

Gruppenaufgabe für das GdP-Praktikum

# **Modellierung eines Bioreaktors**

**Hagen Sparka**

# 1 Einleitung

In dieser Gruppenaufgabe für das GdP Praktikum im WS 2012/2013 soll es um die Modellierung eines Bioreaktors gehen. Der Bioreaktor und die Biologie als solche sollen hierbei allerdings nicht im Vordergrund stehen, es soll vielmehr darum gehen, wie man aus den - auf den folgenden Seiten zu findenden, näher erläuterten - Gleichungen, die den Bioreaktor mathematisch beschreiben, ein funktionsfähiges Modell entwickeln kann und wie man dieses Modell zur Lösung von - in unserem Fall fiktiven - Fragen bezüglich der Wirtschaftlichkeit eines solchen Bioreaktors verwenden kann.

Ich werde mich daher darum bemühen, den biologischen Hintergrund so weit er für unsere Fragestellung relevant ist, kurz und möglichst simpel zusammen zu fassen. Sollten sich dennoch fachliche Fragen ergeben, die für das Verständnis der Aufgaben von Bedeutung sind, bin ich gerne bereit, diese per Mail zu beantworten. Für Fragen, die über über die in dieser Aufgabe benötigten Informationen hinausgehen, bitte ich ein Fachbuch oder Wikipedia zu konsultieren.

## 2 Erklärung der Fachbegriffe

An dieser Stelle möchte ich die Bedeutung geläufiger Fachbegriffe erläutern.

### **Antibiotika:**

Bei Antibiotika handelt es sich um Stoffe, die meist essentielle Prozesse innerhalb der Zelle behindern und so zu ihrem Tod führen. Der Einfachheit halber gehen wir davon aus, dass Antibiotika im Rahmen dieser Aufgabe keine Wirkung auf den Menschen oder Viren haben.

### **Substrat:**

Umfasst die für die Fragestellung relevanten Nährstoffe für die Bakterien im Bioreaktor.

### **Bioreaktor:**

Eine Art großer gegenüber der Umwelt möglichst steril abgeschlossenes Behältnis, dessen Druck und Temperatur und Sauerstoffzufuhr geregelt werden kann. Im Bioreaktor werden die Bakterien gehalten, die sich vom Substrat ernähren und so verändert wurden, dass sie ein bestimmtes Produkt erzeugen.

### **Produkt:**

Unter dem Begriff Produkt soll in dieser Aufgabe ein nicht näher definierter, durch entsprechend genetisch veränderte Bakterien herstellbarer Stoff verstanden werden, für dessen Produktion auf einen Bioreaktor zurückgegriffen wird.

### **Medium:**

Als Medium bezeichnet man die wässrige Lösung aus Salzen, verschiedenen Zuckern, Aminosäuren und anderen organischen sowie anorganischen Verbindungen, in welchen sich die Mikroorganismen befinden.

### **Biomasse:**

Bezeichnet die Menge der lebendigen Bakterien im Bioreaktor in  $\frac{g}{l}$ .

# 3 Das Modell

Im Bioreaktor werden die durch Verfahren der Molekularbiologie veränderten Bakterien unter optimalen Bedingungen gehalten. Zusätzlich wird dafür gesorgt, dass diese Gefahr der Kontamination des Bioreaktors durch Bakterien, Viren oder Pilze von außerhalb des Reaktors möglichst klein ist und dass die Wahrscheinlichkeit dafür, dass die genetisch veränderten Bakterien in die Umwelt gelangen, so klein wie möglich ist.

Im Bioreaktor sind die Temperatur, der Druck und der Sauerstoffgehalt des Mediums, in welchem sich die Bakterien befinden, genau auf deren Bedürfnisse abgestimmt. Zudem werden sie durch die Zugabe des Substrats so gut wie möglich versorgt.

Um die Komplexität unseres Modells gering zu halten, werden wir, wie in der Biotechnologie üblich, die Bakterien in unserem Bioreaktor als sog. "Black Box" behandeln. Das bedeutet, dass wir nicht im Detail nachbilden werden, wie das Produkt in der Zelle hergestellt wird, wie es zu einer Erhöhung der Bakterienzahl kommt oder wann einzelne Bakterien absterben. Stattdessen werden wir die Gesamtheit der Bakterien in unserem Bioreaktor betrachten und mit Hilfe der im folgenden Kapitel erläuterten mathematischen Gleichungen ermitteln, wie sich unter den gegebenen Bedingungen die Biomasse unserer Bakterien verändert, wie schnell das Substrat verbraucht wird und wie schnell das Produkt erzeugt wird. Die Bakterien werden somit in ihrer Gesamtheit von uns wie eine große Maschine betrachtet, die Substrate in Produkte umwandelt.

