



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**PROGRAMA DE MAESTRIA Y DOCTORADO EN
INGENIERIA**

FACULTAD DE QUIMICA

DIFUSIÓN AMORTIGUADA DE BACTERIAS

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN INGENIERIA

INGENIERÍA QUÍMICA- INGENIERÍA DE PROCESOS

P R E S E N T A :

MOISÉS HERNÁNDEZ GONZÁLEZ

TUTOR:

DR. ÁNGEL ENRIQUE CHÁVEZ CASTELLANOS

2007





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Índice

Índice	I
Lista de figuras y tablas	II
CAPÍTULOS	
1. Antecedentes	
1.1 Justificación	1
1.2 Escherichia coli	2
1.3 Crecimiento de bacterias	3
1.4 Quimiotaxis y movilidad de bacterias	10
1.5 Modelo de quimiotaxis de Keller-Segel	11
1.6 Flux amortiguado, ecuación de Cattaneo	12
2. Descripción de los sistemas	
2.1 Introducción	19
2.2 Sistema de Reynolds et al.	19
2.3 Sistema de Sharma et al.	20
2.4 Planteamiento del problema	20
3. Sistema difusivo	
3.1 Introducción	25
3.2 Ecuación de difusión	25
3.3 Forma adimensional de la ecuación de difusión	27
3.4 Solución adimensional de la ecuación de difusión	28
3.5 Determinación de coeficientes efectivos de movilidad aleatoria	33
3.6 Ecuación de difusión amortiguada	35
3.7 Solución adimensional de la ecuación de difusión amortiguada	36
4. Sistema reactivo-difusivo	
4.1 Introducción	44
4.2 Resultados preliminares	44
4.3 Método de solución	46
4.4 Flux amortiguado de bacterias	58
4.5 Ambiente saturado de alimento	63
4.6 Muerte de bacterias	65
5. Análisis de resultados y conclusiones	
5.1 Sistema de Reynolds et al.	67
5.2 Sistema de Sharma et al.	68
5.3 Conclusiones	69
5.4 Trabajo prospectivo	69
Referencias	70

Lista de figuras y tablas

Figura	Título	
1.1	Micrografía de Escherichia Coli.	3
1.2	Curva de una función logística $(1-N/K)$ con $K=2$.	5
1.3	Curva de una función Monod $(s/(s+a))$ con $a=0.25$.	6
1.4	Solución típica del sistema bacteria-nutriente de Monod.	9
1.5	Solución típica del sistema bacteria-nutriente con muerte de bacterias.	10
1.6	Distribuciones de concentración con $D=1 \text{ cm}^2/\text{h}$.	17
2.1	Componentes de las columnas utilizadas en los experimentos de Reynolds et al.	19
3.1	Perfiles de concentración adimensional para tiempos adimensionales $\Gamma=0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06$ y 0.07 .	32
3.2	Perfiles de concentración adimensional con $\Lambda=0.11$ y $\Gamma=0.1, 0.2$ y 0.3 .	43
4.1	Curvas de crecimiento de E. Coli RW262 en cultivo líquido y medio poroso (Sharma et al.)	44
4.2	Inoculación del medio poroso con un volumen de 0.2mL de cultivo en fase exponencial.	46
4.3	Diagrama de flujo para el cálculo del coeficiente efectivo de movilidad aleatoria para un tiempo de 6 horas.	50
4.4	Gráfica de error en función del coeficiente efectivo de movilidad aleatoria para un tiempo de 6 horas.	51
4.5	Perfil promedio de bacterias con $\mu_{ef}= 1.11 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ a $t=6$ horas (tiempo de retraso de crecimiento) y perfil experimental.	52
4.6	Perfil promedio de concentración de bacterias con $\mu_{ef}= 1.11 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ y $\chi_{0,ef}= 8 \mu_{ef}$ a $t=15$ horas, y perfil promedio experimental.	56

4.7	Perfil promedio de concentración de quimioattractor (D-Galactosa) con $\mu_{ef} = 1.11 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ y $\chi_{0,ef} = 8 \mu_{ef}$ a $t = 15$ horas, y perfil promedio experimental.	57
4.8	Perfiles de concentración de bacterias con $\mu_{ef} = 1.11 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ a $t = 6$ horas para $\tau = 0$ s y 10^6 s.	60
4.9	Perfiles de concentración de bacterias y quimioattractor con $\mu_{ef} = 1.11 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ a $t = 10$ horas para $\tau = 0$ s y 10^7 s. Para $\tau = 10^6$ s la solución se hace inestable.	61
4.10	Perfiles de concentración de bacterias y quimioattractor con $\mu_{ef} = 1.11 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ a $t = 15$ horas para $\tau = 0$ s y 10^8 s. Para $\tau = 10^6$ s y 10^7 s la solución se hace inestable.	62
4.11	Perfiles de concentración de bacterias y quimioattractor con $\mu_{ef} = 1.11 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ a $t = 15$ horas para $K_s = K_d = 0.03 \text{ mM}$ y $K_s = K_d = 0 \text{ mM}$.	64
4.12	Perfil de concentración de bacterias con $\mu_{ef} = 1.11 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ a $t = 15$ horas para $m = 0, 0.036$ y 0.180 h^{-1} .	65
4.13	Perfil de concentración de quimioattractor con $\mu_{ef} = 1.11 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ a $t = 15$ horas para $m = 0, 0.036$ y 0.180 h^{-1} .	66
Tabla	Título	
1.1	Ejemplos de taxis	11
3.1	Rapidez de penetración de E. Coli RP487 en medio poroso con y sin gradiente de nutrientes, Reynolds et al.	25
3.2	Parámetros utilizados por Barton y Ford (15) en sus cálculos.	33
3.3	Comparación de coeficientes efectivos de movilidad aleatoria.	34
4.1	Parámetros utilizados por Barton y Ford (15) en sus cálculos.	45

Capítulo 1

Antecedentes

1.1.-Justificación (1-2).

En la industria del petróleo, la extracción, el transporte y procesamiento del crudo, se generan grandes volúmenes de desechos como lodos petrolizados constituidos básicamente por compuestos orgánicos aromáticos, poliaromáticos, derivados de hidrocarburos, compuestos inorgánicos y metales, los cuales son difíciles de degradar de manera natural por la complejidad de su estructura y pueden actuar como contaminantes si no se manejan de manera adecuada. La contaminación se produce como consecuencia de accidentes durante la producción y transporte del petróleo; esta situación ha causado daños ecológicos de gran importancia por lo que la recuperación de terrenos y aguas contaminadas se ha convertido en una importante industria en todo el mundo.

Durante la primera mitad del siglo XX se desarrollaron métodos sofisticados para el tratamiento de contaminantes en fase acuosa, tales como los lechos bacterianos, lodos activados o la degradación anaerobia, y desde 1960, se han seguido incluyendo nuevos métodos de aplicación a los terrenos y procesos para la degradación de determinados tipos de compuestos bajo la categoría de procesos de tratamiento biológico. En los últimos años, se han publicado muchos estudios referidos al tratamiento de terrenos contaminados por compuestos derivados del petróleo, utilizando con éxito la biorremediación. Esta técnica utiliza la capacidad de los microorganismos para transformar compuestos químicos con la finalidad de disminuir o eliminar su toxicidad, y se ha convertido en una alternativa prometedora para la recuperación de suelos contaminados con hidrocarburos.

Bacterias móviles como la *Escherichia coli* sensibles a los gradientes químicos en su medio ambiente son atraídas hacia aminoácidos, azúcares y otros nutrientes benéficos; por otra parte, evitan los extremos de pH e intermediarios metabólicos que podrían indicar la presencia de sobrepoblación de microorganismos. También se ha observado que la *Pseudomonas putida* y otras especies que se encuentran en la tierra dirigen su movimiento hacia sustancias químicas contaminantes incluyendo hidrocarburos clorados que se consideran como nutrientes potenciales. Se piensa que este fenómeno, conocido como quimiotaxis, es uno de los principales mecanismos mediante los cuales las poblaciones superficiales de bacterias se mueven hacia contaminantes químicos. El modelo y análisis cuantitativo de este tipo de sistemas son necesarios para predecir las distribuciones de poblaciones de bacterias en los distintos medios en que se pueden presentar para aplicaciones tales como el biotratamiento *in situ* de suelos en el cual las bacterias responden quimiotácticamente a los contaminantes que degradan.

Objetivo general

El objetivo de este trabajo consiste en estudiar el efecto de la difusión amortiguada de una especie viva en un medio poroso.

Para lograr lo anterior se utiliza el modelo de difusión amortiguada de Cattaneo y se compara con el modelo de Fick. Se evalúa también el efecto del tiempo de relajamiento del flux sobre los perfiles de concentración de la especie viva que migra en un medio poroso.

