσέγγιση που βασίζεται στην κατά άτομο μοντελοποίηση (individual-based modeling—Ibm) παρέχει μια αναπαράσταση της βιομάζας σαν αυτή να αποτελείται από πολλές σφαιρικές μονάδες που δρουν ανεξάρτητα, ανάλογα με το πώς συνθέτονται τα βακτηριδιακά βιοφίλμ από πολλά βακτηριδιακά κύτταρα. Σε αυτήν την από κάτω προς τα πάνω προσέγγιση, η συμπεριφορά των μονάδων προσδιορίζεται με κάποιους κανόνες που μιμούνται τη συμπεριφορά των μεμονωμένων βακτηριδιακών κυττάρων, όπως την ανάπτυξη μέσω κατανάλωσης υποστρώματος, αναπαραγωγή μέσω κυτταρικής σχάσης, μεταβολισμού και άλλα. Οι δυναμικές μεγάλης κλίμακας του προσομοιαζόμενου βιοφίλμ επέρχονται σαν ακόλουθες ιδιότητες της αλληλεπίδρασης μεταξύ των μονάδων, καθώς αυτές αναπτύσσονται και αναπαράγονται. Αυτή η μέθοδος χρησιμοποιήθηκε πρώτα στη μοντελοποίηση της ανάπτυξης της βακτηριδιακής αποικίας, της παραγωγής EPS από τα βιοφίλμ, και την ανάπτυξη αλτρουιστικής συμπεριφοράς των βακτηρίων στα βιοφίλμ.

2.2.1 Το μοντέλο UMCCA και η ενοποιητική θεωρία

Σε μια προσπάθεια να βρεθεί μια κατάλληλη προσέγγιση σε ένα μοντέλο ώστε να περιληφθεί το EPS, βρέθηκε στη βιβλιογραφία μια πληθώρα αντιφάσεων στη σχέση των τριών μικροβιακών προϊόντων: τα EPS, τα διαλυτά μικροβιακά προϊόντα (soluble microbial products—SMP) και την αδρανή βιομάζα (Laspidou and Rittmann, 2002a). Αναγνωρίστηκαν δυο διαφορετικές σχολές σκέψης, μια που επικεντρώνεται στην ενεργή

βιομάζα και το EPS, και η άλλη που επικεντρώνεται στα SMP, την ενεργή βιομάζα και την αδρανή βιομάζα. Και οι δυο σχολές μελετούν σχετικά φαινόμενα και χρησιμοποιούν παράλληλες εκφράσεις για να τα περιγράψουν, όπως επίσης αντιμετωπίζουν την ίδια πραγματικότητα, κυρίως τη βιομάζα και τα μικροβιακά της προϊόντα, αλλά ονομάζουν αυτά τα προϊόντα διαφορετικά και δείχνουν να έρχονται σε αντίθεση. Εξετάζοντας τη βιβλιογραφία και τις σειρές των υποθέσεων των δυο ομάδων, οι Lapidou and Rittman (2002) βρήκαν ότι αυτό που η σχολή του EPS ονομάζει “διαλυτό EPS”, η σχολή του SMP ονομάζει “SMP”. Επίσης, το δεσμευμένο EPS, που δε συμπεριλαμβάνεται στα μοντέλα της σχολής SMP, ουσιαστικά περιλαμβάνεται μερικώς σε αυτό που ονομάζουν “ενεργή βιομάζα” και μερικώς σε αυτό που ονομάζουν “αδρανή βιομάζα”.

Η βασική αιτία για τέτοιες στοιχειώδεις ασυμφωνίες στην περιγραφή των μικροβιακών προϊόντων από τις δυο σχολές, είναι οι διαφορετικοί στόχοι που έχουν θέσει. Για τη σχολή που επικεντρώνεται στα SMP και την αδρανή βιομάζα, ο στόχος είναι να προβλέψουν την ποιότητα των υγρών αποβλήτων (π.χ. τα SMP σαν μέρος της ζήτησης σε διαλυτό οξυγόνο) και παραγωγής λάσπης (π.χ. αδρανή βιομάζα). Από την άλλη μεριά, η έρευνα που επικεντρώνεται στο EPS, ενδιαφέρεται κυρίως για τα χαρακτηριστικά του βιοφίλμ, ή την κροκύδωση. Συνεπώς, η σχολή του EPS, χρησιμοποιεί πειραματικές τεχνικές για το χαρακτηρισμό του EPS και διαφορές διαδικασίες εξόλκησης για να διαχωρίσουν τα στοιχεία του βιοφίλμ. Αν και δεν εστιάζει στην ποιότητα των υγρών αποβλήτων, η σχολή του EPS πρέπει εξηγήσει τα παρατηρούμενα διαλυτά προϊόντα, τα οποία περιλαμβάνει στα EPS.

Η ενοποιητική θεωρία φέρνει κοντά τις δυο θεωρίες και συμβιβάζει τις προφανείς αντιφάσεις. Δείχνει ότι τα προφανώς διαφορετικά προϊόντα των δυο σχολών αλληλοκαλύπτονται. Το διαλυτό EPS είναι ουσιαστικά SMP, ή το σύνολο των προϊόντων σχετικών με τη χρήση (utilization-associated products—UAP) και των προϊόντων σχετικών με τη βιομάζα (biomass-associated products—BAP). Ακόμα, η ενεργή βιομάζα, όπως ορίζεται από τη σχολή SMP, επίσης περιλαμβάνει δεσμευμένο EPS, ενώ η αδρανής βιομάζα περιλαμβάνει κάποιο δεσμευμένο EPS και νεκρά κύτταρα.

Αυτή η θεωρία καταλήγει με μια σχηματική αναπαράσταση της ροής ηλεκτρονίων που επιδεικνύει πώς τα ηλεκτρόνια υποστρωμάτων εκτρέπονται για να δημιουργήσουν όλα τα προϊόντα που έχουν παρατηρηθεί από τις δύο διαφορετικές ομάδες. Η ενοποιημένη θεωρία οργανώνεται μέσω έξι υποθέσεων για το πώς τα SMP, EPS, και η ενεργή και αδρανής βιομάζα συσχετίζονται (Lapidou and Rittmann, 2002a).

Υπόθεση 1. Το SMP και το διαλυτό EPS είναι ίδια στα συστήματα στα οποία η υδρόλυση των μοριακών οργανικών υποστρωμάτων δεν είναι σημαντική. Στη βιβλιογραφία (Noguera et al. 1994) σαφώς δηλώνεται ότι τα SMP είναι προϊόντα που έχουν μόνο μικροβιακή προέλευση. Αποκλείονται τα ενδιάμεσα προϊόντα της ελλιπούς υποβάθμισης των σύνθετων οργανικών υποστρωμάτων. Ο προσδιορισμός του διαλυτού EPS (Nielsen et al., 1997), εντούτοις, είναι πολύ «χαλαρότερος» και περιλαμβάνει τα προϊόντα υδρόλυσης της προσκολλημένης οργανικής ουσίας και τα ενδιάμεσα προϊόντα, εκτός από τα μικροβιακά παραχθέντα διαλυτά πολυμερή σώματα. Επειδή αυτός ο προσδιορισμός δεν έχει ένα χωριστό συστατικό για τις διαλυτές οργανικές ουσίες που δεν είναι μικροβιακής προέλευσης, οποιοδήποτε διαλυτό υποπροϊόν ή τελικό προϊόν πρέπει να ομαδοποιηθεί ως διαλυτό EPS. Ως εκ τούτου, το διαλυτό EPS μπορεί να περιλάβει τα υλικά που δεν περιλαμβάνονται στον καθορισμό του SMP. Στα συστήματα στα οποία κανένα μοριακό οργανικό υπόστρωμα δεν εισάγεται, η υδρόλυση και άλλα ενδιάμεσα προϊόντα δεν είναι πιθανά. Εκεί, το SMP και διαλυτό EPS συμπίπτουν.

Υπόθεση 2. Το δεσμευμένο EPS υδρολύεται και διαμορφώνει BAP. Η βιβλιογραφία σχετικά με τα χαρακτηριστικά του EPS δείχνει ότι το δεσμευμένο EPS διαλύεται ή υδρολύεται αργά από τα ένζυμα που απελευθερώνονται από τα βακτηρίδια. Κάποια μοντέλα (Nielsen et al., 1997 και Hsieh et al., 1994) επίσης συμφωνούν με αυτό το συμπέρασμα, δεδομένου ότι και τα δύο μοντέλα περιλαμβάνουν τους όρους για την απελευθέρωση συνδεδεμένου EPS για να παραγάγουν διαλυτό EPS, το οποίο στην θεωρία αυτή ερμηνεύεται ως SMP. Επειδή η εξίσωση Leudeking και Piret στερείται έναν όρο απώλειας προϊόντος, προτείνεται ότι ένας αρνητικός όρος (απώλειας) πρέπει να προστεθεί σε αυτή την έκφραση EPS. Επιπλέον, προτείνεται ότι η υδρόλυση δεσμευμένου EPS διαμορφώνει BAP, με αυτό να είναι η μόνη σημαντική πηγή του BAP.

Υπόθεση 3. Το μέρος του διαλυτού EPS που συνδέεται με την αύξηση είναι το ίδιο με το UAP. Κατά την ερμηνεία των πειραματικών στοιχείων (όπως Hsieh et al., 1994), οι επιστήμονες που μελετούν το EPS βλέπουν το σχηματισμό ενός διαλυτού προϊόντος που συμπεριφέρεται όπως το UAP, ή παράγεται αναλογικά προς το ποσοστό αύξησης βιομαζών ή χρησιμοποίησης υποστρωμάτων. Από εννοιολογική άποψη, οι Nielsen et al. (1997) δεν βλέπουν την ανάγκη να περιληφθεί ένας τέτοιος όρος συνδεδεμένος με την αύξηση για το δεσμευμένο EPS, αλλά τα πειραματικά στοιχεία (Hsieh et al., 1994) υποστηρίζουν το σχηματισμό διαλυτού EPS, ή UAP. Επομένως, προτείνεται

ότι η αύξηση του διαλυτού μέρους του EPS που παρουσιάζεται από τη σχολή του EPS ως διαλυτό EPS είναι το ίδιο με το UAP.

Υπόθεση 4. Το διαλυτό EPS πολυμερίζεται σε δεσμευμένο EPS. Με αυτήν την υπόθεση, διερευνάται η πιθανότητα ότι τα κύτταρα δεν παράγουν συνδεδεμένο EPS, αλλά μάλλον παράγουν άμεσα διαλυτό EPS, το οποίο πολυμερίζεται έπειτα σε δεσμευμένο EPS. Πιστεύεται σε αυτή τη θεωρία ότι αυτή η υπόθεση είναι λανθασμένη. Ο κύριος λόγος ότι τα κύτταρα απελευθερώνουν EPS είναι το να κολλήσουν μεταξύ τους. Για παράδειγμα, ανακαλύφθηκε ότι τα κύτταρα παράγουν μέχρι 19 φορές περισσότερο EPS κατά τη διαμόρφωση βιοφίλμ, σε σύγκριση με τα πλανκτονικά κύτταρα (Davies, 1999). Αυτά τα στοιχεία προτείνουν ότι τα κύτταρα ωφελούνται από τη διαμόρφωση EPS που τα βοηθά να συνδεθούν μεταξύ τους. Ως εκ τούτου, χρησιμοποιούν τα ηλεκτρόνια και τον άνθρακα για την παραγωγή δεσμευμένου EPS. Κατά συνέπεια, τα κύτταρα διαμορφώνουν άμεσα συνδεδεμένο EPS, το οποίο μπορεί αργότερα από να υδρολυθεί σε BAP. Από κινητική άποψη, κανένας όρος δεν απαιτείται για να προσδιορίσει την απώλεια του SMP και το σχηματισμό EPS από τον πολυμερισμό του SMP.

Υπόθεση 5. Ο σχηματισμός συνδεδεμένου EPS συνδέεται με την αύξηση και παράγεται ευθέως ανάλογα με τη χρήση υποστρώματος. Η ερώτηση που εξετάζεται εδώ είναι εάν ο ρυθμός παραγωγής για το συνδεδεμένο EPS συνδέεται με την αύξηση, τη βιομάζα, ή και οι δύο. Η εξίσωση Leudeking-Piret περιέχει και τους δύο τύπους όρων σχηματισμού, αλλά κανέναν αρνητικό όρο (απώλεια υδρόλυσης). Η υπόθεση 2 ήδη προσθέτει έναν αρνητικό όρο, αλλά τι γίνεται με τους θετικούς όρους; Εάν ο σχηματισμός συνδεδεμένου EPS διαμορφώνεται με έναν όρο συνδεδεμένο με τη βιομάζα, ο σχηματισμός EPS είναι ισοδύναμος με έναν μηχανισμό «αποσύνθεσης», το οποίο σημαίνει ότι ένας υψηλός ρυθμός σχηματισμού EPS απαιτεί μια υψηλή συγκέντρωση ενεργούς βιομάζας. Εντούτοις, τα πειραματικά στοιχεία στη βιβλιογραφία (Robinson et al., 1984, Hsieh et al., 1994) προτείνουν ότι μια μεγάλη συσσώρευση EPS είναι δυνατή όταν η συσσώρευση ενεργών βιομαζών είναι σχετικά χαμηλή.

Υπόθεση 6. Η σχολή του SMP περιλαμβάνει μέρος του δεσμευμένου EPS στην πρόσφατα σχηματισμένη ενεργό βιομάζα και ένα άλλο μέρος στην αδρανή βιομάζα. Αν και τα μοντέλα της σχολής SMP εξηγούν όλες τις συγκεντρώσεις ηλεκτρονίων και άνθρακα, το δεσμευμένο EPS δεν ερμηνεύεται χωριστά. Ως εκ τούτου, πρέπει να ομαδοποιηθεί με όρους βιομάζας, ενεργή ή αδρανής. Τα στοιχεία στη βιβλιογραφία δείχνουν ότι τα κύτταρα αρχίζουν να παράγουν σημαντικά ποσά EPS κατά τη διάρκεια

της φάσης γρήγορης αύξησης και προτού μια μεγάλη συσσώρευση ενεργούς βιομάζας είναι διαθέσιμη για την απελευθέρωση EPS μέσω ενός μηχανισμού που σχετίζεται με τη βιομάζα ή την αποσύνθεση. Παραδείγματος χάριν, τα κύτταρα που συνδέονται με ένα υπόστρωμα (Davies 1999) ρυθμίζουν τα γονίδια που επισημαίνουν την παραγωγή EPS έτσι ώστε να μπορούν να παραγάγουν EPS ως τμήμα της σύνθεσης και να ενισχύσουν πιθανώς τη δυνατότητά τους να παραμείνουν συνδεδεμένα με το υπόστρωμα και να διαμορφώσουν το πολυμερές σώμα μητρών του biofilm. Επιπλέον βρέθηκε (Hsieh et al. 1994) ότι ο σχηματισμός EPS που παραλληλίζει (και οι Robinson et al., 1984 έδειξαν ότι υπερέβη) τη σύνθεση της νέας ενεργούς βιομάζας. Δεδομένου ότι η σχολή SMP δεν διακρίνει το EPS από την ενεργό βιομάζα ενώ το EPS παράγεται ως τμήμα της σύνθεσης, κατόπιν πρέπει να ομαδοποιήσουν τουλάχιστον μέρος του EPS με την ενεργό βιομάζα.

Στη συνέχεια η ενοποιημένη θεωρία ποσοτικοποιήθηκε σε ένα σετ εξισώσεων ισορροπίας μάζας, μια για κάθε διαλυτή ουσία και αδρανές συστατικό (Laspidou and Rittman, 2002a). Η ενοποιημένη θεωρία ελέγχτηκε συγκρίνοντας τις προβλέψεις του μοντέλου με πειραματικά δεδομένα από τον Hsieh et al. (1994), ο οποίος μέτρησε τις σχετικές παραμέτρους των στερεών και διαλυτών ουσιών. Τα παράγωγα του μοντέλου συνέλαβαν ποσοτικά τις μετρήσεις σε αντιδραστήρα συνεχούς ροής, και σε πειράματα βραχύβιας ανάπτυξης. Έτσι, ρυθμίστηκαν ορισμένες παράμετροι κλειδιά που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στο μοντέλο UMCCA για βιοφίλμ με πολλά συστατικά (Laspidou and Rittmann, 2002b).

Το μοντέλο UMCCA (Unified Multi-Component Cellular Automaton) περιγράφει ποσοτικά την περιπλοκότητα των συστατικών του βιοφίλμ: ενεργά βακτήρια, αδρανής βιομάζα, και εξωκυτταρικές πολυμερικές ουσίες (EPS). Επίσης περιλαμβάνει το αρχικό υπόστρωμα, δυο είδη διαλυτών μικροβιακών προϊόντων (SMP), και οξυγόνο. Όλες οι παράμετροι μάζας που χρησιμοποιούνται στο μοντέλο, βασίζονται στην ενοποιημένη θεωρία, η οποία συμβιβάζει τα μέχρι πρότινος ασύμβατα ευρήματα σχετικά με την ενεργή και αδρανή βιομάζα, τα EPS και τα SMP. Το μοντέλο συλλαμβάνει όλες τις σύγχρονες τάσεις που παρατηρούνται πειραματικά σχετικά με την πυκνότητα του βιοφίλμ, τις μεγάλες διαφορές της πυκνότητας σε ίδιο δοκίμιο βιοφίλμ, με τα στρώματα που βρίσκονται κοντύτερα στην επιφάνεια προσκόλλησης να έχουν συχνά 5 ή και 10 φορές μεγαλύτερη πυκνότητα από τα επιφανειακά στρώματα, που είναι πορώδη και χαλαρά συνδεδεμένα. Για να συμπεριλάβει αυτό το φαινόμενο, το μοντέλο UMCCA χρησιμοποιεί την καινοτόμο ιδέα της **παγιοποίησης του βιοφίλμ (biofilm consolidation)**: το υγρό πάνω από το βιοφίλμ δημιουργεί πιέσεις και δονήσεις που

κάνουν το βιοφίλμ να συμπύσσεται και να μεγαλώνει την πυκνότητά του με το χρόνο. Σαν αποτέλεσμα, κάθε τμήμα του βιοφίλμ στο μοντέλο συμπύσσεται σε κάποιο βαθμό, που εξαρτάται από την ηλικία της βιομάζας του, που είναι μεγαλύτερη στα κατώτερα στρώματα του βιοφίλμ. Το μοντέλο μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για να περιγράψει μεταβολές των μηχανικών ιδιοτήτων του βιοφίλμ στο χώρο και στο χρόνο, και μπορεί να συνδεθεί με προγράμματα πεπερασμένων στοιχείων για να μελετηθεί η συμπεριφορά του βιοφίλμ κάτω από ελκυστικές ή θλιπτικές δυνάμεις, και για να διεξάγουμε ανάλυση τάσεων του παραμορφωμένου βιοφίλμ, που θα δείχνουν που είναι πιθανό να αστοχήσουν ή να αποκολληθούν.

Το μοντέλο UMCCA είναι ένα υβριδικό διαφορικό και διακριτό μοντέλο *αυτόματων κελιών* (cellular automaton—CA). Άρα οι διαλυτές ουσίες παριστάνονται σε συνεχές πεδίο διάχυσης-μάζας, όπου τα στερεά χαρτογραφούνται κελί προς κελί, χρησιμοποιώντας έναν αλγόριθμο *αυτόματων κελιών*. Περιλαμβάνει επτά κύριες μεταβλητές: ενεργή βιομάζα, EPS και αδρανή βιομάζα, υπόστρωμα (S), UAP, BAP, και οξυγόνο. Ο βασικός στόχος του μοντέλου είναι να περιγράψει ποσοτικά την ετερογένεια των βιοφίλμ.

2.2.1.1. Στόχοι του μοντέλου UMCCA

Ένας κύριος στόχος αυτού του μοντέλου είναι να προβλεφθεί μια «σύνθετη πυκνότητα», ή αλλιώς η πυκνότητα που περιλαμβάνει την ενεργό βιομάζα, την αδρανή βιομάζα, και το EPS. Αυτή η σύνθετη πυκνότητα αντιστοιχεί σε αυτό που μετρείται πειραματικά από τα στερεά υπολείμματα, τα πτητικά στερεά, ή το ξηρό βάρος. Για να κάνει αυτό, το μοντέλο UMCCA ενσωματώνει όχι μόνο ενεργό βιομάζα - όπως έχει γίνει μέχρι τώρα από Picioreanu et al. (1998a και β), Noguera et al. (1999a), και Pizarro et al. (2001), Eberl et al. (2000 και 2001) - αλλά επίσης το EPS και την υπόλοιπη αδρανή βιομάζα που διαμορφώνονται ως συνέπεια της αποσύνθεσης και της διάσπασης των κυττάρων. Η σύνθετη πυκνότητα μπορεί να ποικίλει στο χρόνο και στο χώρο, σύμφωνα με το πώς ποικίλλουν τα τρία συστατικά του. Επειδή κάθε ένα από τα συστατικά αντιπροσωπεύεται χωριστά, το μοντέλο UMCCA προβλέπει επίσης τη διανομή των διαφορετικών συστατικών στο χρόνο και στο χώρο. Αυτό καθιστά δυνατή τη σύγκριση των αποτελεσμάτων του UMCCA με τα πειραματικά στοιχεία κάθε συστατικού.

Ο δεύτερος στόχος είναι να ενσωματωθεί το φαινόμενο παγιοποίησης στο πρότυπο κατά τρόπο ρεαλιστικό, όμως απλό. Η παγιοποίηση επιτρέπει στο μοντέλο UMCCA να προβλέψει τις αυξήσεις στην πυκνότητα βιομαζών που πραγματοποιούνται με την πάροδο του χρόνου και βαθύτερα στο βιοφίλμ.

Ένας τρίτος στόχος του μοντέλου UMCCA είναι να βρεθεί ένα βελτιωμένο σύστημα για την πρόσφατα σχηματισμένη βιομάζα. Συγκεκριμένα, η περισσευούμενη βιομάζα σε ένα διαμέρισμα πρέπει να διανεμηθεί με τέτοιο τρόπο που να είναι βέλτιστος από άποψη απόστασης που η βιομάζα πρέπει να καλύψει έως ότου βρίσκει ένα κενό διαμέρισμα στο οποίο μπορεί να τοποθετηθεί. Επειδή η βιομάζα δεν διαχέεται, ο CA αλγόριθμος έχει κανόνες που επιτρέπουν στην περισσευούμενη βιομάζα να κινηθεί από ένα πλήρες διαμέρισμα σε ένα κοντινό διαμέρισμα που έχει το χώρο να τη δεχτεί. Αν και οι προηγούμενοι CA αλγόριθμοι έχουν τέτοιους κανόνες, το μοντέλο UMCCA ενσωματώνει ένα αποδοτικότερο και ρεαλιστικότερο CA αλγόριθμο.

2.2.1.2. Μεταβλητές και Εξισώσεις Ισοζυγίου Μάζας

Οι μεταβλητές που επιλέγονται να αντιπροσωπεύσουν την κατάσταση κάθε διαμερίσματος είναι οι αδιάστατες συγκεντρώσεις των διαλυτών οργανικών ειδών, πυκνότητες κάθε ενός από τα στερεά είδη, και τη συγκέντρωση του αποδέκτη ηλεκτρονίων, δηλ. διαλυμένο οξυγόνο (O_2). Τα διαλυτά οργανικά είδη είναι το υπόστρωμα περιορισμού των βακτηριδίων (S) και δύο τύποι διαλυτών μικροβιακών προϊόντων (SMP), δηλ. σχετικά με τη χρήση προϊόντα (UAP), και σχετικά με τη βιομάζα προϊόντα (BAP). Τα στερεά είδη είναι η ενεργός βιομάζα (X_a), το EPS, και η αδρανής βιομάζα (X_{res}) που παράγεται από την αποσύνθεση της ενεργού βιομάζας.

Για όλα τα είδη, χρησιμοποιούνται αδιάστατες ποσότητες για να ενισχύσουν την ομοιομορφία και τη σταθερότητα του αλγορίθμου, όπως έδειξε ο Picioreanu et al. (1998a). Για να επιτευχθούν αδιάστατες ποσότητες, όλες οι μεταβλητές σχετίζονται με σταθερές ποσότητες, συνήθως με τη μέγιστη αξία που μπορούν να πάρουν. Μετά από τη σημείωση Picioreanu et al. (1998a), μια μεταβλητή που αντιπροσωπεύεται με ένα κεφαλαίο γράμμα είναι η αδιάστατη μορφή της αντίστοιχης μεταβλητής που είναι γραμμένη με πεζά. Έτσι, κάθε στοιχείο των σειρών παραμέτρου παίρνει πραγματικές τιμές μεταξύ 0 και 1. Οι χωρικές συντεταγμένες είναι ομαλοποιημένες στη διάσταση ενός τετραγωνικού στοιχείου, d . Εντούτοις, ο χρόνος δεν είναι αδιάστατος, επειδή το

πρότυπο υπολογίζει τις αλλαγές σε πραγματικό χρόνο. Οι εξισώσεις συνοψίζουν τους ορισμούς όλων των αδιάστατων παραμέτρων.

$$S^{i,j} = \frac{s^{i,j}}{s_{\max}}, \quad UAP^{i,j} = \frac{uap^{i,j}}{uap_{\max}}, \quad BAP^{i,j} = \frac{bap^{i,j}}{bap_{\max}},$$

$$X_a^{i,j} = \frac{x_a^{i,j}}{x_{a,\max}}, \quad EPS^{i,j} = \frac{eps^{i,j}}{eps_{\max}}, \quad X_{res}^{i,j} = \frac{x_{res}^{i,j}}{x_{res,\max}}, \quad O_2^{i,j} = \frac{o_2^{i,j}}{o_{2,\max}}$$

$$X = \frac{x}{d}, \quad Z = \frac{z}{d}.$$

Οι δείκτες i και j δείχνουν τη θέση του διαμερίσματος στο οποίο οι ποσότητες υπάρχουν: το i δείχνει τη σειρά και το j τη στήλη του φυσικού χώρου. Τα ποσοστά αντιπροσωπεύονται σε μια μορφή που χρησιμοποιεί αδιάστατες συγκεντρώσεις, αν και η χρονική μονάδα παραμένει.