Im Folgenden werden wir ein stark vereinfachtes Modell eines Bioreaktors entwickeln, welches am ehesten einem Bioreaktor mit Batch-Fahrweise entspricht. Bei einem solchen Reaktor werden die Substrate zu Beginn des Prozesses in hoher Konzentration in der Reaktor eingeleitet. Nach Zugabe der Bakterien werden im Normalfall anschließend keine Veränderungen am Bioreaktor mehr durchgeführt, bis die gewünschte Konzentration an Produkt erreicht wird, woraufhin der Bioreaktor sterilisiert und das Produkt entnommen wird.

Die wichtigsten Vereinfachungen gegenüber der Realität sind folgende:

## **Diffusion:**

Wir gehen davon aus, dass für die Diffusionsprozesse innerhalb des Reaktors keine Zeit benötigt wird und dass die Konzentration der verschiedenen Stoffe im Bioreaktor an jeder Stelle gleich hoch ist.

### **Uneingeschränkte Verfügbarkeit von Raum:**

Hiermit sind zwei Dinge gemeint:

- 1) Die Bakterien haben zu jeder Zeit hinreichend Platz um sich zu vermehren - es gibt keine Übersättigung des Systems solange genug Substrat vorhanden ist.
- 2) In späteren Simulationen wird es auch darum gehen, dass u.a. zusätzliches Substrat in den Bioreaktor gegeben wird. In solchen Fällen soll theoretisch unbegrenzt viel Substrat zugegeben werden - das Fassungsvermögen des Bioreaktors soll unbegrenzt sein.

### **Uneingeschränkte Verfügbarkeit von Sauerstoff:**

Zu jedem Zeitpunkt soll für jede beliebige Menge Mikroorganismen genügend Sauerstoff zur Verfügung stehen.

## 4 Die Formeln

Die folgenden mathematischen Formeln sollen zur Beschreibung der Vorgänge im Bioreaktor verwendet werden.

### Die Wachstumsrate:

Die Wachstumsrate [ $\mu$  in  $\frac{1}{h}$ ] beschreibt wie schnell die Bakterien wachsen. Die Wachstumsrate soll für unser Modell hauptsächlich von der Konzentration unseres Substrats [ $S$  in  $\frac{g}{l}$ ] abhängen. Hinzu kommen die für den Bakterienstamm spezifischen Konstanten  $\mu_{max}$ , bei der es sich um die maximal erreichbare Wachstumsrate handelt, und  $K_S$ , die reguliert, welchen Einfluss die Substratkonzentration auf die Wachstumsrate hat.

Die genannten Faktoren hängen nach dem Monod-Modell wie folgt zusammen:

$$\mu = \mu_{max} * \frac{S}{K_S + S}$$

### Die Sterberate:

Die Sterberate [ $D$  in  $\frac{1}{h}$ ] beschreibt, wie stark die Konzentration der Biomasse durch Absterbende Bakterien gesenkt wird. Sie hängt primär von der Substratkonzentration [ $S$  in  $\frac{g}{l}$ ] ab und wird durch die zwei Bakterienstamm spezifischen Konstanten  $K_3$  (in  $\frac{g}{l * h}$ ) und  $K_4$  (in  $\frac{g}{l}$ ) beeinflusst.

Die Sterberate soll über folgende Formel ermittelt werden:

$$D = \frac{K_3}{K_4 + S}$$

### Änderung der Biomasse:

Die Biomasse [ $\mathbf{X}$  in  $\frac{g}{l}$ ] der Bakterien ändert sich in Abhängigkeit der aktuellen Wachstumsrate [ $\mu$  in  $\frac{1}{h}$ ] und der Konzentration der Biomasse im zum letzten Sampling Schritt auf der einen Seite und in Abhängigkeit von der aktuellen Sterberate [ $\mathbf{D}$  in  $\frac{1}{h}$ ] und der Konzentration der Biomasse im zum letzten Sampling Schritt auf der anderen Seite.

Die Änderung der Biomasse [ $\Delta\mathbf{X}$  in  $\frac{g}{l}$ ] lässt sich wie folgt errechnen:

$$\Delta\mathbf{X} = (\mu * \mathbf{X} - \mathbf{D} * \mathbf{X}) * \Delta t$$

### **Änderung der Substratkonzentration:**

Die Änderung der Substratkonzentration [ $\Delta\mathbf{S}$  in  $\frac{g}{l}$ ] wird durch zwei Faktoren bestimmt. Zum einen benötigen die Bakterien zum Überleben eine gewisse Menge Substrat, welche von der Biomasse im letzten Sampling-Schritt [ $\mathbf{X}$  in  $\frac{g}{l}$ ] sowie dem konstanten Maintenance Faktor [ $f_M$  in  $\frac{1}{h}$ ] abhängt.