Objetivos particulares

Reproducir el trabajo reportado por Barton y Ford (1997) sobre la aplicación de un modelo de quimiotaxis a la difusión de bacterias en un medio poroso.

Aplicar la ecuación de Cattaneo a la difusión de bacterias en un medio poroso.

Evaluar el efecto del tiempo de relajamiento (τ) del flux de masa en los perfiles de concentración de bacterias.

Introducir el efecto de la muerte de bacterias en el modelo de Barton y Ford (1997) para la difusión de bacterias.

1.2.-Escherichia Coli (3).

La Escherichia Coli es una de las principales especies de bacterias que habitan en los intestinos de los mamíferos. Cuando se localizan en el intestino grueso contribuyen a la digestión y la producción de vitamina K. La E. Coli fue descubierta por *Theodor Escherich*, pediatra y bacteriólogo alemán, en 1885. Es un bacilo que reacciona negativamente a la tinción de Gram (tipo de tinción diferencial utilizado en microbiología para la visualización de bacterias), es anaerobio facultativo (crece tanto en presencia como en ausencia de oxígeno), móvil por flagelos peritricos (que rodean su cuerpo), no forma esporas y es capaz de fermentar la glucosa y la lactosa.

Una cepa de E. Coli es un grupo con características particulares que la hacen distinguirse de otras cepas. Estas diferencias son detectables generalmente a nivel molecular; sin embargo, son las responsables de cambios en la fisiología y ciclo de vida de las bacterias, por ejemplo pueden determinar la capacidad de producir enfermedades en otros organismos. La E. Coli es una de las especies bacterianas más minuciosamente estudiadas, y no solamente por sus capacidades patogénicas, sino también como sustrato y modelo de investigaciones metabólicas, genéticas, poblacionales y de diversa índole (3).

E. coli puede ser causa de enfermedad en pacientes debilitados o en situación de alteración de la pared intestinal (peritonitis, sepsis, etc.), pero las infecciones provocadas por este microorganismo no son causadas por las cepas que habitan normalmente el intestino, sino por líneas especialmente patógenas en esta localización que se transmiten por vía fecal-oral de persona a persona o a través del agua y alimentos.

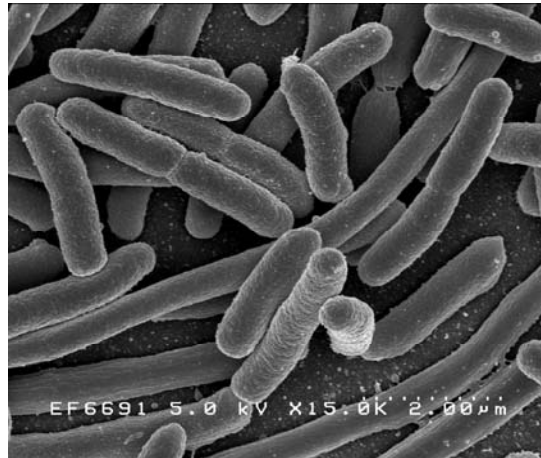


Figura 1.1. Micrografía de Escherichia Coli.

(Imagen de dominio público del *United States Department of Health and Human Services*).

1.3.-Crecimiento de bacterias (4-9).

Las bacterias son la forma de vida dominante en el planeta. Hay 10^5 bacterias en 1 mililitro de agua de mar o en un centímetro cuadrado de piel humana. Actualmente es posible introducir el gen humano de la insulina en bacterias y hacerlas producirla en grandes fermentadores industriales. Por lo anterior es importante comprender el crecimiento de las bacterias.

Una bacteria “madre” completamente desarrollada se divide en dos células “hijas” del mismo tamaño por lo que deberán duplicar su tamaño antes de que puedan dividirse. El crecimiento de bacterias ha sido estudiado durante siglos estimulado inicialmente por la fabricación de pan, cerveza y vinos. El modelo más simple de crecimiento es el exponencial. Si $N(t)$ es la masa de la población bacteriana al tiempo t , entonces el modelo malthusiano de crecimiento exponencial está dado por:

$$\frac{dN}{dt} = rN \tag{1.1}$$

Con la condición inicial $N(0) = N_0$ la solución es:

$$N(t) = N_0 e^{rt} \quad (1.2)$$

El parámetro r es el coeficiente de rapidez de crecimiento, equivalente a la constante de reacción o constante cinética de una reacción química, y se debe medir experimentalmente. Este modelo tiene la desventaja de que predice un crecimiento sin límite al incrementarse el tiempo; básicamente ignora el hecho de que las bacterias necesitan fuentes de alimento para crecer y que estas fuentes son finitas. El tiempo T en el que la población duplica su tamaño se obtiene de (1.2):

$$2N_0 = N_0 e^{rT} \quad (1.3)$$

$$T = \ln(2) / r \quad (1.4)$$

El tiempo T se puede medir en el laboratorio y utilizando la expresión (1.4) se puede calcular la rapidez de crecimiento. El crecimiento exponencial puede ser una buena aproximación para tiempos cortos pero no se puede mantener indefinidamente.

Otro modelo simple de crecimiento bacteriano está representado por la siguiente ecuación conocida como ecuación logística:

$$\frac{dN}{dt} = rN \left[1 - \frac{N}{K} \right] \quad (1.5)$$

En la ecuación anterior aparece un segundo parámetro K llamado frecuentemente “la capacidad de acarreo”. La expresión (1.5) se puede resolver por separación de variables pero no es necesario para evaluar el comportamiento de sus soluciones. En el equilibrio la solución se obtiene fijando $dN/dt = 0$ y resolviendo para N :

$$0 = rN \left[1 - \frac{N}{K} \right] \quad (1.6)$$

Con las raíces $N=0$ y $N=K$. Puesto que $dN/dt > 0$ para $0 < N < K$ las soluciones que empiezan con $N(0)$ en este intervalo se incrementan con t y convergen a K conforme t tiende a crecer. Por otra parte $dN/dt < 0$ para $N > K$ así que $N(t)$ decrece hacia K conforme se incrementa t cuando $N(0) > K$.

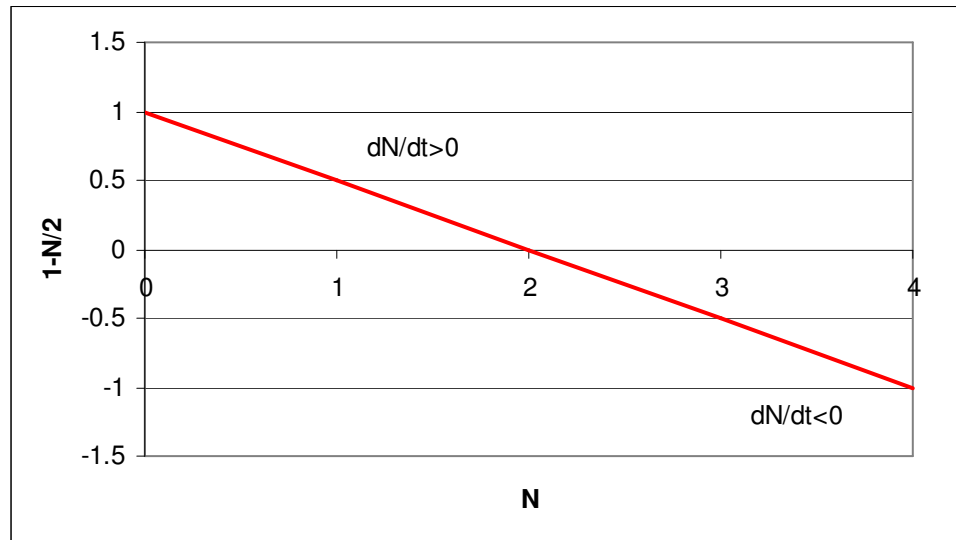


Figura 1.2. Curva de una función logística $(1-N/K)$ con $K=2$.

La ecuación logística tiene la desventaja de que el parámetro K no se puede medir sino hasta que el crecimiento se detenga y no tiene una base teórica.

Contribuciones de Jacques Monod.

En las décadas de 1930 y 1940 Jacques Monod realizó experimentos de crecimiento de bacterias utilizando un solo nutriente limitante (por ejemplo glucosa) con el objetivo de verificar si el modelo logístico describía adecuadamente sus observaciones. Encontró que la ecuación logística no funcionaba porque no incluía la concentración del nutriente. Si $S(t)$ representa la concentración de nutriente en el medio (gramos/litro) al tiempo t , sus resultados indicaron que la rapidez de crecimiento específica dada por la ecuación (1.7) representaba el mejor ajuste de sus datos.

$$\frac{dN}{Ndt} = \frac{rS}{a + S} \quad (1.7)$$

El término del lado izquierdo en la expresión anterior representa la rapidez de crecimiento específica.