Τα ισοζύγια μάζας για κάθε συστατικό παρουσιάζονται έπειτα. Όλες οι παράμετροι και οι μονάδες τους καθορίζονται στον πίνακα ονοματολογίας. Κάθε εξίσωση μάζας έχει τον μη σταθερό όρο στο αριστερό σκέλος. Τα διαλυτά οργανικά είδη παρουσιάζονται πρώτα, ακολουθούμενα από τα συστατικά της βιομάζας.

- **Υπόστρωμα:** Η μοριακή διάχυση και η χρησιμοποίηση του υποστρώματος είναι οι μόνες διαδικασίες που έχουν επιπτώσεις στη μάζα υποστρωμάτων σε ένα διαμέρισμα που περιέχει τη βιομάζα. Η αδιάστατη μορφή της μαζικής ισορροπίας του αρχικού υποστρώματος χορηγών είναι:

$$\frac{\partial S}{\partial t} = \underbrace{\frac{D_s}{d^2} \left(\frac{\partial^2 S}{\partial X^2} + \frac{\partial^2 S}{\partial Z^2} \right)}_{\text{2-D S diffusion}} - \underbrace{\rho_S}_{\text{utilization}}$$

- **UAP:**

$$\frac{\partial UAP}{\partial t} = \underbrace{\frac{D_s}{d^2} \left(\frac{\partial^2 UAP}{\partial X^2} + \frac{\partial^2 UAP}{\partial Z^2} \right)}_{\text{2-D UAP diffusion}} + \underbrace{\frac{s_{\max}}{uap_{\max}} k_1 \rho_S}_{\text{UAP formation}} - \underbrace{\rho_{UAP}}_{\text{UAP utilization}}$$

Ο πρώτος όρος αντιπροσωπεύει τη μοριακή διάχυση δύο διαστάσεων του UAP, και ο δεύτερος όρος, ρ_{UAP} , δίνεται από την εξίσωση:

$$\rho_D = \frac{x_{a,max}}{d_{max}} \hat{q}_D \cdot \left(\frac{D}{\frac{K_D}{d_{max}} + D} \right) \cdot \left(\frac{O_2}{\frac{K_{O_2}}{O_{2,max}} + O_2} \right) X_a$$

για UAP, δηλαδή όπου D (donor substrate—δότης ηλεκτρονίων) εννοείται το UAP.

- **BAP:**

$$\frac{\partial BAP}{\partial t} = \underbrace{\frac{D_s}{d^2} \left(\frac{\partial^2 BAP}{\partial X^2} + \frac{\partial^2 BAP}{\partial Z^2} \right)}_{\text{2-D BAP diffusion}} + \underbrace{k_{hyd} EPS}_{\text{EPS formation}} - \underbrace{\rho_{BAP}}_{\text{BAP utilization}}$$

Ο πρώτος όρος αντιπροσωπεύει τη μοριακή διάχυση δύο διαστάσεων του BAP, και ο δεύτερος όρος, ρ_{BAP} , δίνεται από την εξίσωση:

$$\rho_D = \frac{x_{a,max}}{d_{max}} \hat{q}_D \cdot \left(\frac{D}{\frac{K_D}{d_{max}} + D} \right) \cdot \left(\frac{O_2}{\frac{K_{O_2}}{O_{2,max}} + O_2} \right) X_a$$

για BAP, δηλαδή όπου D (donor substrate—δότης ηλεκτρονίων) εννοείται το BAP.

- **Ενεργός βιομάζα (X_a):**

$$\frac{\partial X_a}{\partial t} = \underbrace{Y_S (1 - k_I - k_{EPS}) \frac{S_{max}}{X_{a,max}} \rho_S}_{\text{synthesis from S}} + \underbrace{Y_P \frac{uap_{max}}{X_{a,max}} \rho_{UAP}}_{\text{synthesis from UAP}} + \underbrace{Y_P \frac{bap_{max}}{X_{a,max}} \rho_{BAP}}_{\text{synthesis from BAP}} - \underbrace{b X_a}_{\text{endogenous decay}} - \underbrace{b_{det} X_a}_{\text{detachment}}$$

Στην εξίσωση αυτή, όλες οι εκφράσεις του ποσοστού χρησιμοποίησης υποστρωμάτων χορηγών S, UAP, και BAP δίνονται από την εξίσωση με τους ρυθμούς ρ να δίνονται από την παραπάνω εξίσωση, όπως εξηγείται για το UAP και BAP.

Επίσης, υποθέτουμε ότι η αποσύνθεση βιομαζών δεν επηρεάζεται από το οξυγόνο. Τέλος, υιοθετούμε έναν συντελεστή πρώτης τάξης αποκόλλησης b_{det} μόνο στο κορυφαίο στρώμα βιοφίλμ, για να εκφράσουμε την αργή διάβρωση του βιοφίλμ από τις δυνάμεις που ενεργούν πάνω του από το κινούμενο ρευστό που το περιβάλλει.

- **Πραγματική αδρανής βιομάζα:**

$$\frac{\partial X_{res}}{\partial t} = \underbrace{b(1-f_d)X_a}_{\text{formation of inert biomass}}$$

- **EPS:**

$$\frac{\partial EPS}{\partial t} = \underbrace{k_{EPS} \frac{s_{max}}{eps_{max}} \rho_S}_{\text{EPS formation}} - \underbrace{k_{hyd} EPS}_{\text{EPS hydrolysis}}$$

Ακριβώς όπως με την ενεργό βιομάζα, υποθέτουμε ότι η υδρόλυση EPS μπορεί να προχωρήσει ακόμη και ελλείψει του οξυγόνου.

- **Οξυγόνο:**

$$\frac{\partial O_2}{\partial t} = -\left(\hat{r}_s - \hat{r}_s \cdot \hat{q}_s \cdot X_a \cdot \frac{S}{k_s + S} \cdot \frac{O}{k_o + O}\right) - (1-Y_p)(\hat{q}_b \cdot X_a \cdot \frac{B}{k_b + S} \cdot \frac{O}{k_o + O}) - (1-Y_p)(\hat{q}_b \cdot X_a \cdot \frac{B}{k_b + S} \cdot \frac{O}{k_o + O})$$

Όλες οι εξισώσεις συγκεντρώνονται στον εξής στοιχειομετρικό πίνακα:

Πίνακας 3. Στοιχειομετρικός πίνακας μοντέλου UMCCA στον οποίο περιγράφονται όλες οι σχετικές μεταβλητές και ρυθμοί του μοντέλου.

Process	S	O	UAP	BAP	EPS	X_a	X_{res}	Rate
S utilization	-1	$-(1-Y_s)$	K_{uap}	0	k_{eps}	$Y_s(1-k_1-k_{eps})$	0	$\hat{q}_s \cdot X_a \cdot \frac{S}{k_s + S} \cdot \frac{O}{k_o + O}$
UAP utilization	0	$-(1-Y_p)$	-1	0	0	Y_p	0	$\hat{q}_u \cdot X_a \cdot \frac{U}{k_u + S} \cdot \frac{O}{k_o + O}$
BAP utilization	0	$-(1-Y_p)$	0	-1	-1	Y_p	0	$\hat{q}_b \cdot X_a \cdot \frac{B}{k_b + S} \cdot \frac{O}{k_o + O}$
EPS utilization	0	0	0	1	0	0	0	$R_{Hyd} \cdot X_a$
Biomass decay	0	0	0	0	0	-1	$(1-f_d)$	$b_{dec} \cdot X_a$

2.2.1.3. Αλγόριθμος Επίλυσης

Για κάθε κελί, που αναφέρεται ως «διαμέρισμα» (compartment) σε αυτό το μοντέλο, παρακολουθούμε μια σειρά ποσοτήτων: $S^{i,j}$ (συγκέντρωση υποστρώματος), $UAP^{i,j}$ (συγκέντρωση UAP), $BAP^{i,j}$ (συγκέντρωση BAP), $O_2^{i,j}$ (συγκέντρωση διαλυμένου οξυγόνου), $X_a^{i,j}$ (ενεργός πυκνότητα βιομαζών), $EPS^{i,j}$ (συγκέντρωση EPS), $X_{res}^{i,j}$ (πυκνότητα αδρανούς βιομάζας), $CompDen^{i,j}$ [ML⁻³] (σύνθετη πυκνότητα βιοφίλμ), και $Bioage^{i,j}$ βιομαζών [T] («ηλικία» κάθε διαμερίσματος βιοφίλμ, δηλ., χρονική περίοδος από το σχηματισμό της βιομάζας στο συγκεκριμένο διαμέρισμα). Όλες οι ποσότητες, εκτός από τη σύνθετη πυκνότητα και την ηλικία, είναι αδιάστατες και παίρνουν τις πραγματικές τιμές μεταξύ 0 και 1.

Η σύνθετη πυκνότητα υπολογίζεται πολλαπλασιάζοντας το λόγο συγκέντρωσης κάθε στερεού είδους με τη μέγιστη πυκνότητά του.

$$CompDen^{i,j} = X_a^{i,j} x_{max} + EPS^{i,j} eps_{max} + X_{res}^{i,j} x_{res,max}$$

Η εξίσωση υπογραμμίζει ότι κάθε διαμέρισμα περιέχει και τα τρία τμήματα βιομαζών, κάθε ένα σε ένα μοναδικό μέρος της μέγιστης πυκνότητάς του. Κάθε διαμέρισμα είναι ομοιογενές όσον αφορά τα τμήματα βιομάζας. Κατά συνέπεια, το διαμέρισμα είναι η μικρότερη μονάδα της βιομάζας με μια ομοιογενή σύνθεση. Ο τρόπος που η «ηλικία» της βιομάζας σε κάθε διαμέρισμα υπολογίζεται εξηγείται στις επόμενες παραγράφους.

Η λύση αρχίζει με τους αρχικούς όρους για όλα τα συστατικά σε όλα τα διαμερίσματα. Οποιοσδήποτε συνδυασμός αρχικών όρων είναι δυνατός. Εντούτοις, θέτουμε τους ακόλουθους τυποποιημένους αρχικούς όρους. Για όλα τα διαμερίσματα, $S^{i,j}=1.0$, που δείχνει ότι το μέγιστο υπόστρωμα είναι αρχικά διαθέσιμο σε όλη την περιοχή. Όλες οι άλλες ποσότητες, εκτός από την ενεργά βιομάζα και το οξυγόνο τίθενται μηδέν. Το υπόστρωμα έπειτα τυχαία «σπέρνεται» με ενεργή βιομάζα.

Τα μισά από τα διαμερίσματα που πρόσκεινται στο υπόστρωμα (δηλ., 35 από τα 70) επιλέγονται τυχαία και «εμβολιάζεται» με ένα ποσό ενεργού βιομάζας που επιλέγεται τυχαία μεταξύ 0.5 και 1.0 για κάθε διαμέρισμα. Αυτός ο εμβολιασμός μιμείται μια αρχική τυχαία και ετερόκλητη σύνδεση της βιομάζας στο υπόστρωμα.

Στο υπόστρωμα και στους πλευρικούς τοίχους του διαμορφωμένου διαστήματος υποτίθεται μηδενική ροή, δηλ., $\frac{\partial S}{\partial X} = 0$ και $\frac{\partial S}{\partial Z} = 0$ σε αυτά τα όρια. Αυτό σημαίνει ότι το υπόστρωμα και οι πλευρικοί τοίχοι είναι απολύτως στεγανοί στο υπόστρωμα.

Η εξίσωση μάζας υποστρώματος λύνεται έπειτα για όλες τις θέσεις για να καθορίσει το πεδίο υποστρωμάτων στο χρόνο $t + t_b$, ενώ το πεδίο βιομάζας κρατιέται σταθερό. Αυτός ο υπολογισμός επαναλαμβάνεται έπειτα έως ότου συγκλίνει η συγκέντρωση υποστρωμάτων σε μια σταθερή κατάσταση. Ο αριθμός χρονικών βημάτων που χρησιμοποιείται είναι τόσο όσοι απαιτούνται για να επιτευχθεί σταθερή κατάσταση για το πεδίο υποστρώματος - συγκέντρωσης, με την πυκνότητα βιομαζών να παραμένει αμετάβλητη, ή «παγωμένη». Αυτή η στρατηγική πετυχαίνει, επειδή η αύξηση της βιομάζας είναι πολύ αργή σε σύγκριση με τη διάχυση και την κατανάλωση υποστρωμάτων (Kissel et al., 1984 Rittmann and Brunner, 1984 Wanner and Gujer, 1986). Κατά συνέπεια, η συγκέντρωση υποστρωμάτων φθάνει σε σταθερή κατάσταση σε έναν χρόνο που είναι τόσο γρήγορος που η αύξηση ή η απώλεια βιομαζών είναι αμελητέα. Παραδείγματος χάριν, το χρονικό βήμα t_s που χρησιμοποιείται για να λυθεί το πεδίο του υποστρώματος είναι περίπου 1 sec, ενώ το χρονικό βήμα για τις αλλαγές στη βιομάζα, δt_b , είναι συνήθως 1000 sec (Picioreanu et al., 1998a). Για να λυθεί το πεδίο του υποστρώματος με αριθμητική μέθοδο, η εξίσωση μάζας υποστρώματος αντιμετωπίζεται ως διαφορική και λύνεται έπειτα με την αριθμητική μέθοδο *alternating-direction implicit method*, όπως στο σχέδιο που παρουσιάζεται από Picioreanu et al. (1998a).

Η εξέλιξη της συγκέντρωσης βιομάζας σε κάθε διαμέρισμα, που χρησιμοποιεί το νέο πεδίο υποστρωμάτων, υπολογίζεται έπειτα. Το χρονικό βήμα είναι σε αυτήν την περίπτωση t_b , σε αντιδιαστολή με το πολύ μικρότερο χρονικό βήμα που χρησιμοποιείται στην προηγούμενη διαδικασία για να λάβει το πεδίο υποστρώματος σταθερής κατάστασης. Μόλις υπολογιστεί το πεδίο συγκέντρωσης βιομάζας, όλες οι άλλες ποσότητες μπορούν να υπολογιστούν.

Σε αυτό το σημείο, δηλ., μόλις ληφθεί το νέο πεδίο συγκέντρωσης βιομάζας, η μήτρα *Bioage*^{1j} ενημερώνεται. Αρχικά, αυτή η μήτρα τίθεται στα 0 sec. Μετά από μια επανάληψη, και από την παρερχόμενη περίοδο είναι $t_b = 1000$ sec, όλα τα διαμερίσματα που έχουν κάποια βιομάζα, αυξάνουν το *bioage* τους κατά 1000 sec. Τα κενά διαμερίσματα είναι ακόμα σε ένα *bioage* 0 sec. Όταν η 2^η επανάληψη ολοκληρώνεται,

όλα τα κατελιημμένα διαμερίσματα αυξάνουν το bioage τους έως 2000 sec, και έπειτα 3000 sec με τη 3^η επανάληψη, κ.ο.κ.. Όταν ένα μη κατελιημμένο διαμέρισμα γίνεται κατελιημμένο σε κάποιο βαθμό, το bioage του αλλάζει από 0 έως 1000 s και αυξήσεις αναλόγως έκτοτε. Κατά συνέπεια, οποιαδήποτε στιγμή, το βιοφίλμ αποτελείται από τα διαμερίσματα που έχουν διαφορετικά bioages: συχνότερα, τα κορυφαία στρώματα έχουν το «νεώτερο» βιοφίλμ, ενώ τα κατώτατα στρώματα έχουν το «παλαιότερο» βιοφίλμ. Τα συγκεκριμένα διαμερίσματα που επιλέχθηκαν τυχαία για να σπαρθούν με τη βιομάζα πρώτα (σε time=0) έχουν το «παλαιότερο» βιοφίλμ, δεδομένου ότι το bioage τους είναι το ίδιο με την παρερχόμενη περίοδο του μοντέλου.

Ο αλγόριθμος cellular automaton περιλαμβάνει μια καινοτόμο ιδέα, την εφαρμογή της παγιοποίησης. Από μαθηματική άποψη, η παγιοποίηση εφαρμόζεται με την αναλογία σταθεροποίησης U_c , η οποία καθορίζει το βαθμό στον οποίο η μέγιστη σύνθετη πυκνότητα ενός διαμερίσματος έχει συμπυκνωθεί προς ένα απόλυτο μέγιστο για ένα βιοφίλμ που έχει φθάσει στο όριο παγιοποίησής του. Ως εκ τούτου, η μέγιστη αξία του παράγοντα σταθεροποίησης είναι 1.0, δηλώνοντας ότι το biofilm έχει φθάσει σε μια απόλυτη μέγιστη πυκνότητα που αντιστοιχεί στη μέγιστη δυνατή απομάκρυνση του νερού. Η παγιοποίηση στο μοντέλο UMCCA αντιπροσωπεύεται από τις εξισώσεις

$$U_c = 1 - 0.982 \exp(-0.0315 t_c) \text{ και}$$

$$\ln(1 - U_c) = \ln 0.982 - 0.0315 t_c$$

οι οποίες προσαρμόστηκαν από την καθιερωμένη θεωρία παγιοποίησης. Το κλειδί για την εφαρμογή είναι εδώ η δευτεροβάθμια σταθεροποίηση, η οποία είναι μια μη αναστρέψιμη, μη γραμμική πύκνωση ή ερπυσμός. Η δευτεροβάθμια παγιοποίηση αντιπροσωπεύεται από τη σταθερά ερπυσμού $\eta = 0,0315 \text{ (T}^{-1}\text{)}$ και το μέρος της συνολικής σταθεροποίησης που είναι δευτεροβάθμια, $B = 0,982$.

Κατά τη χρησιμοποίηση των αρχών και των μαθηματικών της παγιοποίησης στα πλαίσια αυτής της εργασίας, προσαρμόζουμε τις έννοιες από τον τομέα της μηχανικής απομάκρυνσης νερού των λασπών, των πηλών, και των χωμάτων. Επομένως, οι πιέσεις που εφαρμόζονται στο biofilm από το κινούμενο ρευστό είναι συνήθως πολύ μικρότερες από εκείνοι που εφαρμόζονται σε ένα μηχανικό σύστημα. Τα αποτελέσματα της δευτεροβάθμιας σταθεροποίησης συμβαίνουν επειδή οι μικρές πιέσεις συνδυάζονται με τη δόνηση λόγω της διακύμανσης πίεσης. Κατά συνέπεια, το χρονικό διάστημα για τη

παγιοποίηση του biofilm είναι πιο μακροχρόνιο από το σύννητες για τη μηχανική σταθεροποίηση των λασπών και των πηλών. Αυτό το μεγαλύτερο χρονικό διάστημα αντιπροσωπεύεται με μια σχετικά μικρή αξία του η (0.0315/h), η οποία δείχνει ένα πολύ ελαστικό υλικό (που χρησιμοποιείται για να αντιπροσωπεύσει τον αμετάκλητο ερπυσμό), και έτσι μια αργή σταθεροποίηση. Εντούτοις, σχεδόν όλη η διαδικασία παγιοποίησης είναι δευτεροβάθμια, η οποία αντιπροσωπεύεται από τη μεγάλη αξία του B (0.982). Το $B=0.982$ σημαίνει ότι μόνο περίπου 2% της συνολικής παγιοποίησης εμφανίζεται ως αρχική παγιοποίηση, η οποία έχει γραμμική συμπεριφορά. Το υπόλοιπο 98% εμφανίζεται ως δευτεροβάθμια παγιοποίηση, η οποία είναι μη γραμμικός ερπυσμός. Η μικρή αξία του η , που δείχνει την αργή παγιοποίηση, είναι σύμφωνη με τη μεγάλη αξία του B, η οποία δείχνει μια ανελαστική λάσπη.

Στο μοντέλο UMCCA, ο χρόνος σταθεροποίησης (t_c) είναι το bioage κάθε διαμερίσματος. Επομένως, το biofilm αποτελείται από διαμερίσματα που αντιστοιχούν στους διαφορετικούς βαθμούς σταθεροποίησης, δηλ., έχουν υποστεί την πίεση παγιοποίησης για διαφορετικούς χρόνους και, επομένως, έχουν διαφορετικές τιμές U_c . Τα κατώτατα διαμερίσματα, επειδή περιέχουν κανονικά το ωριμότερο biofilm με τα μεγαλύτερα bioages, παγιώνονται περισσότερο από τα κορυφαία διαμερίσματα, τα οποία έχουν τα νέα biofilms που είχαν το ελάχιστο χρόνο παγιοποίησης. Κατά συνέπεια, το μοντέλο UMCCA οδηγεί φυσικά σε μια κατάσταση στην οποία τα εξωτερικά στρώματα του biofilm είναι σχετικά χαλαρά, ενώ τα κατώτατα στρώματα είναι.

Το UMCCA χρησιμοποιεί την παγιοποίηση U_c για να προσδιορίσει το πότε ένα διαμέρισμα έχει περίσσεια βιομάζας. Συγκεκριμένα, η περισσευούμενη βιομάζα αναδιανέμεται όταν

$$X_a^{i,j} + \text{EPS}^{ij} + X_{res}^{ij} > U_c$$

Για να λυθεί η εξίσωση μάζας - βιομάζας και όλες τις υπόλοιπες εξισώσεις μάζας, χρησιμοποιούμε τη διακριτή μορφή της εξίσωσης ισορροπίας μάζας, $\frac{\delta A}{\delta t_b} = B$ στην οποία το A είναι ένα στέρεο συστατικό, B είναι το χρονικό παράγωγο του A, και δt_b είναι το χρονικό βήμα. Η λύση προχωρά με βήμα δt_b .

$$A^{t+\delta t_b} = A^t + B^t \delta t_b$$

Το γραμμένο στο επάνω μέρος t δείχνει την τιμή της μεταβλητής A στο χρόνο, και το $t+\delta t_b$ δείχνει την τιμή αυτής της μεταβλητής στο επόμενο βήμα, δηλ. $t+\delta t_b$. Η ενεργός συγκέντρωση βιομαζών υπολογίζεται πρώτα, και έπειτα οι εξισώσεις των στερεών υπολογίζονται κατά τρόπο παρόμοιο, χρησιμοποιώντας το πεδίο υποστρώματος και το υπολογισμένο πεδίο ενεργούς βιομάζας.

2.2.1.4. Προβλέψεις του μοντέλου UMCCA και πειραματικά δεδομένα

Για να επικυρωθούν οι προβλέψεις του μοντέλου UMCCA, οι Laspidou and Rittmann, 2004b, σύγκριναν τα αποτελέσματα με τα πειραματικά δεδομένα των Bishop et al. (1995), οι οποίοι διεξήγαγαν πειράματα με βιοφίλμ και μέτρησαν τις πυκνότητες αφού το έκοψαν σε υμένια των 10 έως 20 μικρόμετρα, σε διεύθυνση παράλληλη στην επιφάνεια προσκολλησεως. Έτσι οι διαφορετικές πυκνότητες στα υμένια που πάρθηκαν από κοντά στο υγρό, και σε αυτά κοντά στην επιφάνεια προσκολλησεως μπορούσαν να αναγνωριστούν. Τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν μόνο με λεπτά, αερόβια βιοφίλμ, καθώς τα χονδρότερα βιοφίλμ σίγουρα γίνονται αναερόβια στα κατώτερα στρώματα τους. Το μοντέλο UMCCA στη συγκεκριμένη του μορφή δεν μπορεί να περιγράψει αναερόβιες στοιβάδες. Όλες οι κινητικές παράμετροι πάρθηκαν είτε από την ενοποιημένη θεωρία, είτε από τυπικές τιμές για ετερότροφα βακτήρια (Rittmann & McCarty, 2001).

Το μοντέλο ακολούθησε πολύ καλά τα πειραματικά δεδομένα. Για παράδειγμα, οι πυκνότητες του βιοφίλμ κοντά στην επιφάνεια προσκολλησεως, όπως προβλέφθηκαν από το UMCCA, ήταν 5 έως 10 φορές μεγαλύτερες από τις πυκνότητες της κορυφής. Αυτό συμβαίνει επειδή το βιοφίλμ εκεί είναι γηραιότερο. Αυτό σημαίνει ότι υπήρξε αρκετός χρόνος ώστε το βιοφίλμ να συνενωθεί περισσότερο. Στα πειράματα είχε επίσης μετρηθεί η πυκνότητα της συνολικής βιομάζας και της ενεργής βιομάζας. Η ενεργός βιομάζα κοντά στην επιφάνεια προσκολλησεως έγινε σημαντικά μικρότερη από τη συνολική και η διαφορά ήταν μεγαλύτερη για γηραιότερα βιοφίλμ. Με αλλά λόγια, τα πειράματα έδειξαν ότι η αδρανής βιομάζα (η διάφορα της συνολικής από την ενεργή) έδειξε την τάση να συγκεντρώνεται στα κατώτερα στρώματα, ενώ ήταν σχεδόν μηδενική κοντά στην κορυφή. Το ίδιο παρατηρήθηκε επίσης από τους Rittmann & Manem (1992), Cooke et al. (1999) και Ohashi et al. (1999). Το UMCCA προέβλεψε ακριβώς αυτήν την τάση της αδρανούς βιομάζας.