Zum anderen wird ein Teil des Substrates für die Vermehrung der Bakterien verbraucht. Die hierfür verbrauchte Substratmenge hängt von der Biomasse im letzten Sampling-Schritt [ $\mathbf{X}$  in  $\frac{g}{l}$ ], der aktuellen Wachstumsrate [ $\mu$  in  $\frac{1}{h}$ ] sowie der bakterienstamm spezifischen Konstante  $Y_{XS}$  (einheitenlos), welche das Verhältnis zwischen der Menge der neu entstandenen Biomasse und des dafür benötigten Substrates darstellt.

Die Änderung der Substratkonzentration soll errechnet werden über:

$$\Delta\mathbf{S} = (-\frac{\mu * \mathbf{X}}{Y_{XS}} - f_M * \mathbf{X}) * \Delta t$$

### **Änderung der Produktkonzentration:**

Die Änderung der Produktkonzentration [ $\Delta\mathbf{P}$  in  $\frac{g}{l * h}$ ] hängt ebenfalls von zwei Faktoren ab. Zum einen wird eine gewisse Menge an Produkt gebildet, welche in Abhängigkeit von der aktuellen Wachstumsrate [ $\mu$  in  $\frac{1}{h}$ ], der Biomasse im letzten Sampling-Schritt [ $\mathbf{X}$  in  $\frac{g}{l}$ ] sowie den beiden bakterienstamm spezifischen Konstanten  $K_1$  (in  $\frac{1}{h}$ ) und  $K_2$  (einheitenlos) abhängt. Hierbei beeinflusst  $K_1$ , wieviel Produkt von den bereits zum letzten Zeitpunkt vorhandenen Bakterien generiert wird und  $K_2$ , wieviel Produkt die inzwischen neu entstandenen Bakterien gebildet haben. Zusätzlich zerfällt ein Teil unseres Produktes. Dieser Zerfall hängt ab von der Konzentration des Produktes zum letzten Sampling-Schritt [ $\mathbf{P}$  in  $\frac{g}{l}$ ] und der produktspezifischen Zerfallskonstante  $K_5$  (in  $\frac{1}{h}$ ) ab.

Folgende Formel beschreibt somit die Änderung der Produktkonzentration:

$$\Delta P = [(K1 + K2 * \mu) * X - K5 * P] * \Delta t$$



# 5 Aufgaben (Vorschläge)

Sollten bei den Werten der Konstanten keine Einheiten angegeben sein, so stimmen diese mit den im Abschnitt 4 *Formeln* überein.

## Aufgabe 1:

a)

Simulieren Sie einen Bioreaktor anhand der gegebenen Formeln in Java. Der Input des Programms soll über die Kommandozeile eingelesen werden, wobei der Nutzer über die ersten beiden Kommandozeilenargument die Ausgabe des Programms folgendermaßen Wählen können soll:

Argument	Ausgabe
0	Biomasse, Produktkonzentration sowie die Zeit zu der die Substratkonzentration unter $\text{args}[1] \frac{g}{l}$ fällt
1	Zeitpunkt zu dem eine Produktkonzentration von $\text{args}[1]$ erreicht wird (sollte der Wert nie erreicht werden, soll eine entsprechende Fehlermeldung ausgegeben werden).

Darüber hinaus sollen folgende Parameter (in dieser Reihenfolge) übergeben werden:

$\Delta t$ , die Biomasse zum Zeitpunkt null, die Substratkonzentration zum Zeitpunkt null, die Produktkonzentration zum Zeitpunkt null,  $\mu_{\max}$ ,  $Y_{XS}$ ,  $f_M$ ,  $K_S$ ,  $K_1$ ,  $K_2$ ,  $K_3$ ,  $K_4$  sowie  $K_5$ .

Testen Sie Ihr Modell mit den folgenden Konstanten:

Konstante	Wert
$\Delta t$	0.01
init X	0.15
init S	20.00

init P	0.00
$\mu_{\max}$	0.3
$Y_{XS}$	0.5
$f_M$	0.1
$K_S$	0.1
K1	0.2
K2	0.45
K3	1.00
K4	1.00
K5	0.1

Und vergleichen Sie mit den Musterlösungen (hier wäre der Wert z.B. für die Aufrufe 0 0.01 und 1 0.5 und 1 2.0 hilfreich).

**b)**

Untersuchen Sie, welchen Einfluss die Verdopplung bzw. Halbierung von  $\Delta t$  auf die Genauigkeit der Ergebnisse aus a) hat.