La expresión del lado derecho se llama frecuentemente “la función de Monod”. Como función de S se incrementa en forma monótona con límite r cuando S tiende a crecer. En consecuencia el parámetro r es llamado la rapidez de crecimiento máxima, aunque nunca puede ser alcanzada. El parámetro a se denomina constante de saturación media ya que cuando $S=a$, el lado derecho de (1.7) es $r/2$, la mitad de la rapidez de crecimiento máxima. La figura 1.3 representa una función de Monod.

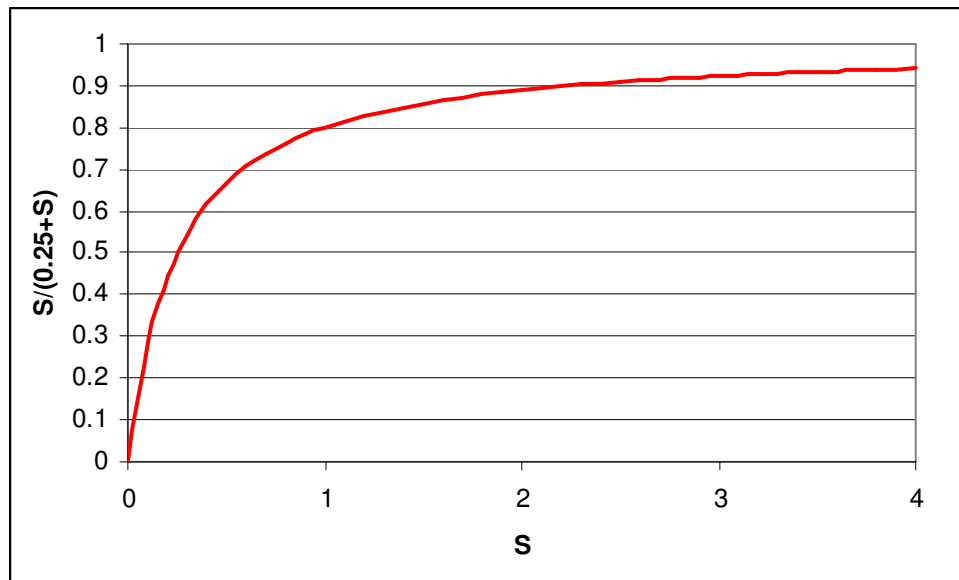


Figura 1.3 Curva de una función de Monod ($s/(a+s)$) con $a = 0.25$.

La característica principal de la función de Monod es que la rapidez de crecimiento específica se incrementa con la concentración de nutriente S como se esperaría, pero tiende hacia un límite finito a concentraciones altas de nutriente (ver figura 1.3). Monod no verificó inmediatamente la similitud de su función con la ecuación de Michaelis-Menten (8) derivada de la cinética enzimática pero lo notó posteriormente. Más aún, encontró que la rapidez de consumo de nutriente por las bacterias era proporcional y de signo contrario a la rapidez de crecimiento de bacterias:

$$Y \frac{dS}{dt} = - \frac{dN}{dt} \tag{1.8}$$

lo que implica que :

$$\frac{dN}{-dS} = Y \tag{1.9}$$

La constante Y se llama la eficiencia de crecimiento.

Un incremento de dN unidades de bacterias requiere YdS unidades de nutriente. Para la E. Coli creciendo en glucosa a 30 grados Celsius se tienen los siguientes datos típicos (8):

$$\begin{aligned} r &= 1.35 \text{ h}^{-1} \\ a &= 0.004 \text{ g/L} \\ Y &= 0.23 \text{ g bacteria/ g nutriente} \end{aligned} \tag{1.10}$$

Si el nutriente es abundante de tal forma que la rapidez de crecimiento específica se mantiene en $r=1.35 \text{ h}^{-1}$, la ecuación (1.4) predice un tiempo de media hora para que la población duplique su tamaño inicial. De las observaciones anteriores de Monod se deriva el siguiente sistema de ecuaciones para la concentración de nutriente S y la concentración de bacterias N :

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{1}{Y} N \frac{rS}{a+S} \tag{1.11}$$

$$\frac{dN}{dt} = N \frac{rS}{a+S} \tag{1.12}$$

Con las condiciones iniciales:

$$N(0) = N_0 \tag{1.13}$$

$$S(0) = S_0 \tag{1.14}$$

Multiplicando (1.11) por Y y sumando a (1.12) se tiene:

$$Y \frac{dS}{dt} + \frac{dN}{dt} = 0 \tag{1.15}$$

Integrando:

$$Y S(t) + N(t) = Y S_0 + N_0 \quad (1.16)$$

Resolviendo para S(t):

$$S(t) = S_0 + \frac{N_0 - N(t)}{Y} \quad (1.17)$$

Sustituyendo (1.17) en (1.12):

$$\frac{dN}{dt} = rN \left[\frac{Y S_0 + N_0 - N}{Y a + Y S_0 + N_0 - N} \right] \quad (1.18)$$

Haciendo $dN/dt = 0$ en (1.18) se obtiene la solución en estado estacionario:

$$N = Y S_0 + N_0 \quad (1.19)$$

Si $N_0 > 0$, entonces $dN/dt > 0$ y :

$$N(t) \rightarrow Y S_0 + N_0, \quad t \rightarrow \infty \quad (1.20)$$

La figura 1.4 muestra una solución típica utilizando los datos de (1.10) con las condiciones iniciales $S(0)= 2a$ g/L y $N(0)= 0.25aY$ g/L. La escala de tiempo está en horas en el eje horizontal; en el eje vertical se trazan las concentraciones adimensionales S/a y N/aY .

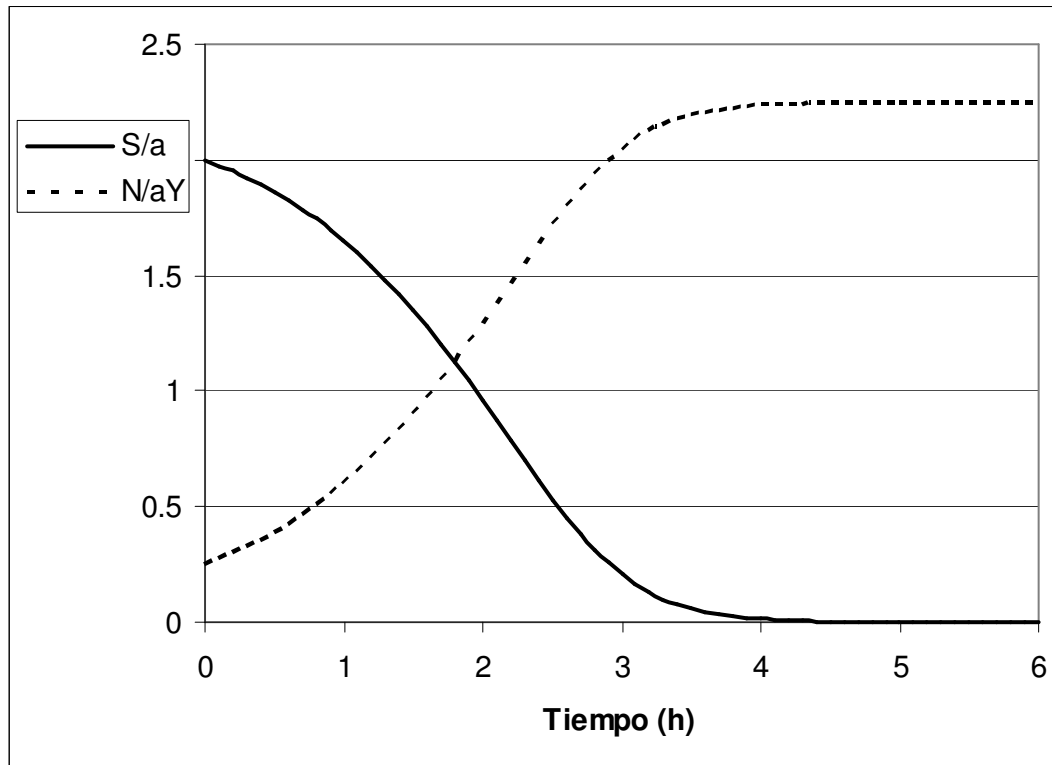


Figura 1.4. Solución típica del sistema (1.11) y (1.12)

La ecuación (1.12) no considera la muerte de bacterias, para incluir esta situación en el modelo se supone que las bacterias mueren con una rapidez proporcional a su concentración, como resultado el término $-mN$ se suma a la ecuación (1.12) donde m es la constante de proporcionalidad con unidades de tiempo⁻¹. El sistema resultante es:

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{1}{Y}N \frac{rS}{a+S}$$

$$\frac{dN}{dt} = N \frac{rS}{a+S} - mN \tag{1.21}$$

La figura 1.5 muestra una solución típica utilizando los datos de (1.10) con las condiciones iniciales $S(0)= 2a$ g/L , $N(0)= 0.25aY$ g/L y $m=0.25$ h⁻¹. La escala de tiempo está en horas en el eje horizontal; en el eje vertical se trazan las concentraciones adimensionales S/a y N/aY .