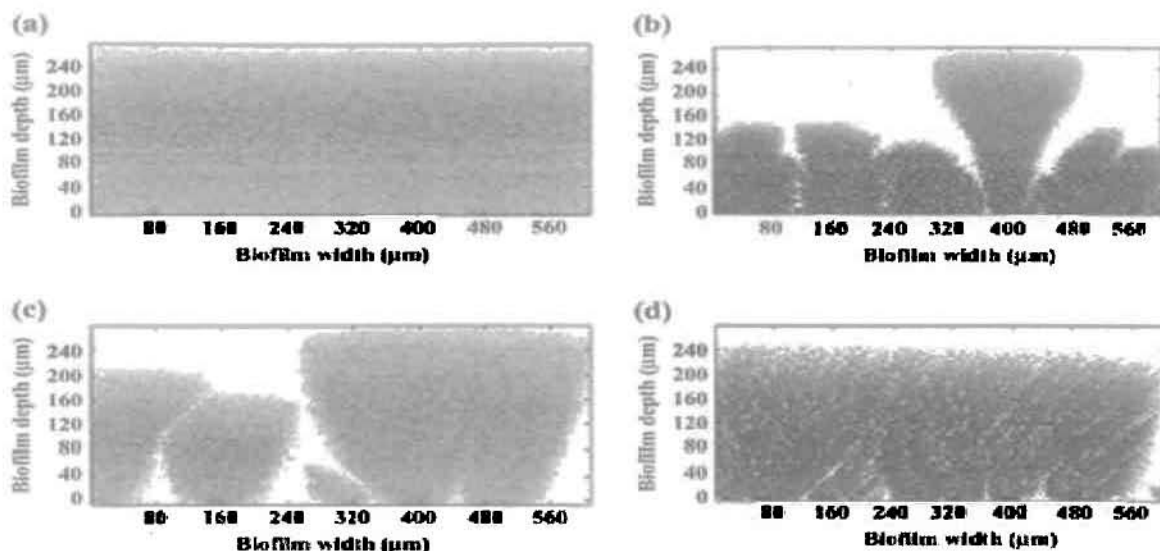
Στο σχήμα 7 φαίνονται αποτελέσματα του μοντέλου σύνθετης πυκνότητας, με συγκεκριμένες αρχικές συνθήκες. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται σε αποχρώσεις του γκρι, με το μαύρο να αντιπροσωπεύει τοποθεσία του βιοφίλμ πληρωμένη 100%, ενώ το άσπρο αντιπροσωπεύει άδειο κελί. Οι ενδιάμεσες αποχρώσεις δείχνουν περιοχή με ενδιάμεσο ποσοστό πλήρωσης.

Το σχήμα 7 επίσης δείχνει τις διαφορές στη φυσική δομή του βιοφίλμ ανάλογα με τις διαφορετικές συνθήκες. Το βιοφίλμ μπορεί να αναπτυχτεί σε επίπεδους σχηματισμούς, σε μανιταροειδείς σχηματισμούς, σε επιπέδους σχηματισμούς με κενά κοντά στην επιφάνεια προσκολλησεως, κ.α.. Το σχήμα 7b και 7d δείχνουν βιοφίλμ με μεγαλύτερες πυκνότητες στο πάνω μέρος, ενώ τα σχήματα 7a και 7c δείχνουν μεγαλύτερες πυκνότητες στο κάτω μέρος και γενικά πιο ομογενείς πυκνότητες σε ολόκληρη τη στήλη. Αλλά γιατί είναι τόσο διαφορετικά σε σχέση με την πυκνότητα και την ετερογένεια;

Το γράφημα σύνθετης πυκνότητας στο σχήμα 7b είναι πολύ διαφορετικό από αυτό στο 7a, αφού είναι αποτέλεσμα μιας προσομοίωσης με μικρότερη συγκέντρωση υποστρώματος. Τα μικρότερα επίπεδα υποστρώματος οδήγησαν σε μικρότερους ρυθμούς ανάπτυξης του βιοφίλμ, διαδικασία που διήρκεσε 221 μέρες. Στην επιφάνεια προσκολλησεως, η συγκέντρωση υποστρώματος είναι σχεδόν μηδενική, και η ενεργή βιομάζα είχε αρκετό χρόνο, ώστε να αποσυντεθεί σε αδρανή βιομάζα. Στο σχήμα 7b φαίνεται ένα κομμάτι που εξέχει του υπόλοιπου βιοφίλμ. Αυτό συμβαίνει διότι, εφόσον κάποιο κομμάτι καταφέρει να αναπτυχτεί επαρκώς ώστε να δημιουργήσει μια μικρή προεξοχή, μεταφοράς εκτίθεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση υποστρώματος από το υπόλοιπο βιοφίλμ, συνεπώς έχει ένα αυξημένο ρυθμοί ανάπτυξης και συνεχίζει να μεγαλώνει γρηγορότερα.

Το σχήμα 7c δείχνει ότι μια δοκιμή με υψηλό ρυθμοί αποκόλλησης χρειάστηκε 30 ημέρες για να πληρώσει το πεδίο. Η δοκιμή ήταν σχετικά σύντομη, επειδή σύνθετη πυκνότητα είναι μικρή, που σημαίνει ότι λιγότερη βιομάζα χρειάζεται για να πληρώσει το πεδίο. Το βιοφίλμ έχει μικρότερη αναλογία αδρανούς βιομάζας (που είναι και το στερεό με τη μεγαλύτερη πυκνότητα), επειδή η απώλεια ενεργούς βιομάζας είναι αποκόλλησης αντίσταση για αποσύνθεση.

Στο σχήμα 7d απεικονίζεται μια δοκιμή με χαμηλά επίπεδα οξυγόνου που τερμάτισε σε 195 ημέρες. Σε απουσία οξυγόνου σταματήσει η δημιουργία ενεργής βιομάζας, ενώ η αποσύνθεση της (μια διαδικασία που δεν απαιτεί οξυγόνο) συνεχίζει.



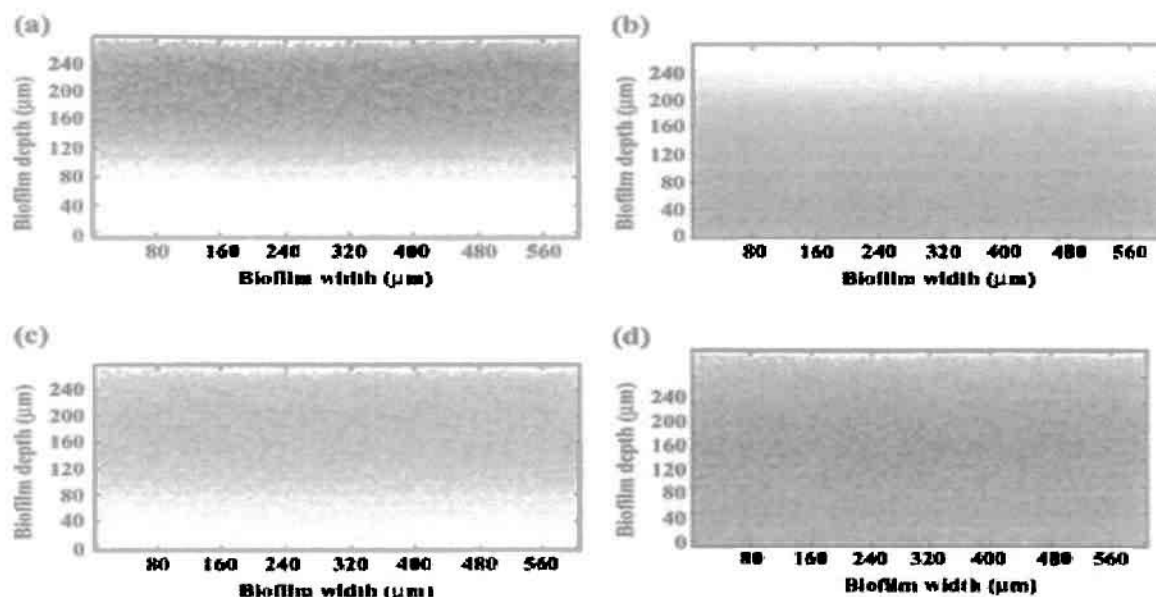
Σχήμα 7: Αποτελέσματα μοντέλου σύνθετης πυκνότητας: (a): τυπικές συνθήκες (24.5 ημέρες), (b): χαμηλή συγκέντρωση υποστρώματος (221 ημέρες), (c): υψηλός ρυθμός αποκόλλησης (30 ημέρες), (d): χαμηλή συγκέντρωση οξυγόνου (195 ημέρες)

Σαν αποτέλεσμα, το μεγαλύτερο μέρος του βιοφίλμ είναι σχεδόν αποκλειστικά αδρανές, με κενά στη βάση του που δεν γινόταν να πληρωθούν λόγω της έλλειψης οξυγόνου.

Το σχήμα 8 δείχνει χωριστά την πυκνότητα του κάθε στερεού που αποτελούν το βιοφίλμ (ενεργή βιομάζα, EPS, και αδρανή βιομάζα) για την σύνθετη πυκνότητα που απεικονίζεται στο σχήμα 7a, που αντιστοιχεί προσομοίωση βιοφίλμ 24.5 ημερών. Το σχήμα 8a μας λέει ότι η ενεργή βιομάζα είναι κοντά στο μηδέν στο κάτω μέρος του βιοφίλμ, αφού είχε αρκετό χρόνο να αποσυντεθεί σχεδόν ολοκληρωτικά σε αδρανή βιομάζα, η συγκέντρωση της οποίας φαίνεται στο σχήμα 8b. Εδώ η αιτία είναι ότι το βιοφίλμ σε αυτό το σημείο είναι νέο και δεν είχε το χρόνο να γεμίσει όλο το χώρο και να εδραιωθεί. Άρα, η πυκνότητα της ενεργής βιομάζας κορυφώνεται περίπου στο ένα τέταρτο του βάθους, όπου έχει περάσει αρκετός χρόνος ώστε να συντεθεί νέο βιοφίλμ, αλλά όχι τόσο ώστε να κυριαρχήσει η αποσύνθεση. Αδρανής βιομάζα, που απεικονίζεται στο σχήμα 8b, παράγεται μόνον όταν έχει παραχθεί ενεργή βιομάζα, και είχε το χρόνο να αποσυντεθεί.

Το σχήμα 8c δείχνει ότι η πυκνότητα του EPS ακολουθεί την πυκνότητα της ενεργής βιομάζας. Ενώ η συνολική πυκνότητα, σχήμα 8d, είναι σύνθεση και των τριών πυκνοτήτων, που το μέγιστο της είναι περίπου στο μέσον του βιοφίλμ. Στο συγκεκριμένο παράδειγμα η συνολική πυκνότητα δεν είναι ιδιαίτερα υψηλή, αφού το βιοφίλμ είναι σχετικά νέο, μόλις 24.5 ημερών.





Σχήμα 8: Πυκνότητα συστατικών βιοφίλμ για το δοκίμιο που φαίνεται στο σχήμα 7(b): (a): πυκνότητα ενεργών, (b): πυκνότητα αδρανών (c): πυκνότητα EPS, (d): σύνθετη πυκνότητα

2.2.1.5 Το μοντέλο UMCCA και οι μηχανικές ιδιότητες

Ένα νέο χαρακτηριστικό που προστέθηκε στο UMCCA είναι η ικανότητα να συνδέει μια φυσική ιδιότητα – όπως η σύνθετη πυκνότητα ή η πυκνότητα ενεργής βιομάζας, EPS, και αδρανούς βιομάζας – με τις μηχανικές ιδιότητες του βιοφίλμ, κυρίως τη σταθερά του Young και το λόγο του Poisson, που ποικίλουν στο χώρο και στο χρόνο. Έτσι, μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε το μοντέλο UMCCA για να προβλέψουμε μηχανικές ιδιότητες του βιοφίλμ. Η σημασία αυτού είναι ότι μπορεί να αποκτήσουμε βαθύτερη γνώση στο φαινόμενο της αποκόλλησης του βιοφίλμ, που μπορεί να εκληφθεί ως μηχανική αστοχία της δομής του βιοφίλμ. Φυσικές αιτίες της αποκόλλησης περιλαμβάνουν δυνάμεις που ασκούνται πάνω στο ίδιο το βιοφίλμ, που πιθανότατα προέρχονται από το υγρό που το περιβάλλει και κινείται γύρω του. Εφόσον το βιοφίλμ είναι ετερογενές, είναι λογικό να υποθεθεί ότι ούτε οι μηχανικές του ιδιότητες είναι ομογενείς. Έτσι μια ανάλυση που προβλέπει τις μηχανικές ιδιότητες σε ένα βιοφίλμ, είναι αναγκαία για να καταλάβουμε το πότε, το που και το γιατί θα συμβεί η αποκόλληση. Στο τρίτο κεφάλαιο αναφέρεται λεπτομερώς η περιγραφή του μοντέλου που προσομοιώνει τις μηχανικές ιδιότητες του βιοφίλμ.

2.2.2. Μοντέλα IbM: Το πλαίσιο μοντελοποίησης TUDelft

Τα πολυδιάστατα μοντέλα προσφέρουν τη δυνατότητα να παραχθούν ιδιότητες που προέρχονται σιωπηρά από τις βασικές αρχές. Διάφορες προσεγγίσεις στην πολυδιάστατη διαμόρφωση των δομών των βιοφίλμ μπορούν προς το παρόν να βρεθούν στη βιβλιογραφία (δείτε Picioreanu and Van Loosdrecht, 2003 και Picioreanu et al., 2004). Η βασισμένη στο άτομο προσέγγιση μοντελοποίησης (IbM, Kreft et al., 1998, 2001) παρέχει μια αντιπροσώπευση της βιομάζας όπως αυτή συντίθεται από τα πολλαπλά σφαιρικά σωματίδια που ενεργούν ανεξάρτητα, ανάλογα στο πώς τα βακτηριακά βιοφίλμ συντίθενται από τα πολλαπλά μεμονωμένα βακτηριακά κύτταρα.

Σε αυτήν την από τα κάτω προς τα επάνω προσέγγιση, η συμπεριφορά των μονάδων καθορίζεται ρητά με ένα σύνολο κανόνων που μιμείται τη συμπεριφορά των μεμονωμένων βακτηριακών κυττάρων, δηλ. ανάπτυξη μέσω της κατανάλωσης υποστρώματος, αναπαραγωγή μέσω της κυτταροδιαίρεσης, παραγωγής των μεταβολιτών, κ.λπ. Η μεγάλης κλίμακας δυναμική του προσομοιαζόμενου biofilm δημιουργείται από τις αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στις μονάδες (μικροοργανισμοί) όπως αυτοί αναπτύσσονται και αναπαράγονται. Το IbM έχει εφαρμοστεί προηγουμένως στη μοντελοποίηση της ανάπτυξης βακτηριακών αποικιών (Kreft et al., 1998), στα biofilms πολλών ειδών (Kreft et al., 2001 Picioreanu et al, 2004), στο σχηματισμό EPS από τα biofilms (Kreft and Wimpenny) κ.α.

Η προσέγγιση που προτείνεται εδώ επεκτείνεται στις έννοιες που ενσωματώνονται από προηγούμενη εργασία (Picioreanu et al., 1998, 1999, 2001, 2004 Kreft and Wimpenny, 2001 Kreft et al., 2001) για να παρέχουν ένα πλαίσιο όπου οποιοσδήποτε τύπος κινητικής αλληλεπίδρασης μικροβίων/τροφίμων μπορεί να εφαρμοστεί, μαζί με οποιοδήποτε αριθμό διαλυτής ουσίας και σχετικών μοριακών ειδών. Διάφορες προηγούμενες προσεγγίσεις στην πολυδιάστατη μοντελοποίηση των βιοφίλμ έχουν παράσχει τις δομημένες ή περιγραφές βιομάζας πολλαπλών ειδών (multispecies) (Noguera et al., 1999, 2000 Kreft and Wimpenny, 2001 Laspidou and Rittmann, 2004 Noguera and Picioreanu, 2004 Picioreanu et al, 2004), διαχωρίζοντας τα συστατικά της βιομάζας όπως τα πολλαπλά βακτηριακά είδη, την αδρανή βιομάζα και το EPS. Το παρόν πλαίσιο προσαρμόζει την αναγνωρισμένη ανάγκη για τη μοντελοποίηση δομημένης βιομάζας με αυθαίρετους αριθμούς συστατικών και επεκτείνει το IbM να συμπεριλάβει τη δομημένη βιομάζα. Αυτό επιτρέπει σε οποιονδήποτε αριθμό μοριακών ειδών για να καθοριστεί και η σύνθεση βιομαζών στα πρότυπα που δημιουργούνται

χρησιμοποιώντας αυτό το πλαίσιο μπορεί να είναι όσο λεπτομερής χρειάζεται. Συγκεκριμένες μέθοδοι για την παραγωγή EPS και την έκκριση του μετά από μια προηγούμεως περιγεγραμμένη προσέγγιση (Kreft and Wimpenny, 2001) συμπεριλαμβάνονται επίσης.

Η αποκόλληση της βιομάζας από το βιοφίλμ είναι η κύρια διαδικασία που ισορροπεί μια θετική αύξηση βιοφίλμ (Stewart, 1993). Επομένως, η αποκόλληση είναι κύριας σπουδαιότητας στον καθορισμό των παραμέτρων που επηρεάζουν τη δραστηριότητα του και τη σύνθεση του. Αναγνωρίζοντας τη σημασία της αποκόλλησης στην ανάπτυξη των βιοφίλμ, μια περιγραφή αποκόλλησης βιομάζας ενσωματώθηκε εδώ στο IbM. Το μοντέλο αποκόλλησης που συμπεριλαμβάνεται είναι ευέλικτο για να επιτρέψει την εφαρμογή ποικίλων σεναρίων αποκόλλησης βιομάζας.

Αυτή η ενσωματωμένη μαθηματική περιγραφή των διαδικασιών που περιλαμβάνονται στο σχηματισμό βιοφίλμ χρησιμοποιήθηκε για να παραγάγει ένα πρόγραμμα υπολογιστών για τη δημιουργία πολυδιάστατων μοντέλων βιοφίλμ. Ο όρος πολυδιάστατος χρησιμοποιείται εδώ υπό την έννοια ότι το πλαίσιο επιτρέπει στις χρονικά εξαρτημένες προσομοιώσεις να πραγματοποιηθούν σε χώρο είτε δύο είτε τριών διαστάσεων. Όλες οι ρουτίνες που εφαρμόζονται στο πρόγραμμα λειτουργούν και στις δύο διαστάσεις και στις τρεις, και επομένως η επιλογή της διαστατικότητας των προσομοιώσεων που πραγματοποιούνται αφήνονται στο χρήστη. Το πρόγραμμα είναι διαθέσιμο υπό μορφή βιβλιοθήκης σε γλώσσα Java στον ιστοχώρο (Xavier et al., 2004a) στο [http:// www.biofilms.bt.tudelft.nl/frameworkMaterial/](http://www.biofilms.bt.tudelft.nl/frameworkMaterial/) και μπορεί να χρησιμοποιηθεί εύκολα για να δημιουργήσει νέα πρότυπα βιοφίλμ πολλαπλών μικροβιακών ειδών.

Ένας παράγοντας κύριας σπουδαιότητας στο παρόν μοντέλο είναι η ταξινόμηση των περιληφθέντων ειδών ως είτε μοριακά είδη είτε διαλυτά είδη. Σε αυτήν την ταξινόμηση, που υιοθετείται προηγούμεως από ένα καθιερωμένο μονοδιάστατο μοντέλο βιοφίλμ (Wanner and Gujer, 1986, Wanner and Reichert, to 1996), τα μοριακά είδη περιλαμβάνουν οποιεσδήποτε ουσίες συνθέτουν τη μήτρα του βιοφίλμ, και τα διαλυτά είδη είναι οι ενώσεις που διαλύονται στην υγρή φάση. Τα παραδείγματα των μορίων είναι ενεργός βιομάζα των διαφορετικών βακτηριακών ειδών, αδρανής βιομάζα, εσωτερικά προϊόντα αποθήκευσης όπως το γλυκογόνο ή τα λιπίδια, και EPS. Η δυναμική για τα μόρια περιλαμβάνει την παραγωγή ή την κατανάλωση ως αποτέλεσμα της βιολογικής αφομοίωσης και της συμεταφοράς που προκαλούνται με την εξάπλωση του βιοφίλμ. Οι διαλυτές ουσίες είναι οποιοδήποτε διαλυμένο υπόστρωμα ή μικροβιακό προϊόν σχετικό με το σύστημα. Τα παραδείγματα περιλαμβάνουν το διαλυμένο οξυγόνο,

πηγές άνθρακα (π.χ. γλυκόζη, οξικό άλας, κ.λπ.), πηγές αζώτου ή ουσίες που περιλαμβάνονται στη μεσοκυττάρια σηματοδότηση. Τα είδη διαλυτής ουσίας καταναλώνονται επίσης ή παράγονται στις βιολογικές αντιδράσεις. Η μεταφορά των διαλυτών ουσιών, εντούτοις, εμφανίζεται με τη διάχυση, είτε μέσω του βιοφίλμ είτε στο περιβάλλον υγρό.

Μια διαδικασία βιολογικής αφομοίωσης όπως η αύξηση βακτηριακών ειδών, ενδογενών διαδικασιών αναπνοής ή της παραγωγής των εσωτερικών ενώσεων αποθήκευσης, EPS ή άλλο, ορίζεται εδώ ως μια αντίδραση που περιλαμβάνει οποιοδήποτε αριθμό υποστρωμάτων και μεταβολικών προϊόντων. Τα υποστρώματα (που καταναλώνονται στην αντίδραση) και τα μεταβολικά προϊόντα (που παράγονται στην αντίδραση) μιας αντίδρασης μπορούν να είναι οποιαδήποτε είδη, διαλυτή ουσία ή μόριο, στο σύστημα. Οι αντιδράσεις που καθορίζονται σε αυτό το πλαίσιο έχουν αναλογία πρώτης τάξης με τη συγκέντρωση του μοριακού είδους που μεσολαβεί για την αντίδραση. Για παράδειγμα, το ποσοστό αύξησης της βιομάζας αντιπροσωπεύεται συνήθως ως πρώτη τάξη στη συγκέντρωση των ειδών βιομαζών. Τα ποσοστά καθορίζονται από άποψη μάζας ενός είδους αναφοράς, είτε διαλυτή ουσία είτε μοριακή, το οποίο είναι χαρακτηριστικά ένα είδος που περιλαμβάνεται στη διαδικασία ως υπόστρωμα ή προϊόν. Η ακόλουθη έκφραση είναι το ποσοστό μιας αντίδρασης I στην οποία μεσολαβούν μοριακά είδη:

$$r_i = q_i C_p \quad [M_m L^{-3} T^{-1}]$$

Το ποσοστό καθορίζεται στη συγκέντρωση των ειδών αναφοράς m . Τα είδη αναφοράς και τα μοριακά είδη που μεσολαβούν στην αντίδραση, p , μπορούν να είναι τα ίδια είδη. Ο συντελεστής q_i είναι ο συγκεκριμένος ρυθμός της αντίδρασης i , που καθορίζεται στις μονάδες της μάζας των ειδών αναφοράς m ανά μάζα των μοριακών ειδών p ανά μονάδα χρόνου, $M_m M_p^{-1} T^{-1}$, έχοντας πάντα τις θετικές τιμές. Το C_p είναι η συγκέντρωση των μοριακών ειδών p .

Το συγκεκριμένο ποσοστό αντίδρασης q_i , στη συνέχεια, ορίζεται ως το προϊόν ενός μέγιστου συγκεκριμένου ποσοστού, του q^{max} , και μιας σειράς παραγόντων, που αντιπροσωπεύεται εδώ γενικά από το ϕ_j . Αυτοί οι παράγοντες είναι συνήθως παράγοντες κορεσμού που περιλαμβάνουν μια συνάρτηση της συγκέντρωσης C_j μιας διαλυτής ουσίας j που έχει τη μορφή

$$\phi_{M,j} = \frac{C_j}{C_j + K_j} \text{ [αδιάστατο]}$$

όπου το K_j καλείται σταθερά μισού κορεσμού (παράγοντας κινητικής Monod), ή παράγοντες παρεμπόδισης, οι οποίοι έχουν τη μορφή

$$\phi_{I,j} = \frac{K_j}{C_j + K_j} \text{ [αδιάστατο]}$$

με το K_j να είναι η σταθερά παρεμπόδισης. Οι παράγοντες άλλων μορφών μπορούν να χρησιμοποιηθούν επίσης.

Δεδομένου ότι κάθε παράγοντας παράγει μια αξία μεταξύ 0-1, η εξίσωση θα παραγάγει για το συγκεκριμένο ποσοστό αύξησης q_i μια αξία που είναι ένα μέρος του μέγιστου συγκεκριμένου ποσοστού αύξησης q_i^{\max} . Το καθαρό ποσοστό (r_n) για ένα είδος n , είτε διαλυτή ουσία είτε μόριο, προκύπτει από το άθροισμα των ποσοστών όλων των αντιδράσεων στις οποίες το είδος περιλαμβάνεται, κάθε μια πολλαπλασιαζόμενη με έναν συντελεστή αυτής της αντίδρασης (Y_{nm}) και ένα συντελεστή προσήμου (γ_m). Ο συντελεστής παραγωγής είναι πάντα θετικός και έχει τις μονάδες της μάζας των ειδών n ανά μάζα αναφοράς της αντίδρασης. Ο παράγοντας προσήμου έχει την αξία +1 ή -1 εάν το είδος n , αντίστοιχα, παράγεται ή καταναλώνεται στην αντίδραση. Για ένα είδος n που εμπλέκεται σε πλήθος N αντιδράσεων το R_n γίνεται:

$$R_n = \frac{dC_n}{dt} = \sum_{i=1}^N \gamma_{in} Y_{ni} q_i C_p \text{ [M}_n\text{L}^{-3}\text{T}^{-1}\text{]}$$

Αυτή η εξίσωση για τα ποσοστά bioconversion είναι κατάλληλη για μια περιγραφή των βιοεπεξεργασιών που χρησιμοποιεί τους στοιχειομετρικούς πίνακες, μια έννοια που χρησιμοποιείται συνήθως για να περιγράψει βιολογικές διαδικασίες σε εφαρμογές μηχανικής. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι το μοντέλο ενεργοποιημένης λάσπης αριθ. 2 (Gujer and Larsen, 1995). Η περιπτώσιολογική μελέτη που παρουσιάζεται, χρησιμοποιεί επίσης έναν στοιχειομετρικό πίνακα για να περιγράψει τα ποσοστά αντίδρασης των σχετικών βιοεπεξεργασιών (Πίνακας 4).