## **Aufgabe 2:**

**a)**

Schreiben Sie eine Funktion, die die Biomasse, die Substratkonzentration und die Produktkonzentration gegen die Zeit graphisch darstellt. Zunächst soll für jeden Zeitpunkt die Werte für Biomasse, Substratkonzentration und Produktkonzentration als verschiedenfarbene Punkte dargestellt werden. Verwenden Sie die Funktion, um eine Graphik für Aufgabe 1 zu erstellen.

**b)**

Erweitern Sie die Funktion aus 2 a), sodass nun eine X- und eine Y-Achse hinzugefügt wird und die Einzelnen Messpunkte mit einer Linie verbunden werden.

**c)**

Erstellen Sie für alle weiteren Aufgaben eine graphische Darstellung. Erweitern Sie Ihre Funktion nach eigenem Ermessen, um möglichst alle relevanten Daten darzustellen.

## **Aufgabe 3:**

**a)**

Ihr Bioreaktor soll verwendet werden um Produkt 1337 zu produzieren. Sie können hierfür einen von drei Bakterienstämmen verwenden:

1) Stamm A aus Aufgabe 1.

2) Stamm B mit den Konstanten:

Konstante	Wert
$\mu_{\max}$	0.3
$Y_{XS}$	0.6
$f_M$	0.1
$K_S$	0.1
K1	0.3
K2	0.55
K3	1.00
K4	0.80
K5	0.1

3) Stamm C mit den Konstanten:

Konstante	Wert
$\mu_{\max}$	0.5
$Y_{XS}$	0.3
$f_M$	0.2
$K_S$	0.1
K1	0.2
K2	0.45
K3	1.00
K4	1.00
K5	0.1

Gehen Sie von denselben Startbedingungen wie in Aufgabe 1 a) aus und nehmen Sie an, dass es 2.000 \$ kostet, den Bioreaktor zu betreiben, dass Produkt 1337 für  $15.000 \frac{\$}{g}$  verkauft werden kann und dass der Bioreaktor ein Volumen von 20 l besitzt. Ermitteln Sie für die Bakterienstämme den durchschnittlichen Gewinn pro Stunde, bis die Substratkonzentration unter  $0.05 \frac{g}{l}$  fällt.

**b)**

Ein Unternehmen benötigt dringend innerhalb von 48 h 20, bzw. 50 Gramm Produkt 1337. Sie Zahlen den Listenpreis aus Aufgabe a) plus einen Bonus von 1.000 \$ für jede Stunde, die

Sie die geforderte Menge vor der Deadline liefern können, wird Sie allerdings auf horrenden Schadensersatz verklagen, wenn sollten Sie zusagen, aber die Frist nicht einhalten. Neben dem 20 l Reaktor steht ein 50 l Reaktor (Startkosten 5.000 \$, init S, P und X bleiben gleich) zur Verfügung.

Gibt es eine Kombination von Bakterien der Sie das Unternehmen rechtzeitig beliefern könnten? Wenn ja, mit welcher Kombination aus Stamm und Reaktortyp verdienen Sie das Meiste?

#### **Aufgabe 4:**

**a)**

Ein neuartiges Produkt soll in großen Mengen produziert werden. Hierfür soll Stamm A verwendet werden. Ihnen steht ein 100 l Reaktor zur Verfügung. Wie hoch muss die anfängliche Substratkonzentration sein, um 10.000 Gramm des Produktes im Reaktor zu haben, sobald die Substratkonzentration unter  $0.025 \frac{g}{l}$  fällt. Da dem Substrat zur Herstellung des Produktes teurer Zusatzstoffe beigegeben werden müssen, bittet Sie Ihr Arbeitgeber, so wenig Substrat wie möglich einzusetzen.

**b)**

Der Bioreaktor ist kontaminiert! Neben Stamm A [init X wie in Aufgabe 1)] ist Stamm B, bzw. C in den Reaktor gelangt (je init X = 0.1). Da Stamm B bzw. C nicht in der Lage sind das gewünschte Produkt zu erzeugen, setzen Sie  $K_1 = K_2 = 0$  für dieses Szenario. Erweitern Sie ihr Modell, so dass das gleichzeitige Wachstum zweier Stämme simuliert wird. Welche Menge Produkt erhalten Sie unter diesen Umständen für die von Ihnen in Aufgabe 4 a) gewählte initiale Substratkonzentration?

**c)**

Es stellt sich heraus, dass das Produkt hitzeinstabil ist und  $K_5$  bei normaler Fahrweise des Reaktors bei 0.25 liegt. Alternativ können Sie die Temperatur im Reaktor senken. Hierdurch fällt  $K_5$  auf 0.1 und  $\mu_{max}$  auf 0.25. Bei welcher dieser beiden Möglichkeiten können Sie die benötigte initiale Substratkonzentration niedriger ansetzen, um die in Aufgabe 4 a) angesetzte Produktkonzentration zu erreichen?