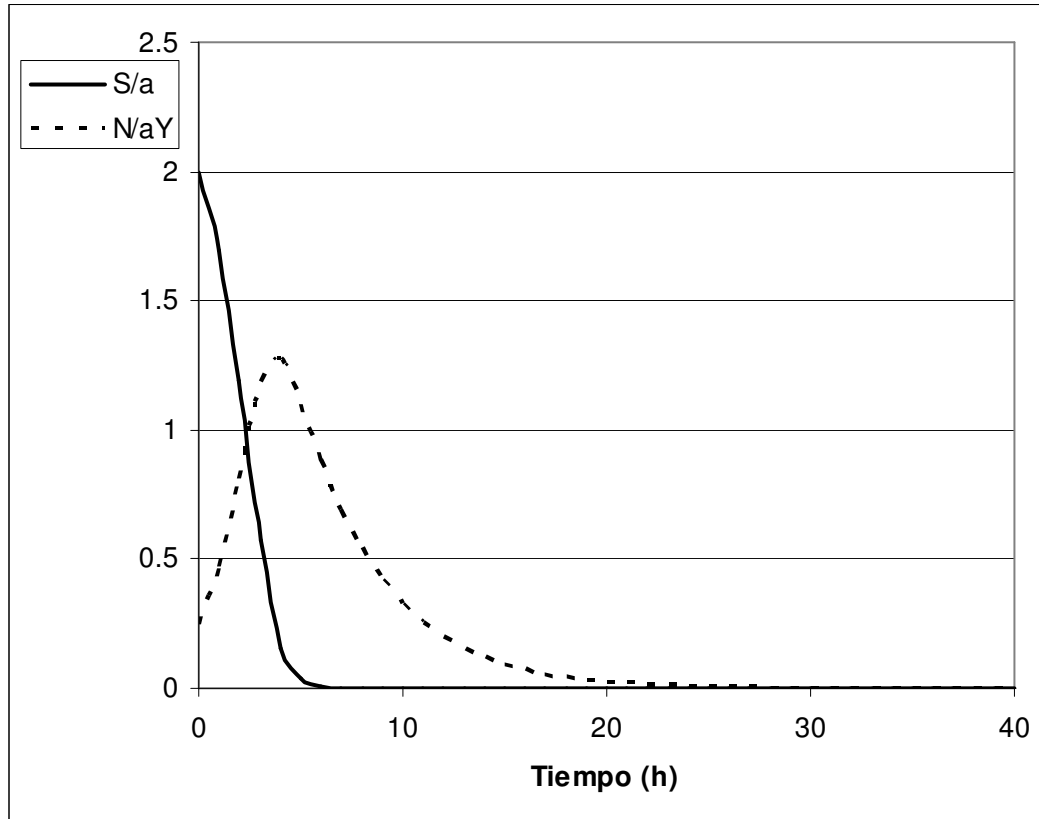


Figura 1.5. Solución típica del sistema (1.11) y (1.21)

1.4.-Quimiotaxis y movilidad de bacterias (10).

En los sistemas biológicos, las especies vivas son sensibles a su medio ambiente y responden ante él. Su respuesta a los estímulos hacen que se muevan hacia el estímulo o bien que traten de evitarlo; esta respuesta se llama *taxis* (del griego *taxis* “ordenar”). Generalmente la palabra *taxis* es precedida por un prefijo que está determinado por el tipo de estímulo al cual responde el organismo en su medio ambiente. Existen varios tipos de *taxis* algunos de los cuales se listan en la tabla 1.1. En particular la *taxis* que responde a estímulos químicos se denomina *quimiotaxis* que de acuerdo con Horstmann (Referencias contenidas en 10) es “... la influencia de las sustancias químicas en el ambiente sobre el movimiento de las especies móviles”. Cuando la señal química induce que la especie se mueva hacia el estímulo se llama *quimiotaxis positiva* y la sustancia química se denomina *quimioattractor*; cuando la sustancia química hace que la especie la evite, se llama *quimiotaxis negativa* y a la sustancia *quimioinhibidor*.

Se ha observado que el movimiento de las bacterias flageladas consiste de una serie de desplazamientos en línea recta interrumpidos por lapsos del orden de 0.1 segundos durante los cuales suspenden el movimiento y cambian de dirección. Las velocidades típicas observadas son del orden de 20 a 40 $\mu\text{m/s}$. En ausencia de gradientes químicos, este tipo de comportamiento se conoce como “*movilidad aleatoria*”. Cuando se incluye un gradiente químico en el ambiente de las bacterias quimiosensibles, éstas pueden dirigirse hacia alguna región incrementando sus movimientos en línea recta o disminuyendo la frecuencia de sus cambios de dirección. La migración de poblaciones de bacterias en la escala macroscópica es el resultado del comportamiento individual a nivel microscópico de cada célula (las bacterias son organismos unicelulares).

Tabla 1.1. Ejemplos de taxis (10)

Tipo de taxis	Estímulo	Ejemplos de especies
Geotaxis	Fuerza gravitacional	Aves , moscas
Fototaxis	Luz	Moluscos
Haptotaxis	Adhesivo	Glóbulos rojos en mamíferos
Quimiotaxis	Señal química	Bacterias, amibas y glóbulos rojos

1.5.-Modelo de quimiotaxis de Keller-Segel (10).

Este modelo toma su nombre de Evelyn F. Keller y Lee A. Segel, matemáticos que introdujeron sus ecuaciones en 1970 (10). Keller y Segel trabajaron sobre el comportamiento de un microorganismo conocido como “*dictyostelium discoideum*” y se interesaron en describir el comportamiento de la agregación celular. Al desarrollar su modelo Keller y Segel suponen que la especie viva se mueve en la dirección contraria al gradiente de su concentración (difusión) y en dirección del gradiente de la concentración de nutriente (quimiotaxis positiva). Se denomina a cualquier sistema representado por las siguientes ecuaciones como modelo Keller-Segel de quimiotaxis:

$$\frac{\partial u}{\partial t} = \nabla \cdot (\mu \nabla u) - \nabla \cdot (\chi(u, v) \nabla v) + G(u, v) \quad (1.22)$$

$$\frac{\partial v}{\partial t} = F(u, v) \quad (1.23)$$

La variable u representa la densidad de una especie viva (microorganismo) y v la concentración de una especie química. El parámetro μ se denomina coeficiente de movilidad y es análogo al coeficiente de difusión para una especie no viva. En general μ puede depender del espacio, u , v o alguna combinación de estas variables.

La función χ se denomina función de sensibilidad quimiotáctica y en la mayoría de los casos se supone que es lineal con u , por lo que se puede escribir:

$$\chi(u, v) = u \chi_0(v) \quad (1.24)$$

Keller y Segel llamaron a χ_0 el coeficiente quimiotáctico. Si $\chi_0 > 0$ la quimiotaxis es positiva y v es un quimioattractor, si $\chi_0 < 0$ la quimiotaxis es negativa y v es un quimioinhibidor. La función G representa un término de generación y/o consumo de la especie viva mientras que F puede incluir la difusión y/o el consumo de la especie química. Si $\chi_0 = 0$ y $G=0$, la ecuación (1.22) es puramente difusiva.

1.6.-Flux amortiguado, ecuación de Cattaneo (11-13).

La segunda ley de Fick se utiliza generalmente para describir procesos difusivos “comunes”(11). Esta ley se puede derivar combinando la ecuación de continuidad:

$$\frac{\partial \rho(x, t)}{\partial t} = - \frac{\partial J(x, t)}{\partial x} \quad (1.25)$$

y una ecuación constitutiva (la primera ley de Fick en una dirección):

$$J(x, t) = - D \frac{\partial \rho(x, t)}{\partial x} \quad (1.26)$$

En las ecuaciones anteriores $J(x,t)$ representa el flux de masa, $\rho(x,t)$ la función de distribución de la propiedad que se difunde, en este caso la concentración de la sustancia, y D el coeficiente de difusión. Derivando (1.26) con respecto a x y sustituyendo el resultado en (1.25) se obtiene la ecuación de difusión fenomenológica o segunda ley de Fick:

$$\frac{\partial \rho(x, t)}{\partial t} = D \frac{\partial^2 \rho(x, t)}{\partial x^2} \quad (1.27)$$

suponiendo que D es constante.