Για να συμπεριληφθεί η δομημένη βιομάζα στο IbM, ένας τύπος pDocument καθορίζεται επίσης. Κάθε τύπος pDocument ομαδοποιεί διάφορα μοριακά είδη και καθορίζει τα μόρια που θα αποτελέσουν τα μεμονωμένα μόρια βιομαζών. Οποιοδήποτε μόριο των ετερότροφων βακτηριδίων τύπων pDocument θα έχει μια σύνθεση βιομαζών που περιέχει αυτά τα μοριακά είδη. Η δυναμική της σύνθεσης της βιομάζας ενός τέτοιου οργανισμού θα υπαγορευόταν από τις αντιδράσεις στις οποίες τα δύο μοριακά είδη περιλαμβάνονται.

Πίνακας 4. Στοιχειομετρικός πίνακας μοντέλου TUDelft στον οποίον περιγράφονται όλες οι σχετικές μεταβλητές και ρυθμοί του μοντέλου

Αντίδραση	C _S	C _O	C _{H-PHB}	C _{PHB}	C _{H-EPS}	C _{EPS}	C _I	Ρυθμός
Πρόσληψη Άνθρακα από H-PHB (πλεόνασμα)	-1	$-(1 - Y_{PS})$	0	Y_{PS}	0	0	0	$q_S^{\max} \phi_{M,S} \phi_{M,O} \phi_{I,J_{PHB}} C_{H-PHB}$
Ανάπτυξη H-PHB (πλεόνασμα)	0	$-\left(\frac{Y_{PS}}{Y_{HS}} - 1\right)$	1	$\frac{Y_{PS}}{Y_{HS}}$	0	0	0	$\mu^{\max} \phi_{M,S} \phi_{M,O} X_{H-PHB}$
Λύση H-PHB	0.6	0	-1	0	0	0	0.4	$b_{decay} C_{H-PHB}$
Κατανάλωση PHB (έλειψη)	0	$-(1 - Y_{HP})$	Y_{HP}	-1	0	0	0	$k_{PHB} \phi_{I,S} \phi_{M,O} C_{PHB}$
Πρόσληψη Άνθρακα από H-EPS (έλειψη)	-1	$-(1 - Y_{PS})$	0	0	0	Y_{PS}	0	$q_S^{\max} \dot{J}_{M,S} \dot{J}_{M,O} \dot{J}_{I,J_{EPS}} C_{H-EPS}$
Ανάπτυξη H-EPS (έλειψη)	0	$-\left(\frac{Y_{PS}}{Y_{HS}} - 1\right)$	0	0	1	$\frac{Y_{PS}}{Y_{HS}}$	0	$\mu^{\max} \phi_{M,S} \phi_{M,O} X_{H-EPS}$
Λύση H-EPS	0.6	0	0	0	-1	0	0.4	$b_{decay} C_{H-EPS}$

2.3.2. IbM και ισοζύγια μάζας για τα μοριακά είδη

Η αντιπροσώπευση της βιομάζας που χρησιμοποιεί τους μεμονωμένους πράκτορες αποτελεί τη μικρότερη κλίμακα μιας αντιπροσώπευσης βιοφίλμ πολλαπλής κλίμακας (multiscale biofilm) που χρησιμοποιείται σε αυτό το πλαίσιο, που περιγράφει το βιοφίλμ στη (α) μεμονωμένη κλίμακα, τη (β) biofilm κλίμακα και τη (γ) κλίμακα συστημάτων, όπως διευκρινίζεται. Οι συντελεστές (τα «άτομα»-individuals του Individual-based model) είναι οντότητες που έχουν τη δυναμική σύνθεση βιομάζας και

θέση στο χώρο, και συμπεριφέρονται σύμφωνα με ένα σύνολο κανόνων που μιμούνται τις διαδικασίες που πραγματοποιούνται σε ένα βακτηριακό κύτταρο. Οι συντελεστές αναπτύσσονται με τη λήψη των θρεπτικών ουσιών, παράγουν και εκκρίνουν τους μεταβολίτες όπως EPS, και διαιρούνται μόλις επιτευχθεί ένα κρίσιμο μέγεθος παράγοντας έναν απόγονο. Οι συντελεστές αντιμετωπίζονται καλύτερα ως μόρια βιομαζών παρά σαν μεμονωμένα κύτταρα. Οι συντελεστές κινούνται εάν σπρωχθούν από έναν γειτονικό συντελεστή ή εάν αποκρουσθούν από τη στερεά επιφάνεια. Οι κανόνες συμπεριφοράς των συντελεστών αυτών είναι συγκεκριμένοι. Τα μόρια βιομαζών (αποκαλούμενα συντελεστές) είναι σφαιρικά (σε περίπτωση τρισδιάστατων προσομοιώσεων) ή κυλινδρικά (σε περίπτωση δισδιάστατων προσομοιώσεων) διαμερίσματα, με μεταβλητή σύνθεση και θέση στο χώρο. Ανάλογα με την αξία που επιλέγεται για τη μέγιστη ακτίνα μορίων τα μόρια βιομαζών μπορούν να αντιπροσωπεύσουν είτε ένα μονό κύτταρο είτε μια συστάδα κυττάρων των ίδιων ειδών. Αυτή η αυθαιρεσία είναι μια αριθμητική ευκολία για να επιτρέψει την περιγραφή των μεγαλύτερης κλίμακας συστημάτων χωρίς το προστιθέμενο υπολογιστικό φορτίο της χρησιμοποίησης ενός αυξανόμενου αριθμού συντελεστών. Συνεπώς, επιτρέπει την αντιστοιχία της ανάλυσης της μοριακής ύλης στις ανάγκες κάθε εφαρμογής. Η μάζα κάθε μοριακού είδους που είναι μέρος της σύνθεσης ενός συντελεστή βιομαζών αλλάζει συν τω χρόνω σύμφωνα με την κινητική εξίσωση

$$\frac{dM_n}{dt} = \sum_{i=1}^N \gamma_{in} Y_{ms} q_i M_p \quad [M_n \text{σωματίδιο}^{-1} T^{-1}]$$

Δεδομένου ότι οι μάζες των μορίων αλλάζουν ως συνέπεια τη βιολογικής μεταβολής, επίσης το μέγεθος του πράκτορα θα αλλάξει. Ο όγκος του συντελεστή λαμβάνεται από το άθροισμα των μαζών όλων των μοριακών ειδών που διαιρούνται με την αντίστοιχη συγκεκριμένη μάζα τους (ρ_m):

$$V_{\text{particle}} = \sum_{m=1}^{N_{\text{particulates}}} \frac{M_m}{\rho_m}$$

Στην παραπάνω εξίσωση, “Nparticulates” είναι ο αριθμός μοριακών ειδών που συνθέτουν το συντελεστή, όπως καθορίζεται από τον τύπο pDocument του. Η συγκεκριμένη μάζα ενός μοριακού είδους θέτει τη μέγιστη μάζα εκείνου του είδους ανά όγκο μορίων. Η

εξίσωση είναι θεμελιώδης για το IBM, δεδομένου ότι είναι αρμόδια για τις σημαντικές αλλαγές στο μέγεθος των συντελεστών που εμφανίζονται στην πορεία των προσομοιώσεων. Τέτοιες αλλαγές περιλαμβάνουν όχι μόνο την ανάπτυξη ενός συντελεστή από την παραγωγή της ενεργού βιομάζας αλλά επίσης και του μεγέθους ενός συντελεστή όταν μειώνεται η μάζα του μέσω των διαδικασιών όπως η αποσύνθεση βιομαζών. Η ακτίνα του μορίου καθορίζεται και εξαρτάται από τον αριθμό των διαστάσεων της προσομοίωσης. Για τις τρισδιάστατες προσομοιώσεις, τα μόρια βιομαζών είναι σφαίρες, ενώ (για λόγους διατήρησης της μάζας) τα μόρια δισδιάστατων προσομοιώσεων είναι κύλινδροι με ένα ύψος Lz .

Η αναπαραγωγή ενός συντελεστή συμβαίνει με διχοτόμηση όταν η ακτίνα ενός μορίου φθάσει σε R_{division} . Οι μάζες όλων των μοριακών ειδών που περιλαμβάνονται στον διχοτομούμενο συντελεστή ανακατανέμονται έπειτα μεταξύ των δύο προκύπτοντων συντελεστών. Συγκεκριμένες ρουτίνες αποδίδονται στο EPS, που αντιπροσωπεύεται ως κάψα που περιβάλλει τις υπόλοιπες μοριακές ουσίες σε ένα μόριο βιομαζών. Η έκκριση EPS εμφανίζεται όταν φθάσει το ποσοστό της μάζας του EPS (σε σχέση με τη συνολική μάζα του συντελεστή) σε μια κρίσιμη αξία $f_{\text{EPS,excretion}}$. Η εκκριμένη μάζα παράγει ένα μόριο μόνο με EPS.

2.3.3. Αποκόλληση και άλλες απώλειες βιομάζας

Οι μηχανικές τάσεις που δρουν σε ολόκληρη την επιφάνεια του biofilm, όπως ως η διάβρωση που προκαλείται από τέμνουσες δυνάμεις (Characklis, 1990), διαμορφώνονται εδώ χρησιμοποιώντας μια συνεχή συνάρτηση ταχύτητας αποκόλλησης F_{det} . Αυτή η μέθοδος, που είναι μια πολυδιάστατη επέκταση της μεθόδου που χρησιμοποιείται στο μονοδιάστατο μοντέλο Wanner και Gujer (Wanner and Gujer, 1986) περιγράφεται από την εξίσωση

$$\frac{dX}{dt} = -F_{\text{det}}(x)n(x) \quad [\text{LT}^{-1}]$$

όπου το X είναι η θέση ενός σημείου στη διεπιφάνεια του βιοφίλμ, $F_{\text{det}}(x)$ είναι η αξία της συνάρτησης της ταχύτητας αποκόλλησης σε εκείνο το σημείο και το $n(x)$ είναι το διάνυσμα κάθετο στην επιφάνεια του βιοφίλμ στο σημείο x . Σύμφωνα με τα

πολυδιάστατα χαρακτηριστικά αυτού του πλαισίου διαμόρφωσης, η εξίσωση είναι έγκυρη στις 2 διαστάσεις, όπου το x καθορίζεται από τις συντεταγμένες (x, y) , ή τρισδιάστατα, όπου το x καθορίζεται από τις συντεταγμένες (x, y, z) . Η χρησιμοποιούμενη μέθοδος είναι ευέλικτη για να επιτρέψει στο F_{det} να λάβει διάφορες μορφές, συμπεριλαμβανομένων των εκφράσεων όπου οι τοπικές τιμές $F_{det}(x)$ εξαρτώνται από μεταβλητές όπως η τοπική πυκνότητα του βιοφίλμ ή η τοπική συγκέντρωση των χημικών ειδών που προκαλούν αποκόλληση. Η ολοκλήρωση των ρουτινών αποσυνδέσεων με το πολυδιάστατο IBM πραγματοποιήθηκε με τη χρησιμοποίηση μιας νέας εφαρμογής της μεθόδου καθορισμένων επιπέδων. Είναι αξιοσημείωτο, εντούτοις, ότι αυτή η μέθοδος επιτρέπει ιδιαίτερα γεγονότα αποσυνδέσεων που προέρχονται από τις τυχαίες αστάθειες στην επιφάνεια, που προέρχεται σιωπηρά από τις προσομοιώσεις. Η διάβρωση και η μαζική αποκόλληση (sloughing) είναι με αυτόν τον τρόπο διαμορφωμένες με τον ίδιο μηχανισμό, παράγοντας αποτελέσματα ισοδύναμα με εκείνα που λήφθηκαν από προηγούμενη εφαρμογή αποκόλλησης σε ένα μοντέλο βιοφίλμ 2 διαστάσεων (Piciooreanu et al., 2001).

Άλλες απώλειες βιομαζών με διαδικασίες όπως η αποσύνθεση προκαλούν μια μείωση του μεγέθους των πρακτόρων βιομάζας. Τα μονοδιάστατα μοντέλα (Wanner and Gujer, 1986) επίσης εφαρμόζουν την υποχώρηση του μετώπου του βιοφίλμ (δηλ. μια καθαρή μείωση του όγκου του) στους όρους όπου οι απώλειες βιομαζών εμφανίζονται από τις διαδικασίες όπως η αποσύνθεση του EPS ή η αδρανοποίηση της βακτηριακής βιομάζας (Horn et al., 2001). Ομοίως, το IBM επεκτάθηκε εδώ για να περιλάβει την καθαρή μείωση του όγκου του biofilm φέρνοντας τους πράκτορες βιομαζών πιο κοντά όποτε η μείωση όγκου εμφανίζεται. Εάν η καθαρή αλλαγή στον όγκο των πρακτόρων είναι αρνητική σε οποιαδήποτε δεδομένη επανάληψη (δηλ. ένα μόριο βιομαζών συρρικνώνεται), ο πράκτορας θα τραβήξει τους γειτονικούς πράκτορες προς το μέρος του κατά μια απόσταση που είναι ίση με τη μείωση της ακτίνας του.

2.3.4. Ισοζύγιο μάζας των διαλυτών του βιοφίλμ

Εάν η επίδραση της μεταφοράς διαλυτής ουσίας μέσω του ρευστού μπορεί να αμεληθεί (τέτοιοι όροι παρουσιάζονται από Eberl et al., 2000 Piciooreanu et al., 2000b), η δυναμική της συγκέντρωσης μιας διαλυτής ουσίας S καθορίζεται στη γενική της μορφή από μια εξίσωση διάχυσης-αντίδρασης:

$$\frac{\partial C_s}{\partial t} = \nabla(D_s(\nabla C_s)) + r_s \quad [M_o\Lambda^{-3}T^{-1}]$$

όπου ο χειριστής (∇) είναι η κλίση μιας συνάρτησης στις καρτεσιανές συντεταγμένες, μια αντιπροσώπευση που είναι έγκυρη και για δύο διαστάσεις και για τις τρεις. Η τιμή για τη διάχυση της διαλυτής ουσίας (D_s) μπορεί να είναι μεταβλητή στο χώρο για να ληφθούν υπόψη οι τοπικές διαφορές στην αντίσταση μαζικής μεταφοράς. Αυτό μπορεί να είναι σχετικό για τη μοντελοποίηση συστημάτων βιοφίλμ, ως αντίσταση στη διάχυση των διαλυτών ουσιών στη μήτρα του βιοφίλμ η μπορεί να είναι υψηλότερη απ'ότι στο υγρό. Επιπλέον, οι τοπικές τιμές διάχυσης στο βιοφίλμ μπορούν να είναι μια συνάρτηση της σύνθεσης βιομάζας (Beuling et al., 1998, 2000).

Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης διαλυτής ουσίας δε σχετίζεται με τη δυναμική βιομαζών. Αυτή η αποσύζευξη είναι μια προσέγγιση που αναπτύσσεται αρχικά για τα μοντέλα CA (Piciooreanu et al., 1998, 1999) και που εφαρμόζεται αργότερα στα IbM μοντέλα (Kreft et al., 2001 Piciooreanu et al., 2004). Η δυναμική διαλυτής ουσίας και βιομάζας υπολογίζεται διαδοχικά με το σκεπτικό ότι το χρονοδιάγραμμα της μεταφοράς και της αντίδρασης της διαλυτής ουσίας είναι τάξεις μεγέθους συντομότερο από αυτή της εξάπλωσης της βιομάζας (Piciooreanu et al., 2000b). Κατά συνέπεια, η αντίδραση διάχυσης των διαλυτών ουσιών μπορεί να θεωρηθεί ότι φθάνει σε μια σταθερή κατάσταση μεταξύ κάθε επανάληψης επέκτασης βιομαζών. Κατά συνέπεια, η εξίσωση μπορεί να απλοποιηθεί:

$$\nabla(D_s(\nabla C_s)) + r_s = 0 \quad \text{μέσα στο βιοφίλμ}$$

$$C_s = C_s^{\text{bulk}} \quad \text{εκτός του βιοφίλμ}$$

Εκτός του βιοφίλμ, υποθέτουμε ότι το υγρό είναι πλήρως αναμιγμένο.

Για τον υπολογιστικό όγκο, η κατώτατη πλευρά αντιστοιχεί στη στερεά υποστρωματική επιφάνεια, τα κατώτατα σύνορα είναι ένα όριο μηδενικής ροής:

$$\frac{\partial C_s}{\partial x} = 0 \quad \text{για } x=0$$

Στο κορυφαίο όριο, οι συγκεντρώσεις στο υγρό τίθενται όπως στην προηγούμενη εξίσωση, και τα πλευρικά σύνορα του υπολογιστικού όγκου είναι περιοδικά.

2.3.5. Συγκέντρωση διαλυτών

Το πλαίσιο επιτρέπει στη μαζική συγκέντρωση των διαλυτών ουσιών για είτε να επιβληθεί είτε να υπολογιστεί από τις μαζικές ισορροπίες στο σύστημα. Κάθε είδος διαλυτής ουσίας που καθορίζεται στο σύστημα μπορεί να έχει μια διαφορετική συμπεριφορά για κάθε τιμή της μαζικής συγκέντρωσής του. Οι επιβληθείσες μαζικές συγκεντρώσεις μπορούν να είναι σταθερές, οπότε σε αυτή την περίπτωση το υγρό υποτίθεται ότι είναι ένας άπειρος και σταθερός ανεφοδιασμός της διαλυτής ουσίας σε όλη την προσομοίωση, ή διαλείπουσες, όπου η μαζική συγκέντρωση αλλάζει για να επιβάλει έναν κύκλο περίσσειας και έλλειψης τροφής. Στα τελευταία, σταδιακές αλλαγές προκαλούνται για να αλλάξουν κυκλικά τη μαζική συγκέντρωση μιας διαλυτής ουσίας (C_s^{bulk}) μεταξύ μιας τιμής για υψηλή συγκέντρωση τροφής (C_s^{feast}) και μιας χαμηλής συγκέντρωσης τροφής (C_s^{fam}):

$$C_s^{bulk} = C_s^{fam} \quad \text{για περίοδο χαμηλής συγκέντρωσης τροφής}$$

$$C_s^{bulk} = C_s^{feast} \quad \text{για περίοδο υψηλής συγκέντρωσης τροφής}$$

Οι μαζικές συγκεντρώσεις μπορούν επίσης να υπολογιστούν από τις ισορροπίες μάζας στο σύστημα. Σε αυτήν την περίπτωση, ο υπολογιστικός όγκος V_{comp} είναι ένα μέρος του πλήρους συστήματος, του όγκου V_{sys} . Η δυναμική της μαζικής συγκέντρωσης ενός είδους S διαλυτής ουσίας εκφράζεται:

$$\frac{dC_s^{bulk}}{dt} = QC_s^{in} - QC_s^{bulk} + R(C_s^{bulk})$$

Όπου:

$$R(C_s^{bulk}) = \frac{A_{carrier}}{I_y I_z V_{sys}} \int_{V_{comp}} r_s(x) dV$$

Στη δυναμική συμπεριφορά, τα καθαρά ποσοστά κατανάλωσης ή παραγωγής διαλυτών ουσιών στον υπολογιστικό όγκο (που περιγράφεται από το ολοκλήρωμα στην εξίσωση) χρησιμοποιείται για να καθορίσει το γενικό ποσοστό στο σύστημα, $R(C_s^{bulk})$. Η

αντιστοιχία στην ρεαλιστική κλίμακα των αντιδραστήρων εκτελείται από την αναλογία μεταξύ της περιοχής επιφάνειας υποστρωμάτων σε ολόκληρο το σύστημα ($A_{carrier}$) και της περιοχής επιφάνειας υποστρωμάτων στον υπολογιστικό όγκο (L_y, L_z).

2.3.6.Αριθμητική εφαρμογή του μοντέλου

Οι διαδικασίες που περιλαμβάνονται στο σχηματισμό βιοφίλμ εφαρμόζονται διαδοχικά για να συνθέσουν έναν κύκλο προσομοίωσης, ο οποίος εκτελείται επανειλημμένα κατά τη διάρκεια μιας προσομοίωσης για να παρακολουθήσει την ανάπτυξη του βιοφίλμ εγκαίρως. Στον κύκλο προσομοίωσης, οι διαδικασίες σχετικά με την αύξηση βιομαζών και την εξάπλωση τους εκτελούνται πρώτα και ακολουθεί η ενημέρωση των συγκεντρώσεων διαλυτής ουσίας. Το τελευταίο βήμα είναι η αναπροσαρμογή του χρόνου προσομοίωσης και ο κύκλος έπειτα ξαναξεκινά. Η σειρά των βημάτων που συνθέτει τον κύκλο προσομοίωσης είναι η ακόλουθη:

1. Προσδιορισμός του χρονικού βήματος, Δt , για την παρούσα επανάληψη στο χρόνο t .
2. Αύξηση κάθε πράκτορα βιομαζών, με ενδεχόμενη διχοτόμηση πρακτόρων εάν η ακτίνα της είναι μεγαλύτερη από $R_{division}$ και έκκριση EPS εάν το μέρος EPS του είναι μεγαλύτερο από $f_{EPS, excretion}$.
3. Ο κύκλος εξάπλωσης, στον οποίο το μέτωπο του biofilm προωθείται.
4. Αποσύνδεση βιομαζών, συμπεριλαμβανομένης της διάβρωσης και της αποκόλλησης μεγάλων κομματιών βιοφίλμ (sloughing).
5. Η αναπροσαρμογή της μαζικής συγκέντρωσης των διαλυτών ουσιών, που εκτελεί τις μαζικές ισορροπίες για τις διαλυτές ουσίες με δυναμική συμπεριφορά.
6. Αναπροσαρμογή των χωρικών συγκεντρώσεων των διαλυτών ουσιών σε σταθερή κατάσταση.
7. Προώθηση του χρόνο προσομοίωσης $t = t + \Delta t$ και επανεκκίνηση του κύκλου προσομοίωσης από το (1)

Αυτός ο κύκλος προσομοίωσης επεκτείνει τους προηγουμένως προτεινόμενους κύκλους (Picioareanu et al., 2001, 2004) με τη χρησιμοποίηση ενός μεταβλητού χρονικού βήματος (Δt). Το μεταβλητό χρονικό βήμα είναι ουσιαστικό στο να επιτραπεί η χρήση του πλαισίου για τη διαμόρφωση των διαφορετικών συστημάτων βιοφίλμ. Το χρονικό

βήμα επανάληψης πρέπει να είναι προσαρμόσιμο για να εγγυηθεί την αριθμητική σταθερότητα όλων των βημάτων που εκτελούνται στον κύκλο προσομοίωσης. Ο αλγόριθμος που χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό του Δt εφαρμόζει τους περιορισμούς που καθορίζονται στις τρεις κλίμακες στις οποίες το σύστημα biofilm περιγράφεται. Ο περιορισμός του Δt_1 , σχετικά με τη μεμονωμένη κλίμακα, επιβάλλει ότι κανένας πράκτορας βιομαζών δεν μπορεί περισσότερο από να διπλασιάσει το μέγεθός του σε οποιοδήποτε δεδομένο βήμα επανάληψης. Η εφαρμογή αυτού του περιορισμού είναι απαραίτητη για να εξασφαλίσει ότι κανένας πράκτορας δεν υπάρχει με ακτίνα μεγαλύτερη από R_{division} . Ο περιορισμός Δt_2 , σχετικά με την κλίμακα του biofilm, επιβάλλει ότι ο συνολικός όγκος biofilm δεν πρέπει να αυξηθεί περισσότερο από ένα μέρος του όγκου του, f_v , σε οποιαδήποτε επανάληψη. Αυτός ο περιορισμός είναι απαραίτητος στην εγγύηση της σταθερότητας του βήματος. Ο περιορισμός του Δt_3 είναι σχετικός με τις μαζικές ισορροπίες και εγγυάται τη σταθερότητα της αριθμητικής μεθόδου που χρησιμοποιείται στον προσδιορισμό των μαζικών συγκεντρώσεων των ειδών διαλυτής ουσίας. Το χρονικό βήμα επανάληψης που επιλέγεται σε κάθε επανάληψη είναι το ελάχιστο μεταξύ αυτών των τριών τιμών:

$$\Delta t = \min(\Delta t_1, \Delta t_2, \Delta t_3)$$

Η τιμή του Δt υπολογίζεται στην αρχή κάθε επανάληψης.

Η αύξηση των πρακτόρων, καθώς επίσης και η διχοτόμηση και η έκκριση EPS, οδηγεί στην επικάλυψη των γειτονικών πρακτόρων. Ένας μεγεθυνόμενος κύκλος χρησιμοποιείται τότε για να απελευθερώσει αυτήν την επικάλυψη, κατά την οποία οι γειτονικοί πράκτορες ωθούνται μεταξύ τους μέχρι όλη η επικάλυψη να ανατραπεί. Αυτή η επαναληπτική διαδικασία μεγέθυνσης, ένα σημαντικό συστατικό του IbM, περιγράφηκε λεπτομερώς προηγουμένως (Kreft et al., 1998).

Η αποτελεσματική λύση της εξίσωσης διάχυσης-αντίδρασης για όλα τα είδη διαλυτής ουσίας που περιλαμβάνονται στο σύστημα απαιτείται η χρήση των προηγμένων αριθμητικών τεχνικών. Εδώ, μη γραμμικό επιλυτή πολλαπλού πλέγματος (multigrid solver) (Press et al., 1997), που εφαρμόστηκε προηγουμένως για μοντελοποίηση βιοφίλμ (Picioreanu et al., 2004), επεκτάθηκε για να επιτρέψει στα σχήματα των ορίων μεταφοράς μάζας να καθοριστούν.