Para ilustrar la naturaleza de las soluciones de la ecuación (1.27) se revisará el caso de la difusión transitoria puntual (aproximada como una función delta de Dirac) en un medio semiinfinito con la siguiente condición inicial:

$$\text{Condición inicial:} \quad \rho(x,0) = \rho_0 \delta(x) \quad (1.28)$$

$$\delta(x) = \begin{cases} 1 & x = 0 \\ 0 & x \neq 0 \end{cases} \quad (1.29)$$

Se puede encontrar una solución fundamental para la ecuación (1.27) definiendo la transformación de Fourier para la función $\rho(x,t)$:

$$\mathfrak{F}\{\rho(x,t)\} = \hat{\rho}(k,t) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} e^{ikx} \rho(x,t) dx \quad (1.30)$$

La transformación inversa:

$$\mathfrak{F}^{-1}\{\hat{\rho}(k,t)\} = \rho(x,t) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} e^{-ikx} \hat{\rho}(k,t) dk \quad (1.31)$$

La transformación aplicada a la n -ésima derivada de una función $F(x)$:

$$\mathfrak{F}\{F^n(x)\} = (ik)^n \hat{F}(k) \quad (1.32)$$

Aplicando la transformación de Fourier a la ecuación (1.27) se tiene:

$$\mathfrak{F}\left\{\frac{\partial \rho(x,t)}{\partial t}\right\} = \mathfrak{F}\left\{D \frac{\partial^2 \rho(x,t)}{\partial x^2}\right\} \quad (1.33)$$

$$\frac{d\hat{\rho}(k,t)}{dt} = D(ik)^2 \hat{\rho}(k,t) = -Dk^2 \hat{\rho}(k,t) \quad (1.34)$$

Integrando la ecuación (1.34):

$$\ln \rho(k,t) = -Dk^2 t + \ln A \quad (1.35)$$

El término $\ln A$ es la constante de integración y para determinarla se utiliza la condición inicial:

$$\ln \rho(k,0) = -Dk^2(0) + \ln A \quad (1.36)$$

El término $\rho(k,0)$ está dado por:

$$\rho(k,0) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} e^{ikx} \rho(x,0) dx \quad (1.37)$$

$$\rho(k,0) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} e^{ikx} \rho_0 \delta(x) dx \quad (1.38)$$

$$\rho(k,0) = \frac{\rho_0}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} e^{ikx} \delta(x) dx \quad (1.39)$$

Para integrar la ecuación (1.39) se utiliza la siguiente propiedad para una función $F(t)$:

$$\int_{-\infty}^{\infty} F(t) \delta(t) dt = F(0) \quad (1.40)$$

Aplicando (1.40) en (1.39):

$$\rho(k,0) = \frac{\rho_0}{\sqrt{2\pi}} e^{(0)} = \frac{\rho_0}{\sqrt{2\pi}} \quad (1.41)$$

Sustituyendo (1.41) en (1.36):

$$\ln \frac{\rho_0}{\sqrt{2\pi}} = -Dk^2(0) + \ln A \quad (1.42)$$

$$A = \frac{\rho_0}{\sqrt{2\pi}} \quad (1.43)$$

Sustituyendo (1.43) en (1.35)

$$\ln \frac{\rho(k,t)\sqrt{2\pi}}{\rho_0} = -Dk^2t \quad (1.44)$$

$$\rho(k,t) = \frac{\rho_0}{\sqrt{2\pi}} \exp(-Dk^2t) \quad (1.45)$$

Para obtener $\rho(x,t)$ se invierte la ecuación (1.45):

$$\rho(x,t) = \mathfrak{S}^{-1}\{\rho(k,t)\} = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} e^{-ikx} \rho(k,t) dk \quad (1.46)$$

$$\rho(x,t) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} e^{-ikx} \frac{\rho_0}{\sqrt{2\pi}} \exp(-Dk^2t) dk \quad (1.47)$$

$$\rho(x,t) = \frac{\rho_0}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} e^{-ikx} \exp(-Dk^2t) dk \quad (1.48)$$

El término exponencial negativo en la ecuación anterior se puede escribir como:

$$e^{-ikx} = \cos(kx) - i\operatorname{sen}(kx) \quad (1.49)$$

Sustituyendo (1.49) en (1.48):

$$\rho(x,t) = \frac{\rho_0}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} (\cos(kx) - i \operatorname{sen}(kx)) \exp(-Dk^2t) dk \quad (1.50)$$

$$\rho(x,t) = \frac{\rho_0}{2\pi} \left\{ \int_{-\infty}^{\infty} \cos(kx) \exp(-Dk^2t) dk - i \int_{-\infty}^{\infty} \operatorname{sen}(kx) \exp(-Dk^2t) dk \right\} \quad (1.51)$$

La segunda integral de la ecuación anterior es igual a cero porque la función $\operatorname{sen}(kx) \exp(-Dk^2t)$ es impar y el intervalo de integración es simétrico con respecto al origen de la coordenada k .

$$\rho(x,t) = \frac{\rho_0}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} \cos(kx) \exp(-Dk^2t) dk \quad (1.52)$$

La expresión (1.52) se puede escribir como:

$$\rho(x,t) = \frac{\rho_0}{2\pi} 2 \int_0^{\infty} \cos(kx) \exp(-Dk^2t) dk \quad (1.53)$$

debido a que la función $\cos(kx) \exp(-Dk^2t)$ es par y el intervalo de integración es simétrico.

A la ecuación (1.53) se aplica la siguiente relación obtenida de tablas (22):

$$\int_0^{\infty} \exp(-ak^2) \cos(bk) dk = \frac{1}{2} \sqrt{\frac{\pi}{a}} \exp\left(\frac{-b^2}{4a}\right) \quad (1.54)$$

Con $a = Dt$ y $b = x$ se obtiene:

$$\rho(x,t) = \frac{\rho_0}{\pi} \frac{1}{2} \sqrt{\frac{\pi}{Dt}} \exp\left(\frac{-x^2}{4Dt}\right) \quad (1.55)$$

$$\rho(x,t) = \frac{\rho_0}{2\sqrt{\pi Dt}} \exp\left(\frac{-x^2}{4Dt}\right) \quad (1.56)$$

La ecuación (1.56) predice que aun a tiempos muy cortos existe una cantidad de la propiedad masa difundida a grandes distancias desde el origen. Esta es una propiedad intrínseca de la ecuación (1.27) que establece una velocidad de propagación infinita de la masa. En términos matemáticos esto se debe a que la expresión (1.27) es una ecuación diferencial parcial parabólica. Desde un punto de vista físico la velocidad de propagación infinita de una propiedad que se difunde no es correcta.

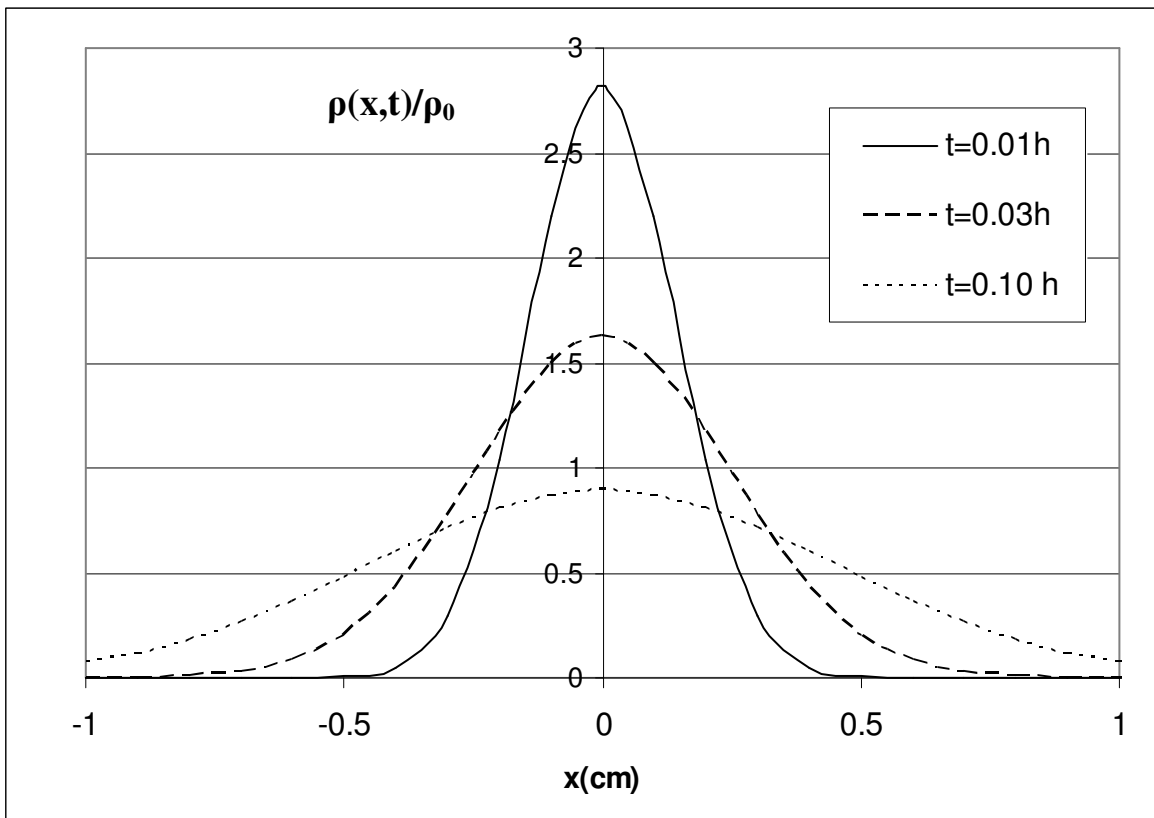


Figura 1.6. Distribuciones de concentración con $D=1\text{cm}^2/\text{h}$, ecuación (1.56).

En 1948 Cattaneo propone la siguiente ecuación constitutiva para corregir la deficiencia de la ecuación (1.27):

$$J(x,t) + \tau \frac{\partial J(x,t)}{\partial t} = -D \frac{\partial \rho(x,t)}{\partial x} \quad (1.57)$$

donde ahora el flux se relaja con un tiempo característico τ .

La ecuación (1.57) presenta una forma matemática equivalente a la ecuación de Maxwell en la teoría de la viscoelasticidad donde el flux de cantidad de movimiento es el que se relaja con un tiempo característico y el término del lado derecho corresponde a la rapidez de deformación (20,21).

Combinando la ecuación (1.57) con la ecuación de continuidad (1.25) se obtiene la ecuación de Cattaneo o ecuación de difusión modificada:

$$\frac{\partial \rho(x,t)}{\partial t} + \tau \frac{\partial^2 \rho(x,t)}{\partial t^2} = D \frac{\partial^2 \rho(x,t)}{\partial x^2} \quad (1.58)$$

suponiendo constantes a D y τ . Esta extensión de la ecuación de difusión (1.27) transforma la ecuación de parabólica a hiperbólica y en consecuencia la velocidad de propagación es finita y dada por $v = (D/\tau)^{1/2}$. En el límite cuando $\tau \rightarrow 0$ se recupera la segunda ley de Fick con v infinito. La ecuación (1.58) es de una onda amortiguada o del “telegrafista”.

Las aplicaciones de la ecuación de Cattaneo son variadas debido a su carácter hiperbólico. Entre ellas se encuentran procesos de transporte de energía y masa ya que se puede generalizar para ecuaciones de difusión. La ecuación de Cattaneo encuentra aplicación en la termodinámica irreversible, transferencia de energía en la convección de Bénard, modelos cosmológicos, ondas de choque en conductores de energía rígidos o en la teoría de la difusión en sólidos cristalinos, etc.

Capítulo 2

Descripción de los sistemas

2.1.-Introducción.

Este trabajo se basa en un artículo de Barton y Ford (15) en donde hacen referencia a dos trabajos experimentales que utilizan para evaluar su modelo difusivo- quimiotáctico. En este capítulo se describen los sistemas experimentales estudiados. Se trata de columnas llenas de arena como medio poroso donde se lleva acabo la difusión de bacterias. Se utilizan los trabajos reportados por Reynolds y Sharma (16,17).

2.2.-Sistema de Reynolds et al (16).

En estos experimentos se utilizaron columnas de vidrio con una longitud de 8 cm y un diámetro interno de 2.01 cm que se llenaron con una solución de crecimiento, consistente de nutrientes y sales que incluyen galactosa y peptona. Posteriormente se adicionó una arena disponible comercialmente de tamaño de partícula conocido hasta saturar la columna y formar el medio poroso. Finalmente las columnas fueron sometidas a un proceso de ultrasonido para retirar cualquier posible burbuja y se taparon herméticamente para su esterilización en autoclave a 121°C por 20 minutos. Todas las operaciones, desde la preparación de la solución de crecimiento, se realizaron en condiciones anaerobias.

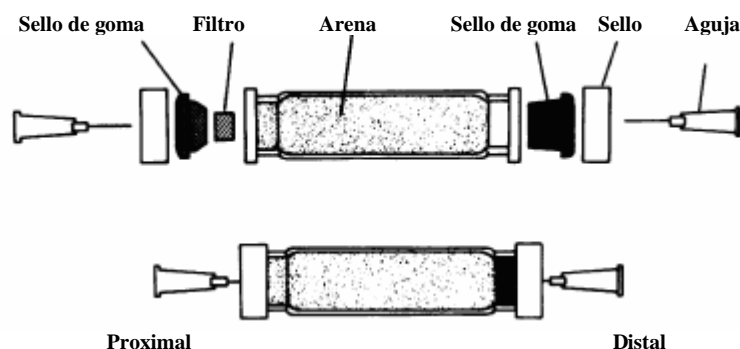


Fig.2.1 Componentes de las columnas utilizadas en los experimentos de Reynolds et al. (16)

Para la inoculación de las columnas se prepararon suspensiones anaerobias de células de Escherichia Coli de la cepa RP487 (aproximadamente 10^7 células en 250 μ L) y se insertaron con una jeringa con aguja calibre 22 en el extremo proximal a través del sello de goma sin alterar el contenido de la columna. De la misma forma se insertó otra aguja en el extremo distal conteniendo la solución de crecimiento con que se llenaron las columnas.

Las columnas inoculadas se incubaron a temperatura ambiente dentro de una cámara anaerobia y durante intervalos de horas se verificó la presencia de células viables en el extremo distal retirando la jeringa e inoculando en condiciones asépticas 0.1ml de su contenido en un tubo estéril con 3 ml de solución de crecimiento. Posteriormente la jeringa se reinsertó evitando la introducción de burbujas o el mezclado del contenido de la columna. Los tubos inoculados con las muestras de la jeringa distal se incubaron a 35° C en condiciones anaerobias y se examinaron para verificar la presencia o ausencia de crecimiento después de 48 horas. En este experimento se utilizaron nueve cepas distintas de Escherichia Coli.

El tiempo de penetración (t_p) se define como el intervalo en horas desde la inoculación en el extremo proximal de la columna hasta la aparición de células viables en una muestra de la jeringa distal. La rapidez de penetración es la razón de la longitud de la columna al tiempo de penetración. Debido a las condiciones experimentales, estos sistemas se pueden considerar como puramente difusivos.

2.3.-Sistema de Sharma et al (17)

En este trabajo se utilizaron columnas preparadas en forma similar al sistema de Reynolds et al pero se dividen en cinco secciones iguales para evaluar la concentración de bacterias y quimioattractor en función del tiempo y la distancia de la columna. En particular se utilizan los resultados de la cepa RW262 de Escherichia Coli. En este sistema se presenta la quimiotaxis después de un periodo inicial donde no hay crecimiento bacteriano ni consumo de quimioattractor (D-Galactosa). La inoculación en este sistema se realiza adicionando una suspensión de células de concentración conocida (2×10^7 células /mL) en un extremo de la columna.

2.4.-Planteamiento del problema

El objetivo del presente trabajo consiste en representar el movimiento de bacterias a través de columnas de arena en el contexto de un modelo matemático relativamente simple que requiere como entradas los valores efectivos de dos coeficientes de transporte fundamentales: la movilidad aleatoria y la sensibilidad quimiotáctica. El coeficiente de movilidad aleatoria para una especie viva es análogo al coeficiente de difusión molecular y describe la dispersión de la población de bacterias en ausencia de cualquier otro tipo de flujo. La velocidad quimiotáctica se modela como un término en el que la fuerza impulsora de movimiento es un gradiente químico.

Ecuaciones de conservación:

Se considera al sistema como unidimensional con $b(z,t)$ como la densidad de bacterias por unidad de volumen, $a(z,t)$ como la concentración de la especie quimioatrayente, z es la coordenada a lo largo de la columna y t es el tiempo :

Balance de materia para la especie $b(z,t)$:

$$\frac{\partial}{\partial t} \int_V b(z,t) dV = - \int_S \underline{J}_b \cdot \underline{n} dS + \int_V R_b dV \quad (2.1)$$

Variación de $b(z,t)$
en el volumen V

Flujo total de $b(z,t)$ a
través de las fronteras de V

Cantidad total de $b(z,t)$
generado en el volumen V

donde \underline{J}_b es el flux total de la especie $b(z,t)$ y R_b es el término de generación de bacterias por unidad de volumen y unidad de tiempo.