Τα Multigrid Solvers είναι πολύ αποδοτικά, αλλά ο υπολογισμός των συγκεντρώσεων διαλυτής ουσίας αποτελεί ακόμα μια από τις πιο απαιτητικές διαδικασίες

Πίνακας 6: Παράμετροι TuDELFT mat

K_s	2×10^{-2}	g/l	K_u	0.1	g/l
K_b	0.085	g/l	k_{UAP}	0.05	
k_{EPS}	0.18		K_o	3.5×10^{-4}	g/l
S_{con}	0.5	g/l	S_{diff}	0.057×10^8	$\mu\text{m}^2/\text{h}$
O_{con}	9.2×10^{-3}	g/l	O_{diff}	0.057×10^8	$\mu\text{m}^2/\text{h}$
KO	3.5×10^{-4}	g/l	$x_{a,max}$	70	g/l
eps_{max}	200	g/l	$x_{res,max}$	220	g/l
Y_s	0.34	mg_x/mg_s	Y_p	0.45	mg_x/mg_p
k_{decay}	0.017	$\text{g}_x/\text{g}_x/\text{h}$	fd	0.8	
$q_{s,Max}$	0.952	$\text{g}_s/\text{g}_x/\text{h}$	$q_{u,Max}$	0.053	$\text{g}_s/\text{g}_x/\text{h}$
$q_{b,Max}$	0.003	$\text{g}_s/\text{g}_x/\text{h}$	I_{Hydr}	0.0071	
$kShov$	1		Γ_{detach}	0	
N	600				

Παρατηρούμε ότι προκειμένου να επιτευχθεί η διαφοροποίηση στο σχήμα (από λείο σε δακτυλοειδές), οι παράμετροι που πρέπει να αλλάξουν είναι η συγκέντρωση του υποστρώματος και η συγκέντρωση του οξυγόνου, δηλαδή τα διατροφικά στοιχεία του βιοφίλμ. Επίσης αλλάζει και ο αριθμός αρχικών κυττάρων, απλώς ώστε να δημιουργηθεί βιοφίλμ γύρω από μικρότερο αριθμό εστιών. Με μικρότερες συγκεντρώσεις διατροφικών στοιχείων δημιουργείται ο μανιταροειδής σχηματισμός και με μεγαλύτερες ο λείος. Αυτό συμβαίνει επειδή με την έλλειψη τροφής, οι στοιβάδες των κυττάρων που βρίσκονται ψηλότερα (άρα και πιο κοντά στην πηγή της τροφής), αναπτύσσονται γρηγορότερα, ενώ οι χαμηλότερες στοιβάδες αναστέλλουν την ανάπτυξή τους. Αυτό σε συνδυασμό με το μικρό αρχικό αριθμό κυττάρων οδηγεί σε ανάπτυξη κατά την κατακόρυφη διεύθυνση και όχι κατά την οριζόντια.

Αντίστοιχα, με υψηλή συγκέντρωση διατροφικών στοιχείων και μεγάλο αρχικό αριθμό κυττάρων, οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται ταχύτατα προς όλες τις κατευθύνσεις με αποτέλεσμα αυτή την χαρακτηριστικά λεία επιφάνεια.

Έτσι, τα δοκίμια που παράγονται είναι (Σχήματα 12 και 13):



(α)

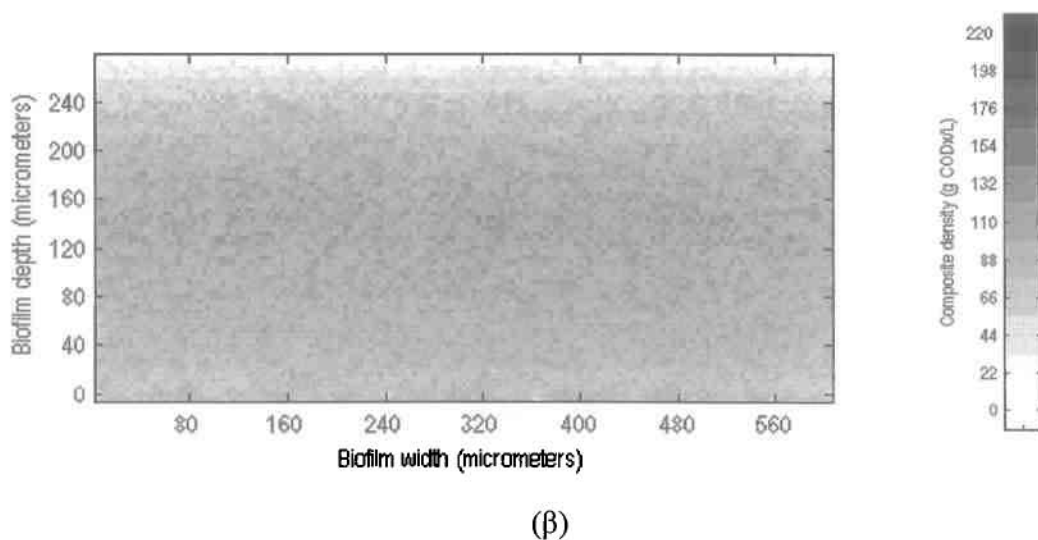
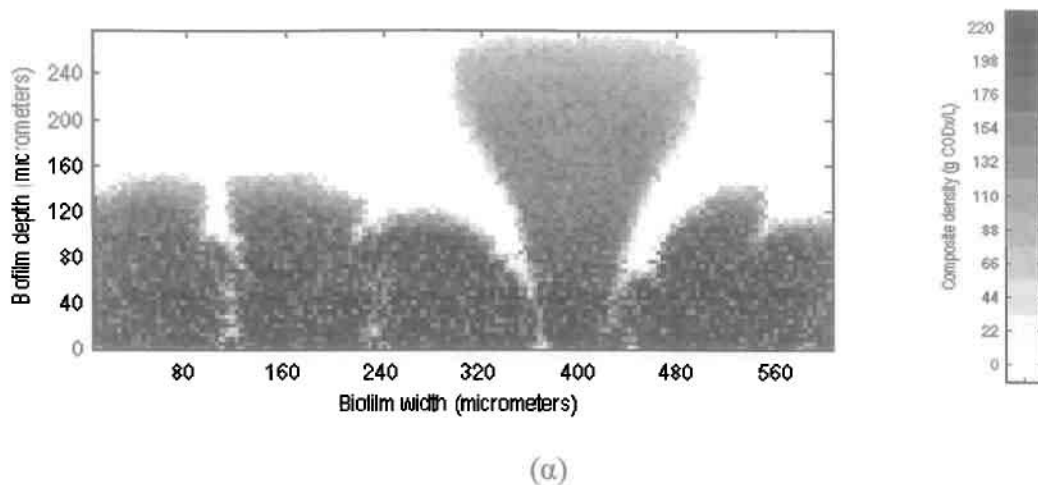


(β)

Σχήμα 12. Δοκίμια που παράγονται από το μοντέλο TUDelft: (α) μανιταροειδές βιοφίλμ και (β) λείο βιοφίλμ.

Τα μοντέλα δίνουν τα αποτελέσματα σε μορφή μητρώου. Σε κάθε κελί υπολογίζονται με επαναληπτική διαδικασία όλες οι μεταβλητές που δίνουν την εικόνα του βιοφίλμ σε εκείνο το σημείο:

- Τον αύξοντα αριθμό της επανάληψης
- Τον παρελθόντα χρόνο από την αρχή της προσομοίωσης
- Το μέγιστο πάχος του βιοφίλμ στην συγκεκριμένη επανάληψη
- Το σύνολο της μάζας που παράγεται
- Το σύνολο της αποκομμένης μάζας
- Το σύνολο της μάζας του βιοφίλμ
- Τη συγκέντρωση του οξυγόνου, του υποστρώματος, BAP και UAP
- Τη συνολική μάζα οξυγόνου, υποστρώματος, BAP και UAP
- Τη συνολική μάζα ενεργών, αδρανών και EPS



Σχήμα 13. Δοκίμια που παράγονται από το μοντέλο UMCCA: (α) μανιταροειδές βιοφίλμ και (β) λείο βιοφίλμ.

- Τα στερεά (σε μονάδες μάζας), δηλαδή οι ενεργοί και αδρανείς μικροοργανισμοί, και το EPS ανά επανάληψη
- Τα διαλυτά, δηλαδή BAP, UAP, διατροφικό υπόστρωμα και οξυγόνο ανά επανάληψη
- Τον αριθμό των σωματιδίων συνολικά

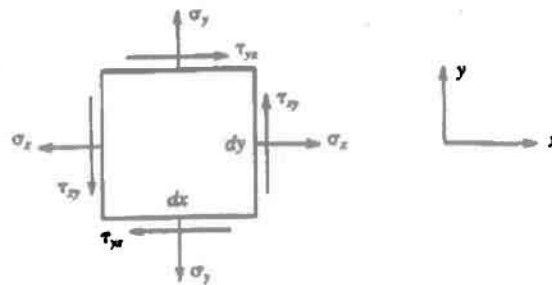
Με αυτόν τον τρόπο αποκτάμε μια αρκετά ολοκληρωμένη εικόνα για την κατάσταση του βιοφίλμ σε οποιοδήποτε σημείο του, και σε οποιαδήποτε χρονική στιγμή. Αυτό είναι επίσης ένα πλεονέκτημα που δεν θα το είχαμε στην ανάλυση ενός πραγματικού biofilm,

καθώς δε θα ήταν δυνατό να κάνουμε αναλύσεις σε κάθε σημείο ενός βιοφίλμ ανά διαστήματα μερικών ωρών.

3.2. Μέθοδοι ανάλυσης

Αρκετά προβλήματα στην ελαστικότητα μπορούν να αντιμετωπισθούν ικανοποιητικά με τη δισδιάστατη ανάλυση ή αλλιώς θεωρία επίπεδης ελαστικότητας. Υπάρχουν δύο γενικοί τύποι προβλημάτων που μπορούν να αντιμετωπισθούν με επίπεδη ελαστικότητα, η **επίπεδη τάση (plane stress)** και η **επίπεδη παραμόρφωση (plane strain)**. Αυτές οι δύο μορφές μπορούν να οριστούν θέτοντας ορισμένους περιορισμούς και υποθέσεις στα πεδία τάσης και παραμόρφωσης.

Η δισδιάστατη εντατική κατάσταση φαίνεται στο σχήμα 14



Σχήμα 14

Όπως φαίνεται στο σχήμα 14, υπάρχουν τρεις τάσεις, οι σ_x , σ_y , τ_{xy} . Από αυτές υπολογίζονται οι κύριες μέγιστες και ελάχιστες τάσεις:

$$\sigma_1 = \frac{\sigma_x + \sigma_y}{2} + \sqrt{\left(\frac{\sigma_x - \sigma_y}{2}\right)^2 + \tau_{xy}^2} = \sigma_{\max}$$

$$\sigma_2 = \frac{\sigma_x + \sigma_y}{2} - \sqrt{\left(\frac{\sigma_x - \sigma_y}{2}\right)^2 + \tau_{xy}^2} = \sigma_{\min}$$

3.2.1. Επίπεδη τάση

Η επίπεδη τάση ορίζεται ως μια εντατική κατάσταση στην οποία η κύρια τάση σ_z και οι διατμητικές τάσεις σ_{xz} και σ_{yz} , με κατεύθυνση κάθετη στο επίπεδο, υποθέτουμε ότι είναι 0. Η γεωμετρία του στοιχείου είναι ουσιαστικά αυτή ενός δίσκου με τη μια διάσταση πολύ μικρότερη από τις υπόλοιπες. Τα φορτία κατανέμονται ομαλά στο πάχος του δίσκου και δρουν στο επίπεδο του δίσκου. Η επίπεδη τάση είναι η απλούστερη μορφή ανάλυσης.

Τυπικές συνθήκες στήριξης και φόρτισης για την επίπεδη τάση στη διδιάστατη ελαστικότητα:

1. Τα φορτία μπορούν να είναι συγκεντρωμένα ή κατανεμημένα στο πάχος του δίσκου
2. Οι στηρίξεις μπορεί να είναι σταθερά σημεία ή σταθερές πλευρές.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

Μηχανικές Ιδιότητες βιοφίλμ

4.1 Μηχανικές Ιδιότητες βιοφίλμ

Εξετάζοντας ένα βιοφίλμ από την πλευρά των μηχανικών του ιδιοτήτων, το βλέπουμε σαν μια στερεή κατασκευή με εσωτερικές δυνάμεις που μπορούν να ποσοτικοποιηθούν. Χαρακτηριστικές μηχανικές ιδιότητες, όπως η σταθερά του Young, μέτρο ελαστικότητας, λόγος του Poisson, δανειζόμενα από τις αρχές της μηχανικής των υλικών, μπορούν να δοθούν σε δομές βιοφίλμ, και οι παράγοντες που τις επηρεάζουν είναι υπό εξέταση. Έρευνες από τους Ohashi and Harada (1994, 1996) και Ohashi et al. (1999) αποκάλυψαν την δυνατότητα να μετρηθεί πειραματικά η μηχανική αντοχή του βιοφίλμ. Οι διασαφήνιση των μηχανικών ιδιοτήτων του βιοφίλμ είναι ζωτικής σημασίας στην ακριβή πρόβλεψη της αποκόλλησης του βιοφίλμ, και μπορεί ακόμα να συνδέεται με την ετερογένεια του.

Όταν εξετάζουμε τις μηχανικές ιδιότητες των βιοφίλμ, δεν μπορούμε πλέον να τα βλέπουμε σαν απλή συσσώρευση βιομάζας. Εκτός από τα ενεργά βακτήρια και τη ζελατινώδη μήτρα από EPS, το βιοφίλμ συχνά περιέχει και άλλη σωματιδιακή υλη, όπως ανενεργή βιομάζα, νεκρά κύτταρα δηλαδή, και ανόργανες αποθέσεις. Με το πέρασμα του χρόνου, η συσσώρευση αδρανούς βιομάζας και αποθέσεων γίνεται σημαντικότερη, ειδικά αφού τείνουν να συσσωρεύονται κοντά στην επιφάνεια προσκολλησεως.

Η συσσώρευση αδρανών κοντά στην επιφάνεια προσκολλησεως καθώς το βιοφίλμ γερνά προτάθηκε από τους Rittmann and Manem (1992) σε μονοδιάστατο μοντέλο και υποστηρίχτηκε από πειραματικά δεδομένα. Επιπλέον δεδομένα δίνονται από τον Ohashi et al. (1999). Οι επιπτώσεις της ανενεργής βιομάζας και των ανόργανων αποθέσεων στην πυκνότητα του βιοφίλμ περιγράφονται από τους Zhang and Bishop (1994) και Cooke et al. (1999, 2001). Η απόθεση αυτή πιθανότατα επηρεάζει τόσο τις μηχανικές ιδιότητες όσο και την πυκνότητα.

Οι ιδιότητες του βιοφίλμ, αλλάζουν δραστικά από σημείο σε σημείο μέσα στη μήτρα, επιφέροντας έτσι εξίσου σημαντικές διαφοροποιήσεις και στις μηχανικές του ιδιότητες, τόσο στο χώρο όσο και στο χρόνο.

Ένας ακόμα παράγοντας που επηρεάζει σημαντικά τις ιδιότητες των βιοφίλμ, άρα και την αποκόλληση βιομάζας, είναι το πορώδες. Τα βιοφίλμ είναι ετερογενή πορώδη στρώματα, αποτελούμενα από κύτταρα και πολυμερή, τυχαία τοποθετημένα σε τρισδιάστατη αρχιτεκτονική και περιστοιχισμένα από κανάλια νερού. Στα στρώματα αυτά περιλαμβάνονται μακροπόροι διανεμημένοι στις διεπιφάνειες κυττάρων-πολυμερών, και μικροπόροι, που υπάρχουν μέσα στις συστάδες των κυττάρων και των πολυμερών.

Όταν εξετάζουμε τις μηχανικές ιδιότητες ενός πορώδους υλικού, όπως το βιοφίλμ, ο δείκτης πόρων παίζει καθοριστικό ρόλο. Εάν ασκηθούν εφελκυστικές ή θλιπτικές τάσεις σε πορώδες υλικό, θα επιφέρουν αλλαγές στις μηχανικές ιδιότητες του υλικού που θα εξαρτώνται από την παραμόρφωση. Για παράδειγμα, όπως φορτίζεται με θλιπτικά φορτία ένα πορώδες υλικό με συγκεκριμένες μηχανικές ιδιότητες, ο δείκτης πόρων του μειώνεται καθώς συνθλίβονται οι πόροι του. Αυτό φέρει ως αποτέλεσμα ένα νέο δείκτη πόρων και κατά συνέπεια νέες μηχανικές ιδιότητες, ενώ αυτή η διαδικασία συνεχίζεται με την πρόοδο της παραμόρφωσης, έως ότου φτάσουμε στην οριακή παραμόρφωση του. Το αντίθετο φαινόμενο, η αύξηση του δείκτη πόρων, συμβαίνει όταν ασκήσουμε εφελκυστική δύναμη. Εάν επεκτείνουμε αυτή την ανάλυση στα βιοφίλμ, υπάρχει η επιπρόσθετη επιπλοκή ότι, καθώς περνά ο χρόνος, η δομή και το πορώδες (άρα και οι μηχανικές ιδιότητες) επίσης αλλάζουν σαν αποτέλεσμα της διάχυσης και των αντιδράσεων που συμβαίνουν. Έτσι, οι αλλαγές που επέρχονται στις μηχανικές ιδιότητες των βιοφίλμ συναρτήσει του χρόνου είναι αποτέλεσμα δύο διαδικασιών:

- (1) Αλλαγές στον όγκο που καταλαμβάνουν όλα τα είδη βιομάζας στο βιοφίλμ – ενεργή βιομάζα, αδρανής βιομάζα και πολυμερή – λόγω της διάχυσης του υποστρώματος και των αντιδράσεων
- (2) Η δράση των εξωτερικών δυνάμεων στο βιοφίλμ, που αλλάζουν το πορώδες του και τις μηχανικές του ιδιότητες

Ο συνδυασμός αυτών των διαδικασιών πρέπει να είναι η αιτία για τις παρατηρούμενες καθ' ύψος διαφοροποιήσεις στο πορώδες, με τον δείκτη στην βάση να φτάνει πολλές φορές και το 50% του δείκτη στην επιφάνεια.

Οι Laspidou and Aravas (2007) ανέπτυξαν μια θεωρία μελετώντας ένα ενιαίο αντιπροσωπευτικό στοιχείο όγκου φτιαγμένο από σύνθετο υλικό που αποτελείται από τέσσερις ευδιάκριτες φάσεις: (1) ενεργός βιομάζα, (2) EPS, (3) υπόλοιπη νεκρή βιομάζα και (4) κενό διάστημα. Τα c_1 , c_2 , c_3 και c_4 είναι τα αντίστοιχα μέρη όγκου των αποτελούντων φάσεων. Υποθέτουμε ότι κάθε μια από τις τέσσερις υλικές φάσεις είναι

ένα ιστροπικό γραμμικό ελαστικό υλικό με μέτρο ελαστικότητας E και λόγο Poisson ν . Ο λόγος Poisson ν του «κενού υλικού» εξαφανίζεται, δηλ. $E_4=0$. Οι αντίστοιχοι ελαστικοί συντελεστές K_i και I_i καθορίζονται από τις σχέσεις:

$$G_i = E_i/2(1+\nu_i) \quad \text{και} \quad K_i = E_i/3(1-2\nu_i)$$

Μπορούμε να καθορίσουμε τους «πραγματικούς» ελαστικούς συντελεστές του στοιχείου όγκου με τη χρησιμοποίηση των τεχνικών ομογενοποίησης, δηλ. για να καθοριστεί το E και το ν ενός ισοδύναμου στοιχείου όγκου φτιαγμένου από ενιαίο «ομογενοποιημένο» ιστροπικό γραμμικό ελαστικό υλικό. Φυσικά, αυτοί οι συντελεστές είναι συναρτήσεις των μερών όγκου των επιμέρους φάσεων, ή $E=f(c_i)$ και $\nu=f(c_i)$. Μια συζήτηση σχετικά με τον τρόπο με τον οποίο αυτό γίνεται συμπεριλαμβάνεται στο τμήμα που τιτλοφορείται «τεχνικές ομογενοποίησης».

Για τα δεδομένα μέρη C_i όγκου, η εξίσωση τάσης παραμόρφωσης στην μονοαξονική θλίψη η εφελκυσμό μπορεί να γραφτεί:

$$\sigma = E(c_i)\varepsilon \quad \eta \quad d\sigma = E(c_i)d\varepsilon$$

όπου το σ είναι η μονοαξονική (εφελκυστική ή θλιπτική) τάσης, το ε είναι η αντίστοιχη λογαριθμική παραμόρφωση, και η τελεία δείχνει τη διαφοροποίηση όσον αφορά το χρόνο. Εάν τα μέρη C_i όγκου παραμένουν σταθερά καθώς το υλικό παραμορφώνεται, η ανωτέρω εξίσωση μπορεί να ενσωματωθεί για να παραγάγει:

$$\sigma = E(c_i)\bar{\varepsilon}$$

Laspídu Aravas (2007), Aravas Laspídu (2008),

Ο συνολικός όγκος του υλικού είναι το άθροισμα των όγκων των μεμονωμένων φάσεων. Δεδομένου ότι το υλικό παραμορφώνεται, τα κενά μπορούν είτε να ανοίξουν είτε να κλείσουν, ανάλογα με το εύρος της παραμόρφωσης, μεταβάλλοντας κατά συνέπεια τα μέρη c_i του όγκου. Παραδείγματος χάριν, το ολοκληρωτικό κλείσιμο των κενών σημαίνει ότι $c_4=0$, έτσι ώστε $c_1+c_2+c_3=1$. Δεδομένου ότι το E και το ν είναι συναρτήσεις του c_i , οποιαδήποτε αλλαγή στο c_i προκαλεί μια αντίστοιχη αλλαγή στους ελαστικούς συντελεστές. Έστω ότι το B δείχνει το συνολικό όγκο ενός απειροελάχιστου

αντιπροσωπευτικού στοιχείου όγκου και V_i είναι οι όγκοι των μεμονωμένων φάσεων στο απειροελάχιστο στοιχείο.

$$V = V_1 + V_2 + V_3 + V_4$$

Είναι γνωστό αποτέλεσμα της μηχανικής συνέχειας ότι

$$\frac{\dot{V}}{V} = \dot{\varepsilon}_v$$

όπου ε_v είναι η ογκομετρική λογαριθμική τάση, δηλ. το άθροισμα των κανονικών συστατικών του λογαριθμικού τανυστή παραμόρφωσης. Με άλλα λόγια, είναι το άθροισμα όλων «των παραμορφώσεων» σε κάθε άξονα. Παρουσία των κενών, οποιαδήποτε αλλαγή όγκου του απειροελάχιστου στοιχείου όγκου οφείλεται κυρίως στο άνοιγμα ή το κλείσιμο του κενού, δηλ.:

$$\dot{V} \cong \dot{V}_4 \quad \text{και} \quad \dot{V}_i \cong 0 \quad (i=1,2,3)$$

Σύμφωνα με τον ορισμό έχουμε:

$$c_i = V_i/V$$

Παραγωγίζοντας την εξίσωση προς το χρόνο, και λαμβάνοντας υπόψη τις εξισώσεις, καταλήγουμε στο ότι:

$$\dot{c}_i \cong -\frac{\dot{V}_i}{V^2} = -c_i \dot{\varepsilon}_v \quad (i=1,2,3)$$

και

$$\dot{c}_4 \cong -\frac{\dot{V}_4}{V} - \frac{V_4}{V^2} \dot{V} \cong \frac{\dot{V}}{V} - \frac{V_4}{V^2} \dot{V} = (1 - c_4) \dot{\varepsilon}_v$$

Από τις δυο τελευταίες εξισώσεις παίρνουμε:

$$c_i = c_i^0 e^{-\epsilon_i} \quad (i=1,2,3)$$

και

$$c_4 = 1 - (1 - c_4^0) e^{-\epsilon_4}$$

Όπου το c_i^0 είναι η αρχική τιμή του c_i . Οι εξισώσεις αυτές περιγράφουν την εξέλιξη των μερών όγκου λόγω του ανοίγματος ή του κλεισίματος του κενού καθώς το υλικό παραμορφώνεται. Με άλλα λόγια, παρέχουν μια μαθηματική έκφραση για το πώς τα μέρη όγκου των διαφορετικών υλικών αλλάζουν σε ένα βιοφίλμ (c_1, c_2, c_3 για τα είδη βιομαζών και c_4 για τα κενά) κατά συνέπεια μιας επιβληθείσας παραμόρφωσης ϵ_v .

4.2. Τεχνικές ομογενοποίησης

Αυτές είναι τεχνικές που μας επιτρέπουν να μεταχειριστούμε ένα σύνθετο υλικό, που αποτελείται από διαφορετικά γραμμικά ελαστικά υλικά, σαν ήταν μια ενιαία φάση με ένα ενιαίο E και ν , οι οποίοι είναι, φυσικά, ελαστικοί συντελεστές των μεμονωμένων υλικών (E_i και ν_i). Χρησιμοποιούμε τις ίδιες τιμές του E_i όπως Laspidou et al., (2005), αλλά τροποποιούμε το ν_i για να είναι 0.45 αντί 0.3 (ίδιος για όλες τις στερεές φάσεις). Ο χαρακτηριστικός λόγος Poisson είναι 0.2 για το σκυρόδεμα, 0.3 για τα μέταλλα και 0.45 για τα λάστιχα ή τα πολυμερή σώματα. Τα υλικά βιοφίλμ αναμένονται να συμπεριφερθούν περισσότερο όπως ένα πολυμερές σώμα από ένα μέταλλο, έτσι η αξία 0.45 υποτίθεται για όλο το ν_i . Κατά συνέπεια, οι ακόλουθες τιμές χρησιμοποιούνται στους υπολογισμούς:

$$E_1=10 \text{ Pa}$$

$$E_2=60 \text{ Pa}$$

$$E_3=240 \text{ Pa}$$

$$E_4=0$$

$$\nu_1=\nu_2=\nu_3=\nu_4=0.45$$

Και συνεπώς παίρνουμε

$$G_1=3.5\text{Pa} \quad K_1=33.3\text{Pa}$$

$$G_2=20.7\text{Pa} \quad K_2=200\text{Pa}$$

$$G_3=82.8\text{Pa} \quad K_3=800\text{Pa}$$

Υπάρχουν διάφορες τεχνικές ομογενοποίησης διαθέσιμες στη βιβλιογραφία και όλες παράγουν εκτιμήσεις του E και του ν . Μια λεπτομερής συζήτηση των τεχνικών ομογενοποίησης μπορεί να βρεθεί στο άρθρο του Willis (1980). Μια γενική κατηγορία τους μπορεί να περιγραφεί από την εξίσωση που καθορίζει τα ενεργά G και K του ομογενοποιημένου υλικού. Η συμπεριφορά του σύνθετου υλικού υπό εφελκυσμό ή θλίψη θα ποικίλει σύμφωνα με τη χωρική κατανομή των διαφορετικών φάσεων στο στοιχείο όγκου. Παραδείγματος χάριν, θα εξαρτηθεί από ποια φάση συνθέτει τη μήτρα και πώς οι άλλες φάσεις ενσωματώνονται σε αυτήν. Για να καθορίσουμε πλήρως το πρόβλημα, και δεδομένου ότι παρέχουμε μόνο τα μέρη όγκου των διαφορετικών φάσεων για να περιγράψουμε το σύνθετο υλικό και όχι μια συγκεκριμένη δομή της χωρικής διανομής τους, πρέπει να καθορίσουμε τα ανώτερα και χαμηλότερα όρια για τις εκτιμήσεις των σύνθετων ελαστικών συντελεστών.

$$G = \frac{\sum_{i=1}^4 \frac{c_i G_i}{6G_i(\bar{K} + 2\bar{G}) + \bar{G}(9\bar{K} + 8\bar{G})}}{\sum_{j=1}^4 \frac{G_j}{6G_j(\bar{K} + 2\bar{G}) + \bar{G}(9\bar{K} + 8\bar{G})}} \quad K = \frac{\sum_{i=1}^4 \frac{c_i K_i}{3K_i + 4\bar{G}}}{\sum_{j=1}^4 \frac{K_j}{3K_j + 4\bar{G}}}$$

Ο προσδιορισμός του \bar{G} και του \bar{K} στην παραπάνω εξίσωση προσδιορίζει την ιδιαίτερη τεχνική ομογενοποίησης και παράγει τα ανώτερα και χαμηλότερα όρια για το G και το K , καθώς επίσης και τις διαφορετικές εκτιμήσεις του E και του ν . Επομένως, τα ανώτερα όρια παράγονται όποτε $\bar{G} > G_i$ και $\bar{K} > K_i$, και ομοίως τα κατώτερα. Μόλις βρεθούν τα G και το K με τη χρησιμοποίηση οποιασδήποτε μεθόδου ομογενοποίησης, τα αντίστοιχα E και ν καθορίζονται από:

$$E = \frac{9GK}{3K + G} \quad \nu = \frac{3K - 2G}{2(3K + G)}$$

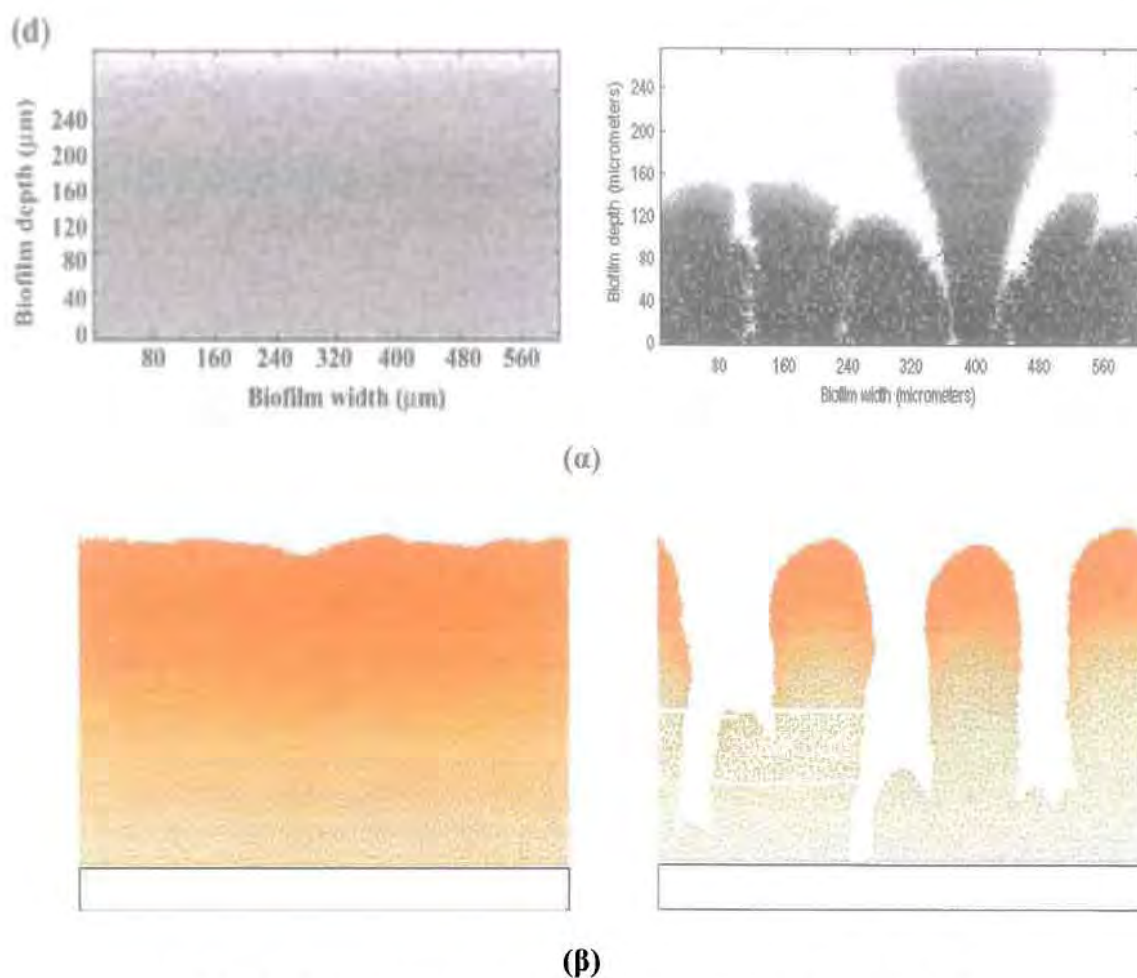
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

Ανάλυση Αποτελεσμάτων—Συμπεράσματα

Εξετάζοντας το θεωρητικό χρόνο που χρειάστηκαν για να σχηματιστούν τα 4 διαφορετικά δοκίμια που μελετούμε σε αυτή την εργασία (δύο από το μοντέλο TUDelft και δύο από το UMCCA—σχήματα 12 και 13 αντίστοιχα) βλέπουμε πως ο χρόνος για το μανιταροειδή σχηματισμό βιοφίλμ TUDelft είναι 509,17 ώρες, ενώ ο αντίστοιχος χρόνος για το λείο σχηματισμό είναι μόλις 138,81 ώρες, δηλαδή περίπου το τετραπλάσιο. Ακόμη μεγαλύτερη είναι αυτή η διαφορά για τα δοκίμια UMCCA: Όπως φαίνεται στο σχήμα 7, ο χρόνος για το μανιταροειδή σχηματισμό βιοφίλμ είναι 221 ημέρες, ενώ ο αντίστοιχος χρόνος για το λείο σχηματισμό είναι μόλις 24,5 ημέρες. Η διαφορά μεταξύ των δοκιμίων του ίδιου μοντέλου οφείλεται στη διαφορά της συγκέντρωσης υποστρώματος, μια και στο λείο βιοφίλμ είναι περίπου 5 φορές μεγαλύτερη. Άλλωστε, η μείωση της συγκέντρωσης του υποστρώματος ήταν η αλλαγή που έγινε στις αρχικές συνθήκες για να παραχθούν οι δύο διαφορετικοί σχηματισμοί. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την βραδύτερη ανάπτυξη του βιοφίλμ στην πρώτη περίπτωση και φυσικά την παραγωγή ενός «γρηραιότερου» δείγματος βιοφίλμ, που συνεπάγεται μεγαλύτερη συγκέντρωση αδρανών.

Η μεγάλη διαφορά ηλικίας βιοφίλμ μεταξύ των δύο μοντέλων οφείλεται στο ότι το μοντέλο UMCCA χρησιμοποιεί την ιδέα της παγιοποίησης. Όσο μεγαλώνει το βιοφίλμ σε ηλικία, τόσο παγιώνεται και δημιουργεί μεγαλύτερες πυκνότητες. Με άλλα λόγια η ενδογενής αναπνοή, η υδρόλυση του EPS και η αντικατάσταση της ενεργής βιομάζας από αδρανή, αφήνει κενά στο χώρο που τα δύο μοντέλα χειρίζονται διαφορετικά: το μοντέλο TUDelft θα αφήσει να αναπτυχθούν, ενώ το UMCCA θα παγιώσει με αποτέλεσμα οι πυκνότητες του βιοφίλμ να είναι συνολικά πολύ μεγαλύτερες και φυσικά να απαιτείται πολύ μεγαλύτερος χρόνος για την παραγωγή βιοφίλμ ίδιου μήκους (όπως βλέπουμε σε αυτή την περίπτωση).

Αυτή η διαφορά στη συνολική πυκνότητα του βιοφίλμ που παράγεται από τα δύο μοντέλα, στην ουσία δηλαδή η διαφορά που δημιουργείται λόγω του αλγορίθμου της παγιοποίησης και του αλγορίθμου CA, είναι προφανής στο σχήμα 15. Τα βιοφίλμ

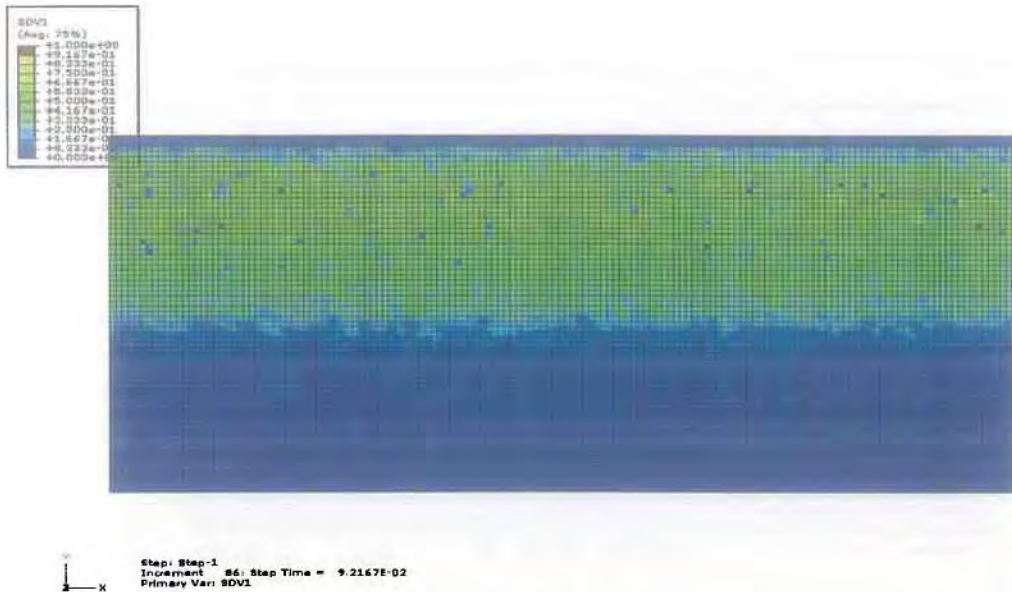


Σχήμα 15: Ολική πυκνότητα βιοφίλμ (α) UMCCA, (β) TUDelft

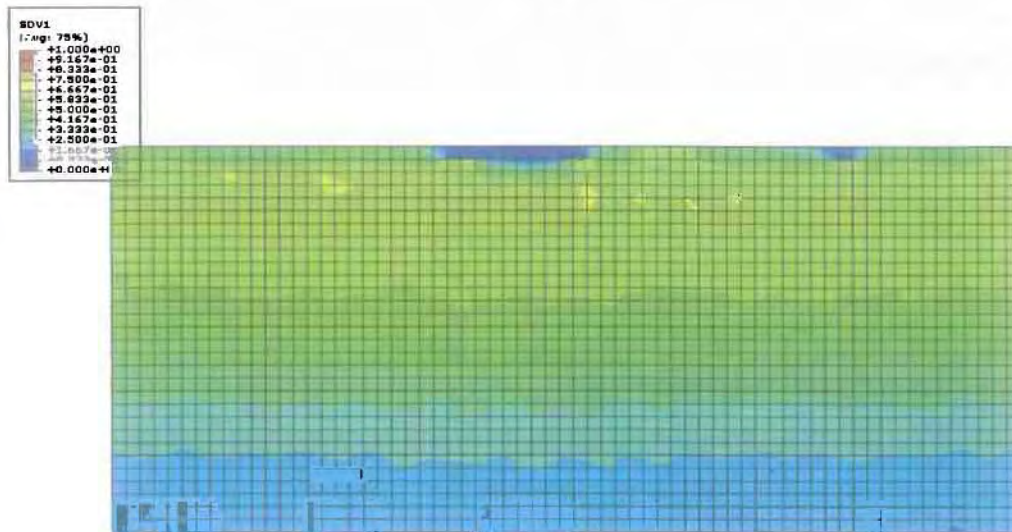
UMCCA είναι πολύ πιο πυκνά και πακτωμένα στο κάτω μέρος τους, αυτό που είναι πλησιέστερα στο υπόστρωμα, ενώ τα βιοφίλμ UMCCA είναι πολύ πιο αραιά και παρουσιάζουν μεγάλα κενά στο κάτω μέρος. Η διαφοροποίηση των χρωμάτων κάνει αυτή τη διαφορά να φαίνεται πολύ πιο έντονα. Τα βιοφίλμ UMCCA είναι σχεδόν μαύρα στη μέση (μεγάλη πυκνότητα) ενώ τα βιοφίλμ TUDelft είναι έντονα πορτοκαλί επάνω (μεγάλη πυκνότητα) και σχετικά άχρωμα κάτω. Ας σημειωθεί εδώ ότι όσο μετατρέπεται η ενεργή βιομάζα σε αδρανή, τόσο αποχρωματίζεται στο TUDelft μοντέλο.

Το ποσοστό των ενεργών μικροοργανισμών (σχήμα 16) είναι μεγαλύτερο στις στοιβάδες που βρίσκονται πλησιέστερα στο διατροφικό υπόστρωμα (ψηλότερα). Αυτό το φαινόμενο είναι αναμενόμενο λόγω του ότι οι ενεργοί μικροοργανισμοί που βρίσκονται στο επάνω μέρος του βιοφίλμ έρχονται άμεσα σε επαφή με φρέσκο υπόστρωμα και αναπτύσσονται γρήγορα. Λόγω της διάχυσης υποστρώματος που πρέπει να συμβεί για να τροφοδοτηθούν οι κατώτερες στρώσεις με οργανικά και θρεπτικά

συστατικά, είναι φυσικό οι χαμηλότερες στρώσεις να «βλέπουν» μικρότερες συγκεντρώσεις και να αναπτύσσονται με βραδύτερους ρυθμούς. Το φαινόμενο αυτό είναι ακόμη πιο έντονο όσο μεγαλύτερο είναι το βιοφίλμ, μια και υπάρχουν περιπτώσεις που τα κάτω στρώματα βλέπουν μηδενικές συγκεντρώσεις υποστρώματος. Από την άλλη μεριά, οι κάτω στρώσεις είναι «γηραιότερες» σε ηλικία και έχουν υποστεί ενδογενή



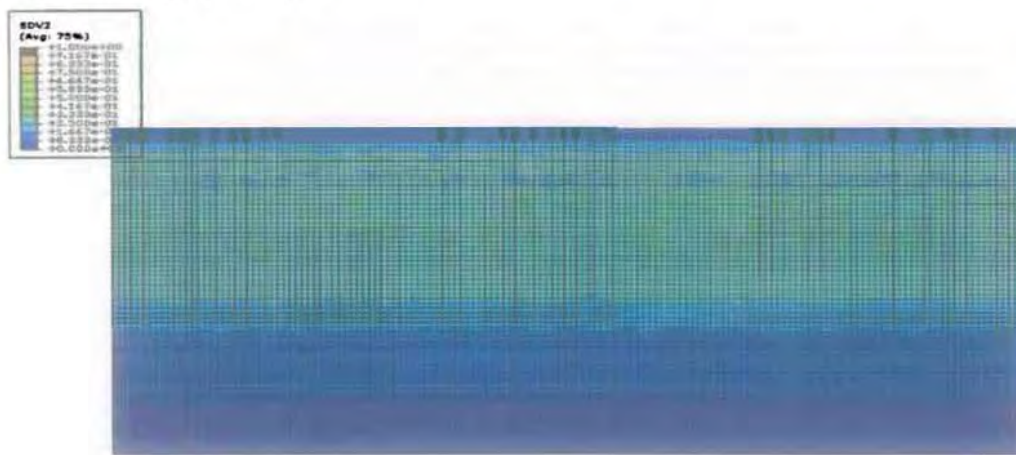
(α)



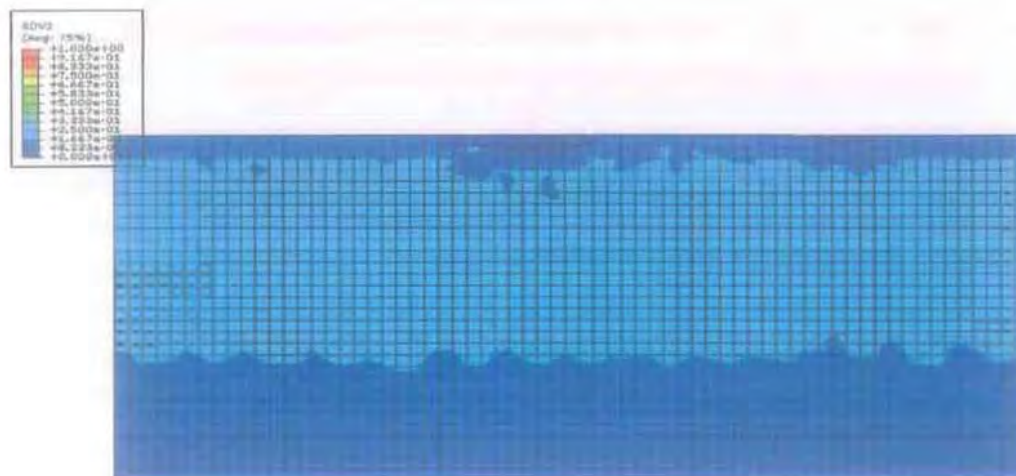
(β)

Σχήμα 16: Πυκνότητα ενεργών μικροοργανισμών (α)μοντέλο UMCCA, (β) μοντέλο TUDelft

αναπνοή κατά πολύ μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, οπότε οι συγκεντρώσεις των ενεργών γίνονται ακόμη χαμηλότερες, ενώ οι συγκεντρώσεις των αδρανών αυξάνονται πολύ περισσότερο στα κάτω στρώματα. Ως φυσική απόρροια της μεγαλύτερης ηλικίας της βιομάζας που βρίσκεται κοντά στα κάτω στρώματα, το ποσοστό των αδρανών μικροοργανισμών είναι ψηλότερο στις χαμηλότερες στοιβάδες. Τέλος, βλέπουμε ότι στα κατώτερα στρώματα του βιοφίλμ του μοντέλου TUDelft έχουμε μια μικρή παρουσία ενεργών μικροοργανισμών, ενώ στο μοντέλο UMCCA στο ίδιο σημείο η συγκέντρωση τους αγγίζει το μηδέν. Αυτό πιθανότατα συμβαίνει λόγω της διαφοράς ηλικίας των δυο δοκιμίων. Εφόσον αυτό του UMCCA είναι κατά πολύ γηραιότερο, είναι αναμενόμενο στα κατώτερα στρώματα όπου δεν φτάνει η διάχυση του υποστρώματος να έχουμε πολύ λιγότερα ενεργά βακτήρια.



(α)

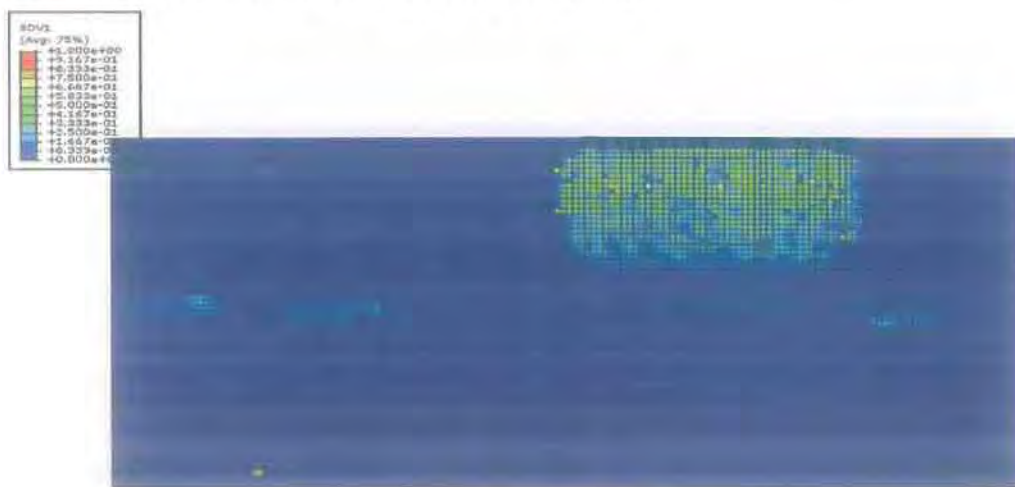


(β)

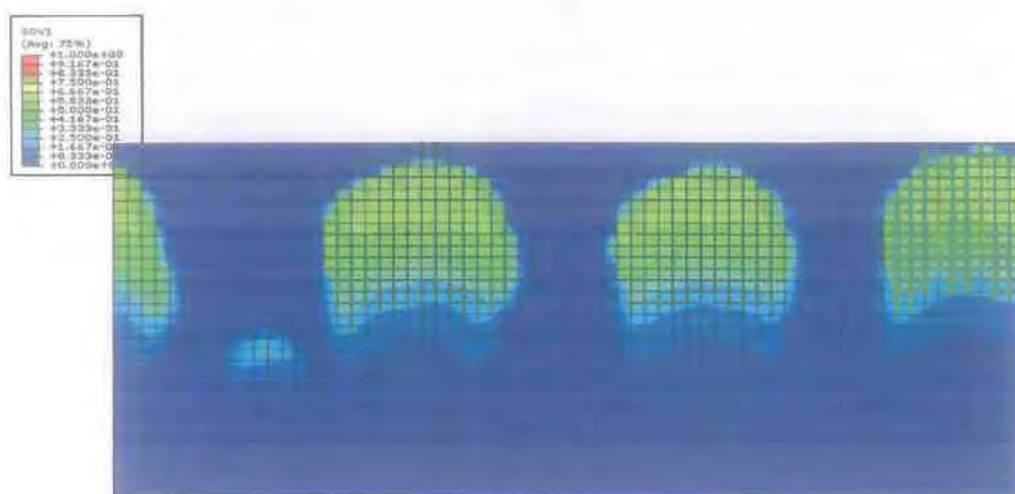
Σχήμα 17: Πυκνότητα EPS, (α) μοντέλο UMCCA, (β) μοντέλο TUDelft

Στη συγκέντρωση του EPS παρατηρούμε ότι αυτή είναι μεγαλύτερη ψηλότερα στον όγκο του στοιχείου. Αυτό συμβαίνει διότι το EPS δημιουργείται από τα ενεργά βακτήρια και συγκεντρώνεται γύρω τους (εκτός από ένα μέρος του που υδρολύεται), άρα είναι αναμενόμενο να έχουμε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στα ψηλότερα στρώματα, εκεί όπου είναι μεγαλύτερη και η συγκέντρωση ενεργών σωματιδίων.

Στα ίδια ποιοτικά επίπεδα κινούνται και οι συγκεντρώσεις των μανιταροειδών σχηματισμών (σχήμα 18): Όπως και στους λείους σχηματισμούς, έτσι και εδώ η ενεργός βιομάζα συγκεντρώνεται στα ανώτερα στρώματα. Στους μανιταροειδείς σχηματισμούς δεν παρατηρείται διάφορα συγκέντρωσης ούτε στα κατώτερα στρώματα επειδή, λόγω της μικρής συγκέντρωσης υποστρώματος όπως αναφέρθηκε, έχει περάσει αρκετός χρόνος ώστε να έχουμε μόνο αδρανείς μικροοργανισμούς.