Utilizando el teorema de la divergencia se puede expresar la integral de superficie en términos de una integral de volumen:

$$\int_S \underline{J}_b \cdot \underline{n} dS = \int_V \nabla \cdot \underline{J}_b dV \quad (2.2)$$

Sustituyendo en la ecuación de balance (2.1) :

$$\int_V \left(\frac{\partial}{\partial t} b(z,t) + \nabla \cdot \underline{J}_b - R_b \right) dV = 0 \quad (2.3)$$

Como el balance se realiza para un volumen (V) arbitrario del medio poroso (columna de arena), entonces se debe cumplir que el integrando sea cero:

$$\frac{\partial}{\partial t} b(z,t) = -\nabla \cdot \underline{J}_b + R_b \quad (2.4)$$

lo cual representa el balance de materia del componente $b(z,t)$ en forma diferencial.

Para la especie quimioattractora $a(z,t)$ se puede escribir un balance de materia similar :

$$\frac{\partial}{\partial t} a(z,t) = -\nabla \cdot \underline{J}_a + R_a \quad (2.5)$$

En la ecuación (2.5) \underline{J}_a es el flux difusivo de la especie $a(z,t)$ y R_a es el término de consumo de nutriente por unidad de volumen y unidad de tiempo. Se considera que la muerte de bacterias es despreciable en comparación con su crecimiento y reproducción por lo que $R_b > 0$, por otra parte $R_a < 0$ ya que es consumido por la especie $b(z,t)$.

Expresiones para el flux:

En el caso de la especie química $a(z,t)$ se describe como difusión de Fick:

$$\underline{J}_a = -D_{ef} \nabla a(z,t) \quad (2.6)$$

con un coeficiente efectivo de difusión D_{ef} (ya que se trata de un medio poroso) definido por :

$$D_{ef} = \left(\frac{\varepsilon}{\sigma} \right) D \quad (2.7)$$

donde ε es la porosidad, σ es la tortuosidad y D la difusividad molecular.

Introduciendo un coeficiente de movilidad aleatoria efectivo μ_{ef} y la velocidad quimiotáctica efectiva $\underline{V}_{C,ef}$, la expresión del flux para la especie $b(z,t)$ se puede escribir como :

$$\underline{J}_b = -\mu_{ef} \nabla b(z,t) + \underline{V}_{C,ef} b(z,t) \quad (2.8)$$

La velocidad quimiotáctica efectiva $\underline{V}_{C,ef}$ se relaciona con el gradiente de concentración de la especie $a(z,t)$ mediante :

$$\underline{V}_{C,ef} = \chi_{0,ef} \frac{K_d}{(K_d + a)^2} \nabla a \quad (2.9)$$

donde $\chi_{0,ef}$ es el coeficiente efectivo de sensibilidad quimiotáctica y K_d la constante de equilibrio de disociación para el complejo receptor-atractor el cual relaciona la concentración de la especie $a(z,t)$ en el medio poroso a la concentración de complejo receptor-atractor sobre la superficie de la célula.

Términos cinéticos.

Para describir la rapidez de reproducción de la especie $b(z,t)$, el término R_b , se utiliza el modelo propuesto por Monod el cual indica que la rapidez específica de crecimiento, k , se puede escribir como :

$$k = \frac{k_{\max} a}{(K_s + a)} \quad (2.10)$$

donde k_{\max} es la rapidez específica máxima de crecimiento ya que conforme $a \rightarrow \infty$, $k \rightarrow k_{\max}$, K_s es la constante de saturación media :

$$K_s = a \Big|_{k = \frac{k_{\max}}{2}} \quad (2.11)$$

Considerando lo anterior, R_b se puede expresar como :

$$R_b = \frac{k_{\max} a}{(K_s + a)} b(z,t) \quad (2.12)$$

mientras que el término de consumo de la especie $a(z,t)$, R_a , se relaciona con R_b mediante :

$$R_a = \frac{R_b}{Y} \quad (2.13)$$

donde Y es un coeficiente de eficiencia que representa la cantidad de masa de nutriente $a(z,t)$ que se transforma en masa de bacterias. Generalmente se considera que el coeficiente de eficiencia Y es constante; sin embargo, en algunos sistemas se ha observado que esto no se cumple.

Considerando el caso unidimensional y sustituyendo las expresiones del flux, \underline{J}_b , \underline{J}_a , así como las expresiones cinéticas, R_b y R_a , en las ecuaciones de conservación para las especies $b(z,t)$ y $a(z,t)$ se obtiene:

$$\frac{\partial a}{\partial t} = D_{ef} \frac{\partial^2 a}{\partial z^2} - \left[\frac{k_{\max} a}{Y(K_s + a)} \right] b \quad (2.14)$$

$$\frac{\partial b}{\partial t} = \mu_{ef} \frac{\partial^2 b}{\partial z^2} - \frac{\partial}{\partial z} \left[\chi_{0,ef} \frac{K_d b}{(K_d + a)^2} \frac{\partial a}{\partial z} \right] + \frac{k_{\max} ab}{K_s + a} \quad (2.15)$$

Las expresiones 2.14-2.15 son un sistema de ecuaciones diferenciales parciales no lineal, acoplado y representan los balances de masa de las especies $a(z,t)$ y $b(z,t)$. Para resolver el sistema se requiere de las condiciones iniciales y de frontera que se describirán más adelante para cada caso de estudio.

Capítulo 3

Sistema difusivo

3.1.-Introducción.

En este capítulo se calculan coeficientes de movilidad aleatoria efectivos a partir de datos de rapidez de penetración para sistemas difusivos en ausencia de quimiotaxis. Se utilizan los resultados reportados por Reynolds et al (16).

3.2.-Ecuación de difusión.

En la siguiente tabla se muestran los resultados reportados por Reynolds (16) para la cepa de E. Coli RP487:

Tabla 3.1. Rapidez de penetración de E. Coli RP487 en medio poroso con y sin gradiente de nutrientes, Reynolds et al. (1989)

Componentes del medio				
Medio	Jeringa distal	Rapidez de penetración (cm/h)	$\mu_{ef} \times 10^6$ (cm ² /s)	$\chi_{0,ef} \times 10^6$ (cm ² /s)
Galactosa, peptona	Galactosa, peptona	0.032±0.005	3.5	No aplica
Peptona	Peptona	0.100±0.006	11	No aplica
Peptona	Galactosa, peptona	0.090±0.005	11	0
Sin nutrientes	Galactosa, peptona	<0.024	0	No aplica

En los dos primeros sistemas de la tabla 1 la concentración de nutriente es homogénea en toda la columna. La cepa E. Coli RP487 es incapaz de metabolizar la galactosa haciendo que los términos reactivos en las ecuaciones de conservación se puedan despreciar. En este caso se supone que la movilidad aleatoria de las células es el mecanismo principal de transporte. Las ecuaciones del modelo general (ec. 2.10 y 2.11) se simplifican como sigue:

$$\frac{\partial a}{\partial t} = D_{ef} \frac{\partial^2 a}{\partial z^2} - \left[\frac{k_{max} a}{Y(K_s + a)} \right] b$$

$$\frac{\partial b}{\partial t} = \mu_{ef} \frac{\partial^2 b}{\partial z^2} - \frac{\partial}{\partial z} \left[\chi_{0,ef} \frac{K_d b}{(K_d + a)^2} \frac{\partial a}{\partial z} \right] + \frac{k_{max} a b}{K_s + a}$$

El sistema resultante es:

$$\frac{\partial a}{\partial t} = D_{ef} \frac{\partial^2 a}{\partial z^2} \quad (3.1)$$

$$\frac{\partial b}{\partial t} = \mu_{ef} \frac{\partial^2 b}{\partial z^2} \quad (3.2)$$

En el caso de la ecuación 3.1 la solución es trivial debido a que la condición inicial es una distribución homogénea de concentración ($a = \text{constante}$) ya que toda la columna se satura con la solución de nutriente. Por otra parte se considera que la aguja en el extremo proximal ($z=0$) de la columna envía una concentración constante y uniforme de células en toda la sección transversal. Lo anterior se puede justificar debido a la presencia del filtro entre la jeringa y la columna, el cual actúa como un distribuidor. En el extremo distal ($z=L$) se utiliza una condición de frontera de Neumann para especificar que no hay flujo de bacterias en esa frontera de la columna. Las consideraciones anteriores se resumen de la siguiente forma:

Condición inicial:

$$b(z,0) = b_0(A_{\text{aguja}}/A_{\text{columna}}) \quad (3.3)$$

donde A_{aguja} es el área transversal de la aguja, A_{columna} es el área transversal de la columna y la relación es un factor de ajuste para representar el efecto del filtro.