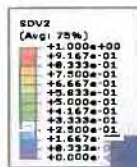
(α)



(β)

Σχήμα 18: Συγκεντρώσεις ενεργών βακτηρίων στις μανιταροειδείς διατομές (α) UMCCA
(β) TUDelft

Παρατηρούμε ότι σε γενικές γραμμές τα δυο μοντέλα παράγουν την ίδια κατάσταση, με εξαίρεση την κατανομή της ολικής πυκνότητας, κάτι που όπως ειπαμε οφείλεται στη διαδικασία της παγιοποίησης που περιλαμβάνει το μοντέλο. Ποιο από τα δυο μοντέλα είναι όμως κοντύτερα στην πραγματικότητα; Και τα δυο μοντέλα έχουν επιβεβαιωθεί με πειραματικά δεδομένα. Αυτό μας δείχνει ότι το κάθε μοντέλο ανταποκρίνεται καλύτερα σε διαφορετικές συνθήκες. Η παγιοποίηση που περιλαμβάνεται στο μοντέλο UMCCA αντιπροσωπεύει ουσιαστικά την συμπίκνωση που επέρχεται στο βιοφίλμ λόγω μικροδονήσεων που προκαλούνται από συγκρούσεις αδρανών υλικών, από τυρβώδη ροή ή άλλους παράγοντες. Άρα το μοντέλο UMCCA πιθανώς θα αποδώσει καλύτερα την ανάπτυξη βιοφίλμ υπό συνθήκες έντονα τυρβώδους ροής. Από την άλλη πλευρά βλέπουμε το βιοφίλμ που παράγεται από το μοντέλο



(α)

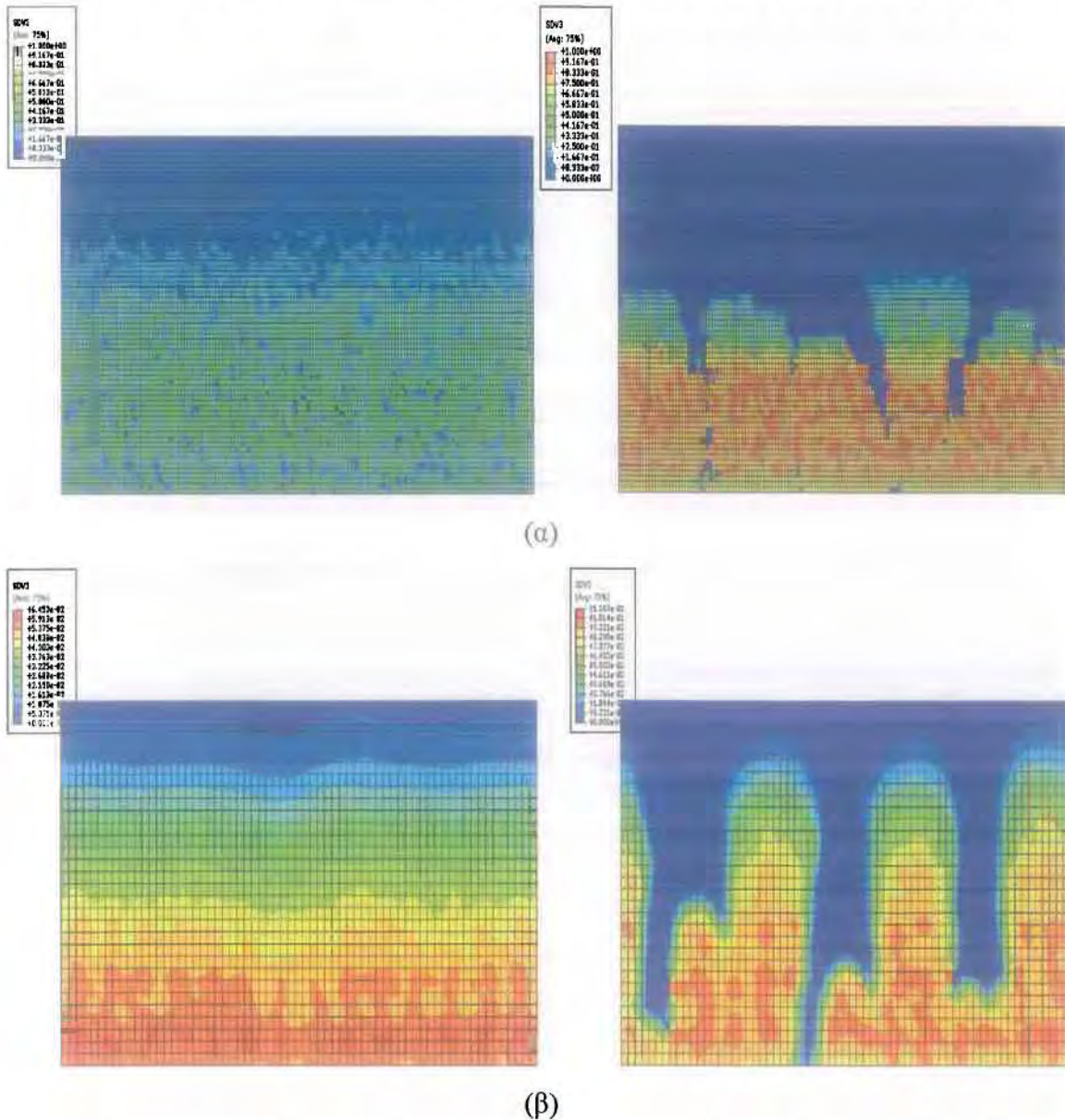


(β)

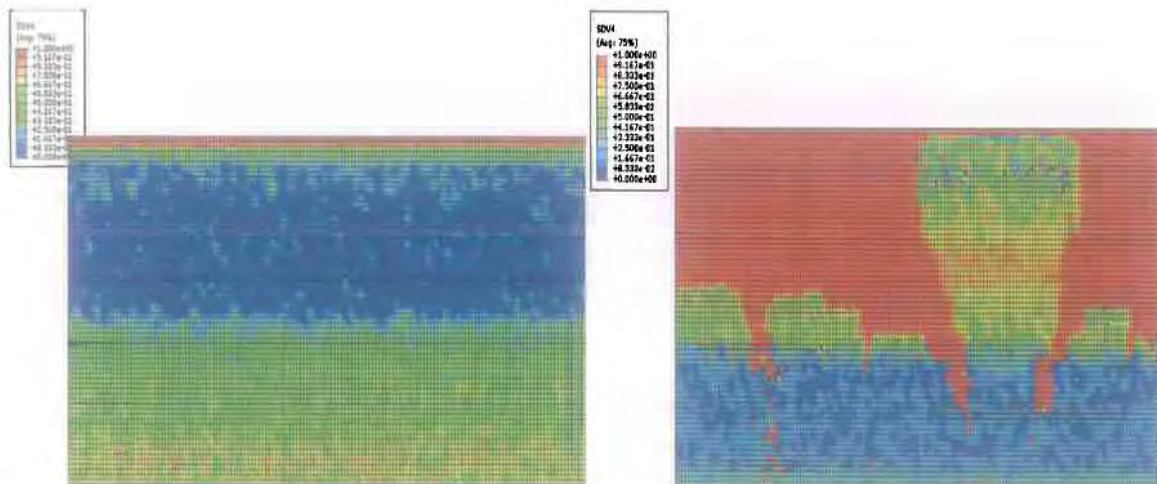
Σχήμα 19: Συγκεντρώσεις EPS στις μανιταροειδείς διατομές (α) UMCCA (β) TUDelft

TU Delft να είναι ιδιαίτερα χαλαρό, χωρίς μεγάλη συνοχή. Ένα βιοφίλμ τέτοιας μορφής είναι δύσκολο να επιβιώσει σε περιβάλλον με δυνάμεις αποκόλλησης (ποτάμια, χείμαρροι). Άρα το μοντέλο UMCCA θα απέδιδε καλύτερα βιοφίλμ που αναπτύσσονται σε περιβάλλον με ελάχιστη ίσως και καθόλου ροή (ταμειυτήρες, δεξαμενές, στάσιμα νερά).

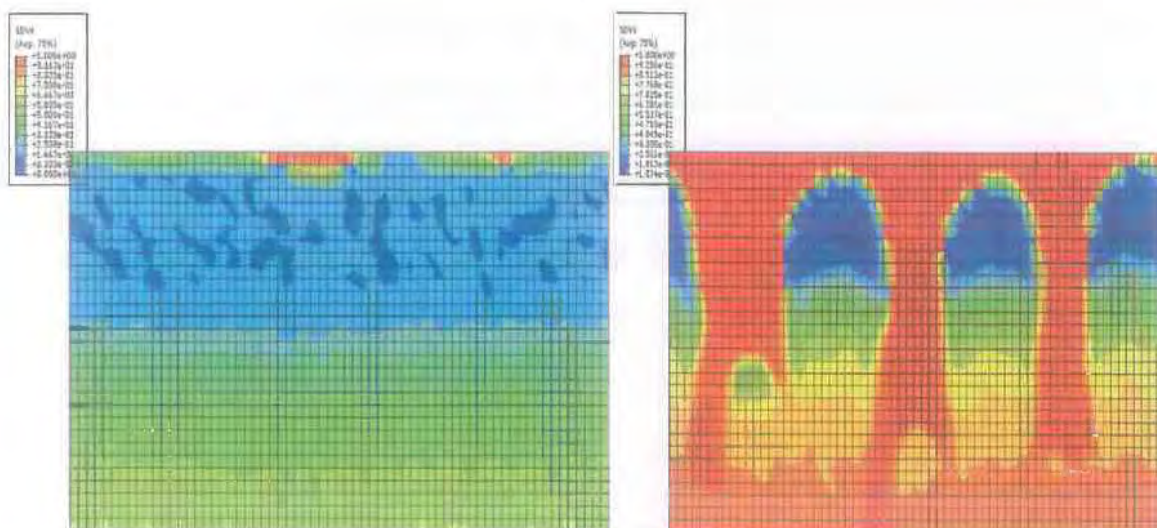
Οι συγκεντρώσεις των αδρανών μικροοργανισμών (σχήμα 20) και στα δυο μοντέλα δίνονται όπως αναμενόταν, και όπως συναντώνται στη φύση. Είναι κατά πολύ μεγαλύτερες στα κατώτερα στρώματα, κατ' επέκταση της συγκέντρωσης των ενεργών. Οι οργανισμοί που βρίσκονται μακριά από το υπόστρωμα δεν απολαμβάνουν μεγάλης συγκέντρωσης διατροφικών στοιχείων και αδρανοποιούνται με το πέρασμα του χρόνου.



Σχήμα 20: Πυκνότητα αδρανών μικροοργανισμών (α) UMCCA (β) TU Delft



(α)



(β)

Σχήμα 21: Πυκνότητα κενών (α) UMCCA (β) TUDelft

Όσον αφορά το δείκτη πόρων, παρατηρούμε ότι ενώ στο λείο δοκίμιο δεν υπάρχει διαφορά ανάμεσα στα δυο μοντέλα, στο μανιταροειδές οι συγκέντρωση των κενών είναι αντίστροφα, στα ανώτερα στρώματα στο UMCCA, στα κατώτερα στο TUDelft. Αυτό συμβαίνει εξαιτίας του αλγόριθμου παγιοποίησης που περιλαμβάνει το UMCCA και της μεγάλης ηλικίας του δοκιμίου, που σημαίνει ότι το δοκίμιο είχε αρκετό χρόνο να παγιοποιηθεί.

5.1. Ομογενοποίηση και υπολογισμός μηχανικών ιδιοτήτων

Για την επεξεργασία, δημιουργούμε τα κλάσματα κάθε συστατικού μέρους του βιοφίλμ κατά όγκο. Αυτό γίνεται διαιρώντας την τιμή που παίρνουμε από το μοντέλο για

κάθε μεταβλητή με την αντίστοιχη μέγιστη δυνατή συγκέντρωση (τιμή που εμείς ορίζουμε κατά τον προγραμματισμό του μοντέλου: 70 g/l για τα ενεργά, 200g/l για το EPS, 220 g/l για τα αδρανή).

Έτσι έχουμε:

c_1 : κλάσμα ενεργών

c_2 : κλάσμα EPS

c_3 : κλάσμα αδρανών

c_4 : κλάσμα κενών (σ.σ.: $c_4=1- C_1- C_2- C_3$)

Με αυτόν τον τρόπο παίρνουμε μια ακριβή εικόνα για το ποσοστό του κάθε συστατικού που υπάρχει σε κάθε πεδίο του μητρώου μας. Στη συνέχεια υπολογίζονται τα E, ν , G, K κάθε κελιού με τη διαδικασία που αναφέρεται στο κεφάλαιο 4. Αυτό καθιστά την εντατική ανάλυση ιδιαίτερα περίπλοκη, αλλά και εξαιρετικά ακριβή, καθώς με αυτόν τον τρόπο θα αποκαλυφθούν ασθενή σημεία αναλόγως τη σύστασή τους.

Με τα νέα αυτά δεδομένα, είμαστε σε θέση πλέον να εισάγουμε τα δείγματά μας σε πρόγραμμα πεπερασμένων στοιχείων και να εφαρμόσουμε φορτία. Το πρόγραμμα που χρησιμοποιήθηκε εν προκειμένω είναι το ABAQUS. Στο πρόγραμμα εισάγονται εφαρμόζονται τα φορτία με τη μορφή βηματικής μετατόπισης. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, επιλέχθηκε να μετακινηθεί τμηματικά ολόκληρο το πάνω μέρος του στοιχείου. Εδώ πρέπει να σημειωθεί ότι η ανάλυση δεν μπορεί να συνεχιστεί όταν ο φορέας παραμορφώνεται υπερβολικά. Οι συγκεκριμένοι φορείς, δηλαδή τα δοκίμια βιοφίλμ, έχουν πολλά κενά, ειδικά αυτοί με τους δακτύλους. Αυτό σημαίνει μηδενικό μέτρο ελαστικότητας, συνεπώς μηδενική αντίσταση στην επιβολή του φορτίου, συνεπώς υπερβολική, μη αντιπροσωπευτική παραμόρφωση. Για να αποφευχθεί κάτι τέτοιο, το G του κενού, αντί να ληφθεί ίσο με το μηδέν, λαμβάνεται ίσο με το 1/60 του G_{EPS} , δηλαδή

$$G_{\text{κενού}}=G_{EPS}/60=0.34 \text{ Pa}$$

το οποίο φυσικά είναι αμελητέο σε σχέση με τα υπόλοιπα μεγέθη, είναι ταυτόχρονα ικανό να επιτρέψει την ολοκλήρωση της ανάλυσης.

Η ανάλυση σε επίπεδη τάση παράγει τα εξής αποτελέσματα:

Mat:

TUDelft		UMCCA	
Φορτίο (N)	Μετατόπιση (mm)	Φορτίο (N)	Μετατόπιση (mm)
0	0	0	0
1.34E-08	0.0005	2E-08	0.0005
2.68E-08	0.001	3.93E-08	0.001
4.71E-08	0.00175	7.02E-08	0.00175
7.45E-08	0.00275	1.13E-07	0.00275
1.02E-07	0.00375	1.58E-07	0.00375
1.3E-07	0.00475	2.05E-07	0.00475
1.59E-07	0.00575	2.55E-07	0.00575
1.88E-07	0.00675	3.06E-07	0.00675
2.17E-07	0.00775	3.59E-07	0.00775
2.47E-07	0.00875	4.14E-07	0.00875
2.77E-07	0.00975	4.7E-07	0.00975
3.07E-07	0.01075	5.28E-07	0.01075
3.38E-07	0.01175	5.88E-07	0.01175
3.69E-07	0.01275	6.49E-07	0.01275

Mushroom:

TUDelft		UMCCA	
Φορτίο (N)	Μετατόπιση (mm)	Φορτίο (N)	Μετατόπιση (mm)
0	0	0	0
4.85E-09	0.0005	5.1E-09	0.0005
9.68E-09	0.001	1.02E-08	0.001
1.71E-08	0.00175	1.79E-08	0.00175
2.71E-08	0.00275	2.85E-08	0.00275
3.73E-08	0.00375	3.94E-08	0.00375
4.77E-08	0.00475	5.05E-08	0.00475
5.84E-08	0.00575	6.19E-08	0.00575
6.92E-08	0.00675	7.35E-08	0.00675
8.02E-08	0.00775	8.54E-08	0.00775
9.15E-08	0.00875	9.76E-08	0.00875
1.03E-07	0.00975	1.1E-07	0.00975
1.15E-07	0.01075	1.23E-07	0.01075
1.26E-07	0.01175	1.36E-07	0.01175
1.39E-07	0.01275	1.49E-07	0.01275

Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στα εξής διαγράμματα:

Λαμβάνοντας τις τιμές του φορτίου και της αντίστοιχης μετατόπισης, μπορούμε να υπολογίσουμε τα αντίστοιχα μέτρα ελαστικότητας E για κάθε περίπτωση από την κλίση της καμπύλης στο σχήμα 19. Έτσι υπολογίζεται:

- TUDelft, Mat:

$$E=12,44 \text{ Pa}$$

- UMCCA, Mat:

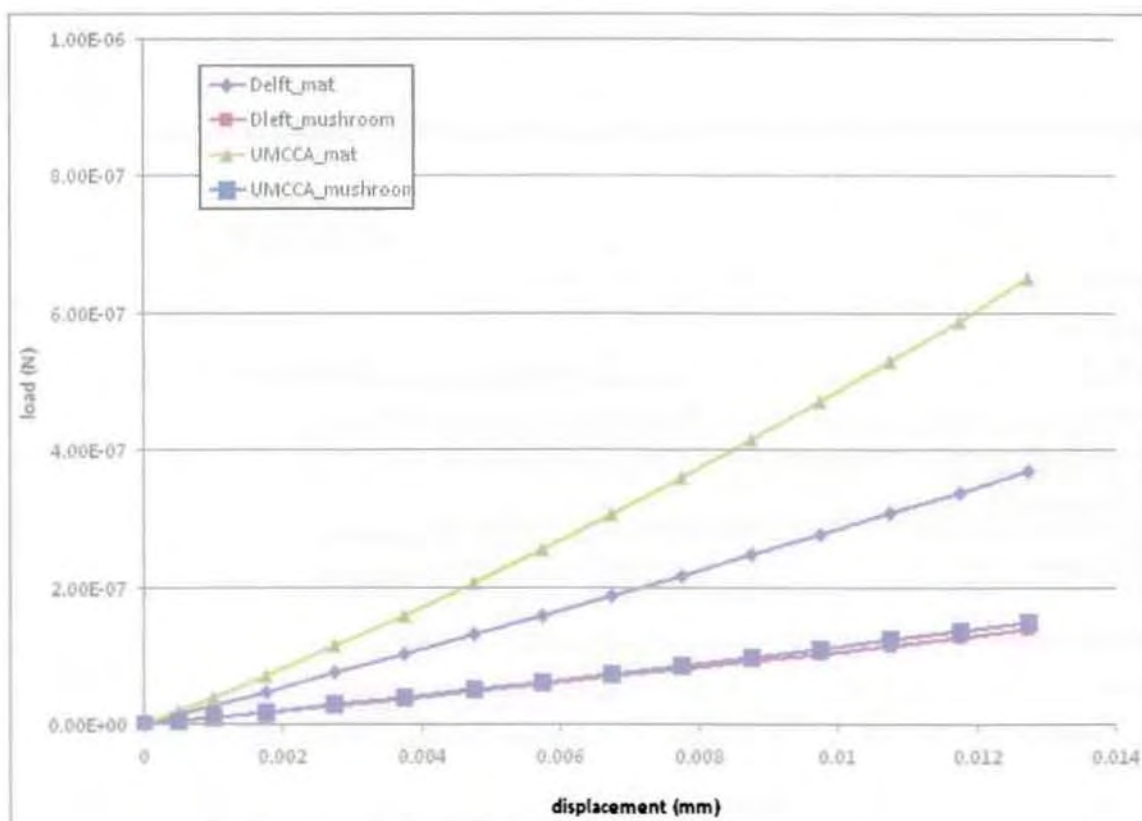
$$E=22,07 \text{ Pa}$$

- TUDelft, Mushroom:

$$E=4,71 \text{ Pa}$$

- UMCCA, Mushroom:

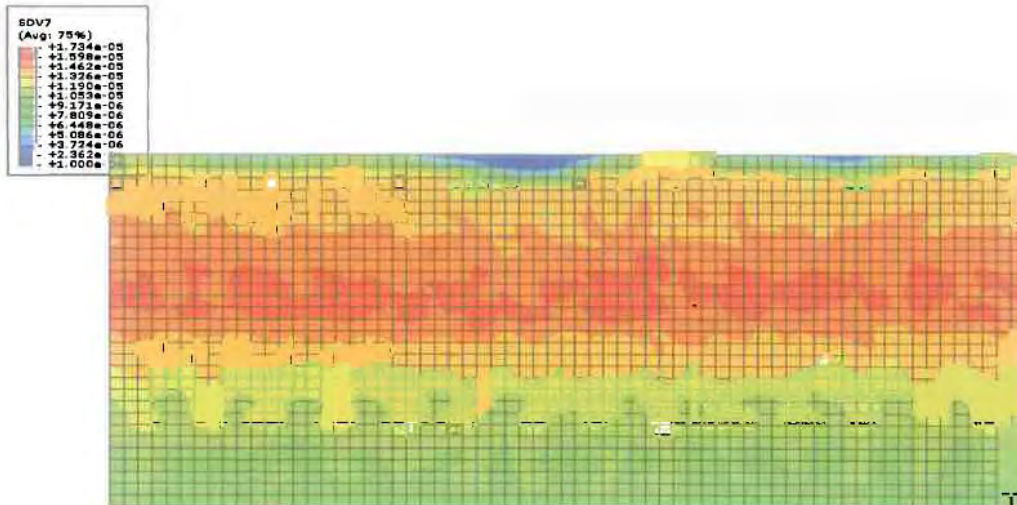
$$E=5,06 \text{ Pa}$$



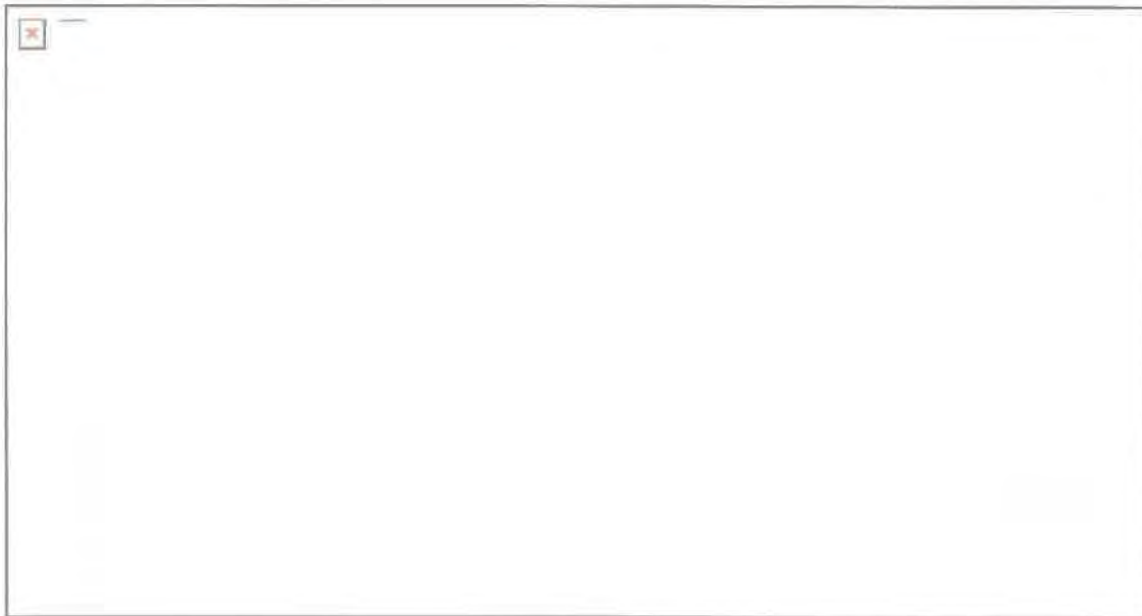
Σχήμα 19 : Γραφικές παραστάσεις φορτίου – μετατόπισης

5.2. Παρατηρήσεις επί των αποτελεσμάτων της ανάλυσης:

1. Παρατηρούμε αρχικά ότι τα mat δοκίμια έχουν μεγαλύτερο μέτρο ελαστικότητας από τα mushroom. Αυτό οφείλεται στο μεγάλο κενό μέρος της διατομής των mushroom. Ενώ τα δυο είδη δοκιμίων αποτελούνται από περίπου το ίδιο υλικό, είναι λογικό η διαφορετική γεωμετρία της μανιταροειδούς διατομής με τα πολλά κενά να οδηγήσει σε μικρότερο μέτρο ελαστικότητας.
2. Παρατηρούμε ότι το δοκίμιο με το μεγαλύτερο μέτρο ελαστικότητας είναι το mat του μοντέλου UMCCA. Και αυτό γιατί το μοντέλο UMCCA περιλαμβάνει στον αλγόριθμό του την παγιοποίηση (παρ. 2.2.1.3.), δηλαδή σε κάθε βήμα, στα κατώτερα στρώματα, μειώνει το κλάσμα των κενών και συμπυκνώνει το βιοφίλμ. Συνεπώς, εφόσον το βιοφίλμ σε αυτό το δοκίμιο παγιοποιείται, συμπεριφέρεται ως ισχυρότερο υλικό. Αυτός είναι και ο λόγος που θεωρούμε ότι το βιοφίλμ που παράγεται από το μοντέλο UMCCA είναι πιο ανθεκτικό σε εξωτερικές δυνάμεις και θα μπορούσε να προσομοιάζει βιοφίλμ που συναντάται σε έντονα τυρβώδη ροή.
3. Παρατηρούμε ότι τα διαγράμματα δεν είναι απόλυτα ευθύγραμμα. Αυτό είναι αναμενόμενο και οφείλεται στο γεγονός ότι καθώς το βιοφίλμ συμπιέζεται, όπως και σε όλα τα υλικά αλλά στο βιοφίλμ ακόμα περισσότερο, τα κενά μικραίνουν με αποτέλεσμα την πύκνωση του. Έτσι, όσο προχωρά η εφαρμογή του φορτίου, έχουμε σταδιακή αύξηση του μέτρου ελαστικότητας. Αυτό γίνεται πιο ξεκάθαρο αν δούμε τα διαγράμματα του E πριν και μετά την επιβολή του φορτίου, ως παράδειγμα υπολογίζεται το E του δικιμίου TUDELFT mat (σχήμα 20). Η μεταβολή (το κλείσιμο των κενών) φαίνεται στο σχήμα 21. Η παρατήρηση αυτή ισχύει για όλα τα δοκίμια.



(α)



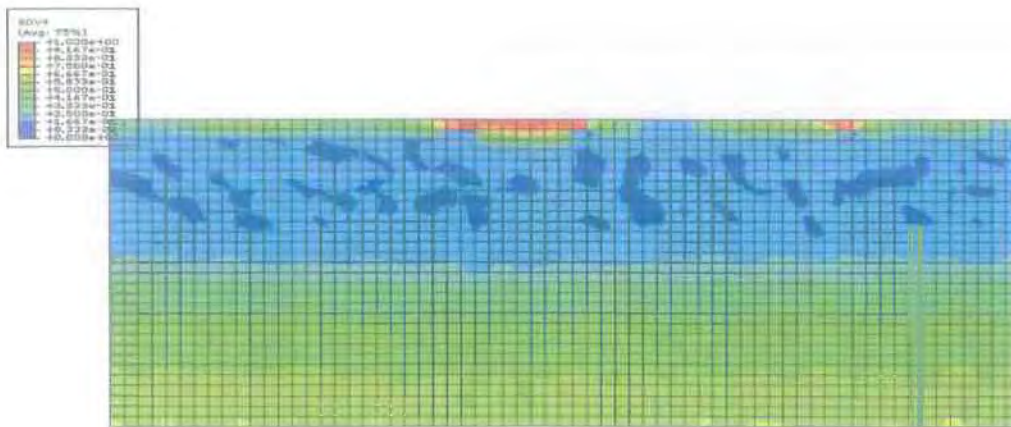
(β)

Σχήμα 20: (α) Ε πριν την επιβολή του φορτίου στο δοκίμιο TUDelft mat (β) Ε μετά την επιβολή του φορτίου στο ίδιο δοκίμιο

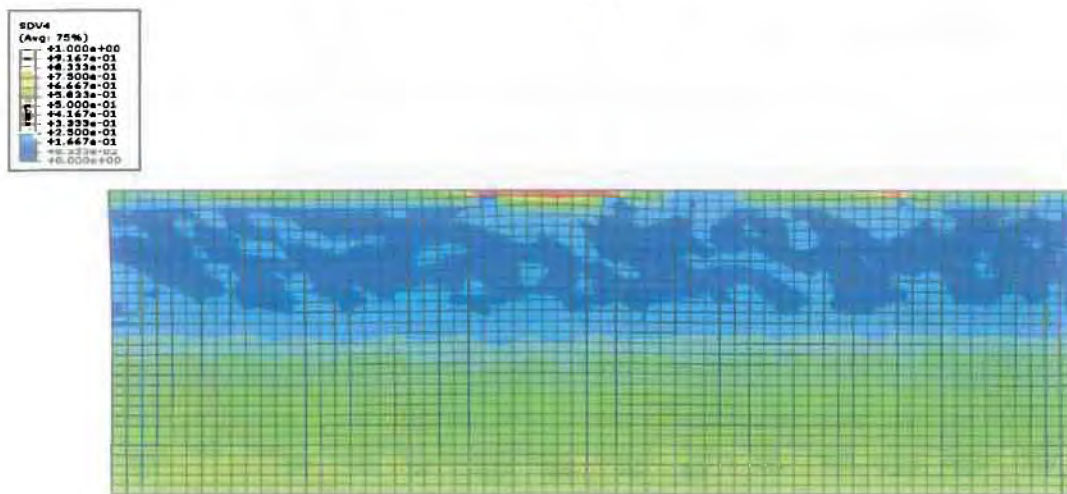
$$E_{\text{πριν}} = 11,7 \text{ Pa}$$

$$E_{\text{μετα}} = 12,44 \text{ Pa}$$

Αυτό το φαινόμενο που παρατηρείται είναι πολύ σημαντικό, καθώς μας δείχνει ότι το βιοφίλμ συμπυκνώνεται και αποκτά μεγαλύτερο μέτρο ελαστικότητας με την επιβολή των φορτίων. Έτσι, το πέρασμα του χρόνου επηρεάζει το βιοφίλμ και μέσω των φορτίων που του ασκούνται, καθώς από την ανάλυση φαίνεται ότι ένα βιοφίλμ που έχει υποστεί για περισσότερο καιρό φορτία είναι πιο συμπαγές από ότι ένα νέο βιοφίλμ. Στη φύση το συνηθέστερο φορτίο που δέχονται τα βιοφίλμ είναι υδροστατική πίεση.



(α)



(β)

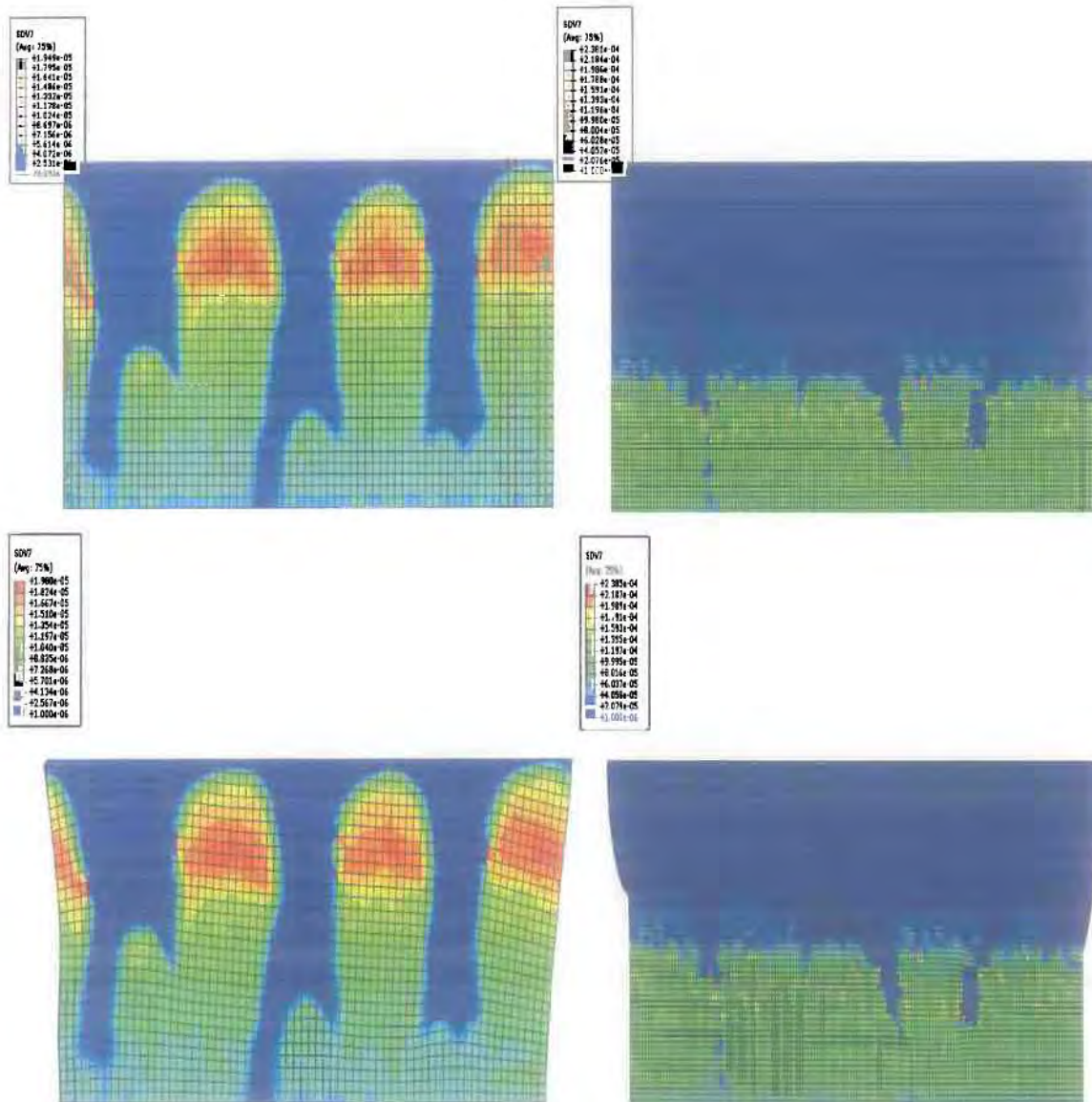
Σχήμα 21: Ποσοστό κενών (α) πριν την επιβολή του φορτίου (β) μετά την επιβολή του φορτίου

4. Παρατηρούμε ότι οι τιμές στα δυο μανιταροειδή δοκίμια είναι σε γενικές γραμμές πολύ κοντά, παρόλο που οι διατομές τους είναι πολύ διαφορετικές. Αυτό μπορεί να μας οδηγήσει στο συμπέρασμα ότι από αυτή τη γενικότερη μορφή δοκιμίων δεν μπορούν να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα. Ο λόγος που οι τιμές είναι τόσο κοντά είναι πιθανότατα η ελάχιστη τιμή του μέτρου ελαστικότητας που δώσαμε στο κενό ανάμεσα στους δακτύλους για τις ανάγκες της ανάλυσης. Το μεγαλύτερο μέρος αυτών των διατομών είναι κενό, άρα είναι λογικό τα τελικά αποτελέσματα να επηρεάζονται σημαντικά από αυτό.

5. Παρατηρούμε ότι το μετρούμενο E συνολικά της διατομής είναι σχετικά μικρό, και πιο κοντά στην τιμή του E των ενεργών μικροοργανισμών ($E_{act}=10Pa$). Ένας λόγος που μπορεί να οδηγήσει σε μικρό μέτρο ελαστικότητας είναι το ότι στα κορυφαία στρώματα του βιοφίλμ, η επιφάνεια δεν είναι τελείως λεία. Μικροεξοχές που συνθλίβονται κατά την επιβολή των πρώτων βημάτων μπορεί να επηρεάσουν ελαφρώς το τελικό αποτέλεσμα. Ακόμη, η σύσταση στο ίδιο σημείο είναι η πιο πρόσφατη, με αποτέλεσμα εκεί να έχει και μικρό μέτρο ελαστικότητας.

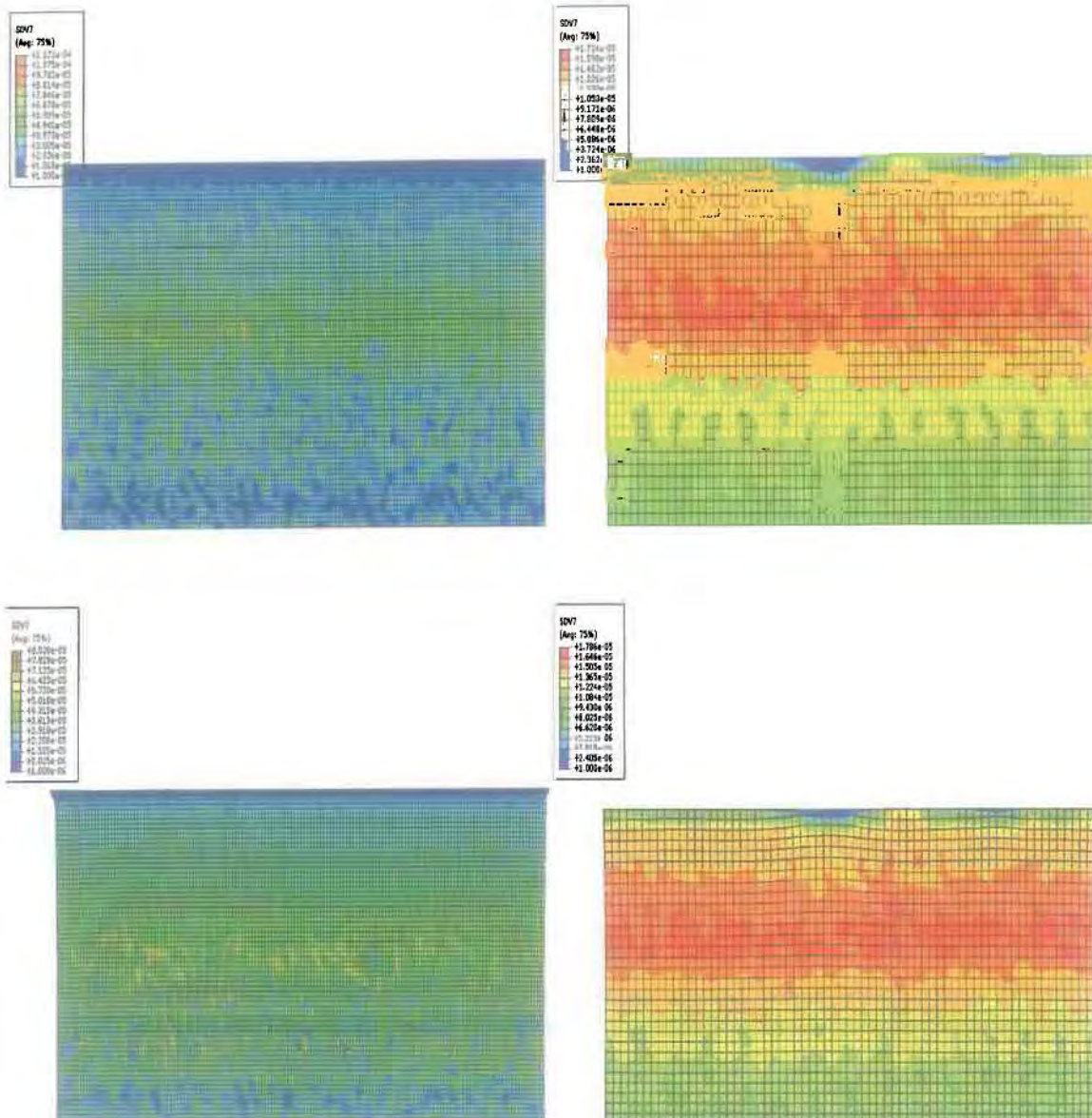
Αναλυτικά οι μεταβολές του E σε όλες τις διατομές:

Διατομή	$E_{πριν}$	$E_{μετα}$
UMCCA mat	16,5 Pa	22,07 Pa
UMCCA mushroom	4,16 Pa	5,06 Pa
TU Delft mat	11,7 Pa	12,44 Pa
TU Delft mushroom	4,04 Pa	4,71 Pa



Σχήμα 22: Μεταβολή του E στα δοκίμια mushroom

Σε αυτό το δοκίμιο βλέπουμε ότι ακόμα και μετά την επιβολή του φορτίου έχουμε κάποια πολύ ασθενή σημεία στη βάση του βιοφίλμ, και κάποια άλλα στην κορυφή του. Αυτό σημαίνει ότι είναι τα πιθανότερα σημεία για αστοχία του υλικού. Κάτι τέτοιο στην επιφάνεια θα σήμαινε αποκόλληση κάποιων μικρών κομματιών βιομάζας σε τοπικό επίπεδο. Μια αστοχία σε ασθενές σημείο της βάσης θα σήμαινε αποκόλλησης ενός σημαντικού μέρους της βιομάζας. Πράγματι στη φύση απαντάται συχνά αυτό το φαινόμενο, το οποίο μάλιστα είναι ένα σημείο που δυσκολεύει ιδιαίτερα την μοντελοποίηση. Το πολύ μικρό μέτρο ελαστικότητας σε αυτά τα σημεία οφείλεται στο μεγάλο πορώδες της περιοχής.



Σχήμα 23: Μεταβολή του E στα δοκίμια mat

Σε αυτό το δοκίμιο βλέπουμε ότι το μέτρο ελαστικότητας είναι μεγαλύτερο στο μέσον του ύψους του. Κάτι τέτοιο επίσης οδηγεί σε αποκόλληση βιομάζας από τα ανώτερα στρώματα, τα οποία είναι χαλαρά δομημένα λόγω της μικρής τους ηλικίας. Το μικρό μέτρο ελαστικότητας κοντά στην βάση θα μπορούσε να οδηγήσει σε αποκόλληση, η λεία και συνεχής ροή του υπερκείμενου βιοφίλμ όμως δεν επιτρέπει στο υγρό να εισχωρήσει σε τέτοιο βάθος και να δημιουργήσει έντονες δυνάμεις αποκόλλησης.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- N. Aravas and C. S. Laspidou, 2008. On the calculation of the elastic modulus of a biofilm streamer', accepted for publication in *Biotechnology and Bioengineering*
- Beuling, E.E., van Dusschoten, D., Lens, P., van den Heuvel, J.C., Van As, H., and Ottengraf, S.P.P.. 1998. Characterization of the diffusive properties of biofilms using pulsed field gradient-nuclear magnetic resonance. *Biotechnol Bioeng* **60**: 283–291.
- Beuling, E.E., van den Heuvel, J.C., and Ottengraf, S.P.P. 2000. Diffusion coefficients of metabolites in active biofilms. *Biotechnol Bioeng* **67**: 53–60.
- Bishop, P.L., T.C. Zhang and Y.-C. Fu. 1995. Effects of biofilm structure, microbial distributions and mass transport on biodegradation processes, *Water Science and Technology*, **31**(1), pg.143-152.
- Characklis W. G. and Marshall K. C. (eds). (1990). *Biofilms*. Wiley, New York.
- Cooke, A.J., R.K. Rowe, B.E. Rittmann and I.R. Fleming. 1999. Modeling Biochemically Driven Mineral Precipitation in Anaerobic Biofilms. *Water Science and Technology*, **39**(7), 57-64.
- Cooke, A. J., R. K. Rowe, B. E. Rittmann, J. vanGulck, and S. Millward. 2001. Biofilm growth and mineral precipitation in synthetic leachate columns. *J. Geotechnical. Geoenviron. Engr.*, accepted.
- Costerton, J.W., Z. Lewandowski, D. deBeer, D. Caldwell, D. Korber, and G. James. 1994. Minireview: biofilms, the customized microniche. *J. Bacteriol.* **176**(8), 2137-2142.
- Davies D.G. 1999. Regulation of Matrix Polymer in Biofilm Formation and Dispersion, in: *Microbial Extracellular Polymeric Substances: Characterization, Structure and Function* by Wingender J., Neu T. R. and Flemming H.-C. (eds.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Eberl, H.J., Parker, D.F. and van Loosdrecht, M.C.M. 2001. A New Deterministic Spatio-Temporal Continuum Model for Biofilm Development. *Journal of Theoretical Medicine*, **3**, 161-175.
- Eberl, H.J., Picioreanu, C., Heijnen, J.J. and van Loosdrecht, M.C.M. 2000. A three-dimensional numerical study on the correlation of spatial structure, hydrodynamic conditions, and mass transfer and conversion in biofilms. *Chem. Eng. Sci.*, **55**, 6209-6222.
- Furumai H. and Rittmann B. E. 1994. Interpretation of bacterial activities in nitrification filters by a biofilm model considering the kinetics of soluble microbial products. *Water Sci. Technol.* **30**(11), 147-156.

- Gujer, W., and Larsen, T.A. 1995. The implementation of biokinetics and conservation principles in ASIM. *Water Sci Technol* **31**: 257–266.
- Horn, H., Neu, T.R., and Wulkow, M. 2001. Modelling the structure and function of extracellular polymeric substances in biofilms with new numerical techniques. *Water Sci Technol* **43**: 121–127.
- Hsieh K. M., Murgel G. A., Lion L. W. and Shuler M. L. (1994) Interactions of microbial biofilms with toxic trace metals 1. Observation and modeling of cell growth, attachment, and production of extracellular polymer. *Biotechnol. Bioeng.*, **44**, 219-231.
- Kissel, J.C., P.L. McCarty and R.L. Street. 1984. Numerical simulation of mixed-culture biofilm. *Journal of Environmental Engineering*, **110(2)**, p. 393-411.
- Kreft, J.-U., Booth, G. and Wimpenny, J.W.T. 1998. BacSim, a simulator for individual-based modeling of bacterial colony growth. *Microbiology*, **144**, 3275-3287.
- Kreft, J.-U. and J.W.T. Wimpenny. 2001. Numerical simulation of mixed-culture biofilm. *Journal of Environmental Engineering*, **110(2)**, p. 393-411
- Kreft J-U, Wimpenny JWT. 2001. Effect of EPS on biofilm structure and function as revealed by an individual-based model of biofilm growth. *Water Sci Technol*;43(6):135–41.
- Lapidou, C.S. and B.E. Rittmann. 2002a. A unified theory for extracellular polymeric substances, soluble microbial products, and active and inert biomass. *Water Research* **36**, p. 2711-2720.
- Lapidou, C.S. and B.E. Rittmann. 2002b. Non-steady state modeling of extracellular polymeric substances, soluble microbial products, and active and inert biomass. *Water Research* **36**, p. 1983-1992.
- Lapidou, C.S., Rittmann, B.E., 2004. Modeling the development of biofilm density including active bacteria, inert biomass, and extracellular polymeric substances. *Water Res.*, in press, doi:10.1016/j.watres.2004.04.037
- Lapidou, C. S. Rittmann, B. E. 2004b. Evaluating trends in biofilm density using the UMCCA model. *Water Research* **38**, 3362–3372
- Lapidou, C.S., Rittmann, B.E. and Karamanos, S.A. 2005. Finite element modeling to expand the UMCCA model to describe biofilm mechanical behavior. *Wat. Sci. Tech.*, 52(7), 161.
- Lapidou, C.S. and Aravas, N. 2007. *Water Science & Technology* Vol 55 No 8–9 pp 447–453 Q IWA Publishing
- Noguera D. R., Araki N., and Rittmann B.E. (1994) Soluble microbial products in anaerobic chemostats. *Biotechnol. Bioeng.*, **44**, 1040-1047.

- Noguera, D.R., G. Pizarro, D.A. Stahl, and B.E. Rittmann. 1999a. Simulation of multispecies biofilm development in three dimensions. *Water Science and Technology*, **39**(7),
- Noguera, D.R., G. Pizarro, D.A. Stahl, and B.E. Rittmann. 1999a. Simulation of multispecies biofilm development in three dimensions. *Water Science and Technology*, **39**(7),
- Noguera, D.R., Pizarro G., Stahl D.A., Rittmann B.E.. 1999. Simulation of multispecies biofilm development in three dimensions. *Water Sci Technol*;39(7):123–30.
- Noguera, D.R., Pizarro, G., and Clapp, L.W. 2000. Mathematical modeling of trichloroethylene (TCE) degradation in membrane-attached biofilms. *Water Sci Technol* **41**: 239–244.
- Noguera, D.R., and Picioreanu, C. (2004) Results from the multi-species Benchmark Problem 3 (BM3) using twodimensional models. *Water Sci Technol* **49**: 169–176.
- Nielsen P. H., Jahn A. and Palmgren R. 1997. Conceptual model for production and composition of exopolymers in biofilms. *Water Sci. Technol.* **36**, 11-19.
- Ohashi, A., T. Koyama, K. Syutsubo, and H. Harada. 1999. A novel method for evaluation of biofilm tensile strength resisting to erosion. *Water Science and Technology*, **39**(7), 261-268.
- Ohashi, A. and H. Harada. 1994. Adhesion strength of biofilm developed in an attached growth reactor. *Water Science and Technology*, **29**(10-11), 281-288.
- Ohashi, A. and H. Harada. 1996. A novel concept for evaluation of biofilm adhesion strength by applying tensile force and shear force. *Water Science and Technology*, **34**(5-6), 201-211.
- Picioreanu, C., M.C.M. van Loosdrecht, and J.J. Heijnen. 1998a. A New Combined Differential-Discrete Cellular Automaton Approach for Biofilm Modeling: Application for Growth in Gel Beads, *Biotechnology and Bioengineering*, **57**(6): 718-731.
- Picioreanu, C., M.C.M. van Loosdrecht, and J.J. Heijnen. 1998b. Mathematical Modeling of Biofilm Structure with a Hybrid Differential-Discrete Cellular Automaton Approach, *Biotechnology and Bioengineering*, **58**: 101-116.
- Picioreanu, C., M.C.M. van Loosdrecht, and J.J. Heijnen. 1999. Discrete-Differential Modeling of Biofilm Structure, *Water Science and Technology*, **39**(7), 115-122.
- Picioreanu, C., Van Loosdrecht, M.C.M., and Heijnen, J.J. 2000b. Effect of diffusive and convective substrate transport on biofilm structure formation: a two-dimensional modeling study. *Biotechnol Bioeng* **69**: 504–515.

- Picioreanu, C., M.C.M. van Loosdrecht, and J.J. Heijnen. 2001. Two-Dimensional Model of Biofilm detachment Caused by Internal Stress from Liquid Flow. *Biotechnol. Bioeng.*, **72**, 205-218.
- Picioreanu, C., and Van Loosdrecht, M.C.M. 2003. Use of mathematical modelling to study biofilm development and morphology. In *Biofilms in Medicine, Industry and Environmental Biotechnology – Characteristics, Analysis and Control*. Lens, P., O’Flaherty, V., Moran, A.P., Stoodley, P., and Mahony, T. (eds). London: IWA Publishing, pp. 413–437.
- Picioreanu, C., Kreft, J.U., and Van Loosdrecht, M.C.M. 2004. Particle-based multidimensional multispecies model. *Appl Environ Microbiol* **70**: 3024–3040.
- Pizarro, G., Griffeath, D. and D.R. Noguera. 2001. Quantitative Cellular Automaton Model for Biofilms. *Journal of Environmental Engineering*, **127(9)**, p. 782-789.
- Rittmann, B. E. and Brunner, C. W. 1984. The nonsteady-state-biofilm process for advances organics removal. *J. Water Pollution Control Fedn.* **56**, 874-880.
- Rittmann, B.E. and J.A. Manem. 1992. Development and Experimental Evaluations of a Steady-State, Multi-Species Biofilm Model. *Biotechnology and Bioengineering*, **39**:914-922.
- Rittmann B. E. and McCarty P. L. 2001. *Environmental Biotechnology: Principles and Applications*. Mc-Graw Hill, New York, NY.
- Robinson J. A., Trulear M. G. and Characklis W. G. (1984) Cellular Reproduction and Extracellular Polymer Formation by *Pseudomonas aeruginosa* in Continuous Culture. *Biotechnol. Bioeng.*, **26**, 1409-1417.
- Stewart, P.S. 1993. A model of biofilm detachment. *Biotechnol. Bioeng.* **41(1)**, p.111-117.
- Wanner, O., Gujer, W. 1986. A multispecies biofilm model. *Biotechnology and Bioengineering*, **28**: 314-328.
- Wanner, O., and Reichert, P. (1996) Mathematical modeling of mixed-culture biofilms. *Biotechnol Bioeng* **49**: 172–184.
- Xavier, J.B., Picioreanu, C., and Van Loosdrecht, M.C.M. 2004a. *Support material for ‘A Framework for Multidimensional Modelling of Activity and Structure of Multispecies Biofilms’* [WWW document]. URL <http://www.biofilms.bt.tudelft.nl/frameworkMaterial/> [accessed on 5 March 2005].
- Willis, J.R. 1980. Elasticity Theory of Composites, in: *Mechanics of Solids*, by Hopkins, H.G. and Sewell, M.J., eds. Pergamon Press, Oxford.
- Zhang, T.C. and P.L. Bishop. 1994. Density, porosity and pore structure of biofilms. *Water Research* **28**, 2267-2277.