Condiciones de frontera:

$$b(0,t) = b_0 \left(\frac{A_{\text{aguja}}}{A_{\text{columna}}} \right) \quad (3.4)$$

$$\frac{\partial b}{\partial z}(L,t) = 0 \quad (3.5)$$

Las ecuaciones 3.2 a 3.5 representan el planteamiento del problema difusivo con un solo parámetro a determinar, μ_{ef} , el coeficiente de movilidad aleatoria efectivo. La ecuación (3.1) se plantea únicamente porque se deriva de la simplificación de las ecuaciones (2.10)-(2.11) y se utilizará más adelante en sistemas donde se presente crecimiento de bacterias y consumo de nutriente.

3.3.-Forma adimensional de la ecuación de difusión.

Para obtener la solución general del sistema difusivo se introducen las siguientes variables adimensionales:

$$C = \frac{b_0 - b}{b_0} \quad \text{Concentración adimensional} \quad (3.6)$$

$$\zeta = \frac{L - z}{L} \quad \text{Coordenada adimensional} \quad (3.7)$$

$$\Gamma = \frac{\mu_{ef} t}{L^2} \quad \text{Tiempo adimensional} \quad (3.8)$$

Sustituyendo las variables adimensionales en la ecuación 3.2 se obtiene :

$$\frac{\partial C}{\partial \Gamma} = \frac{\partial^2 C}{\partial \zeta^2} \quad (3.9)$$

Con las siguientes condiciones inicial y de frontera:

Condición inicial:

$$C(\zeta, 0) = 1 \quad (3.10)$$

Condiciones de frontera:

$$C(1, \Gamma) = 0 \quad (3.11)$$

$$\frac{\partial C}{\partial t}(0, \Gamma) = 0 \quad (3.12)$$

3.4.-Solución de la ecuación de difusión adimensional.

Se supone que existe una solución para C de la siguiente forma (separación de variables):

$$C(\zeta, \Gamma) = Z(\zeta)\Gamma(\Gamma) \quad (3.13)$$

Sustituyendo (3.13) en (3.9) se obtiene:

$$Z \frac{d\Gamma}{d\Gamma} = \Gamma \frac{d^2 Z}{d\zeta^2} \quad (3.14)$$

Separando variables:

$$\frac{1}{\Gamma} \frac{d\Gamma}{d\Gamma} = \frac{1}{Z} \frac{d^2 Z}{d\zeta^2} = -\lambda^2 \quad (3.15)$$

donde λ es una constante de separación por determinarse.

Ecuación para T:

$$\frac{1}{\Gamma} \frac{d\Gamma}{d\Gamma} = -\lambda^2 \quad (3.16)$$

Solución general de 3.16 :

$$\Gamma = k_1 e^{(-\lambda^2 \Gamma)} \quad (k_1 \text{ es la primera constante de integración}) \quad (3.17)$$

Ecuación para Z:

$$\frac{1}{Z} \frac{d^2 Z}{d\zeta^2} = -\lambda^2 \quad (3.18)$$

Solución general de 3.18:

$$Z = k_2 \text{sen}(\lambda \zeta) + k_3 \cos(\lambda \zeta) \quad (3.19)$$

k_2 y k_3 son la segunda y tercer constantes de integración respectivamente.

Sustituyendo 3.17 y 3.19 en 3.13:

$$C = k_1 e^{(-\lambda^2 \Gamma)} (k_2 \text{sen}(\lambda \zeta) + k_3 \cos(\lambda \zeta)) \quad (3.20)$$

Simplificando las constantes:

$$C = e^{(-\lambda^2 \Gamma)} (A \text{sen}(\lambda \zeta) + B \cos(\lambda \zeta)) \quad (3.21)$$

con $A = k_1 k_2$ y $B = k_1 k_3$.

Utilizando la condición de frontera 2 (ec. 3.12) se determina la constante A:

$$\frac{\partial C}{\partial t}(0, \Gamma) = 0$$

$$\frac{\partial C}{\partial \zeta} = e^{(-\lambda^2 \Gamma)} (A \lambda \cos(\lambda \zeta) - B \lambda \text{sen}(\lambda \zeta)) \quad (3.22)$$

El único valor que satisface (3.22) para todo Γ es:

$$A = 0 \quad (3.23)$$

Sustituyendo 3.23 en 3.21 se simplifica a:

$$C = e^{(-\lambda^2 \Gamma)} B \cos(\lambda \zeta) \quad (3.24)$$

A continuación se utiliza la condición de frontera 1 (ec. 3.11):

$$0 = e^{(-\lambda^2 \Gamma)} B \cos(\lambda) \quad (3.25)$$

La constante B tiene que ser diferente de cero para que la solución no sea trivial, por lo tanto se tiene que :

$$0 = \cos(\lambda) \quad (3.26)$$

con las siguientes raíces:

$$\lambda_n = \frac{(2n+1)\pi}{2} \quad \text{para } n= 0,1,2,\dots,\infty \quad (3.27)$$

Finalmente la solución más general se obtiene con la suma infinita para cada raíz:

$$C = \sum_{n=0}^{\infty} B_n e^{\left(\frac{-(2n+1)^2 \pi^2 \Gamma}{4}\right)} \cos\left(\frac{(2n+1)\pi}{2} \zeta\right) \quad (3.28)$$

Para evaluar los coeficientes B_n se utiliza la condición inicial (3.10):

$$1 = \sum_{n=0}^{\infty} B_n \cos\left(\frac{(2n+1)\pi}{2} \zeta\right) \quad (3.29)$$

se multiplica por :

$$\cos\frac{(2m+1)\pi}{2} \zeta \quad (3.30)$$

y se integra respecto a ζ , de 0 a 1:

$$\int_0^1 \cos\frac{(2m+1)\pi}{2} \zeta d\zeta = \sum_{n=0}^{\infty} \int_0^1 B_n \cos\frac{(2m+1)\pi}{2} \zeta \cos\frac{(2n+1)\pi}{2} \zeta d\zeta \quad (3.31)$$

Aplicando la siguiente propiedad de ortogonalidad de la función coseno a (3.31):

$$\int_0^1 \left[\cos\frac{(2n+1)\pi}{2} \zeta \cos\frac{(2m+1)\pi}{2} \zeta \right] d\zeta \quad \left\{ \begin{array}{l} = 0, \text{ si } m \neq n \\ \neq 0, \text{ si } m = n \end{array} \right. \quad (3.32)$$

Se obtiene:

$$\int_0^1 \cos \frac{(2m+1)\pi}{2} \zeta d\zeta = \int_0^1 B_m \cos^2 \frac{(2m+1)\pi}{2} \zeta d\zeta \quad (3.33)$$

de donde se determina B_m :

$$B_m = \frac{4(-1)^m}{\pi(2m+1)} \quad (3.34)$$

Finalmente la solución adimensional del sistema difusivo es:

$$C(\zeta, \Gamma) = \sum_{n=0}^{\infty} \frac{4(-1)^n}{\pi(2n+1)} e^{\left(\frac{-(2n+1)^2 \pi^2 \Gamma}{4}\right)} \cos\left(\frac{(2n+1)\pi}{2} \zeta\right) \quad (3.35)$$

Teniendo en cuenta las relaciones (3.6), (3.7) y (3.8), se puede expresar (3.35) en términos de la concentración adimensional b/b_0 , la coordenada adimensional z/L y el tiempo adimensional $\Gamma = \mu_{ef} t / L^2$:

$$1 - \frac{b}{b_0} = \sum_{n=0}^{\infty} \frac{4(-1)^n}{\pi(2n+1)} e^{\left(\frac{-(2n+1)^2 \pi^2 \Gamma}{4}\right)} \cos\left(\frac{(2n+1)\pi}{2} \left(1 - \frac{z}{L}\right)\right) \quad (3.36)$$

$$\frac{b}{b_0} = 1 - \sum_{n=0}^{\infty} \frac{4(-1)^n}{\pi(2n+1)} e^{\left(\frac{-(2n+1)^2 \pi^2 \Gamma}{4}\right)} \cos\left(\frac{(2n+1)\pi}{2} \left(1 - \frac{z}{L}\right)\right) \quad (3.37)$$

En la figura 3.1 se han dibujado los perfiles de concentración adimensional en función de la coordenada adimensional para tiempos adimensionales Γ desde 0.01 hasta 0.06 de acuerdo con la expresión (3.37).

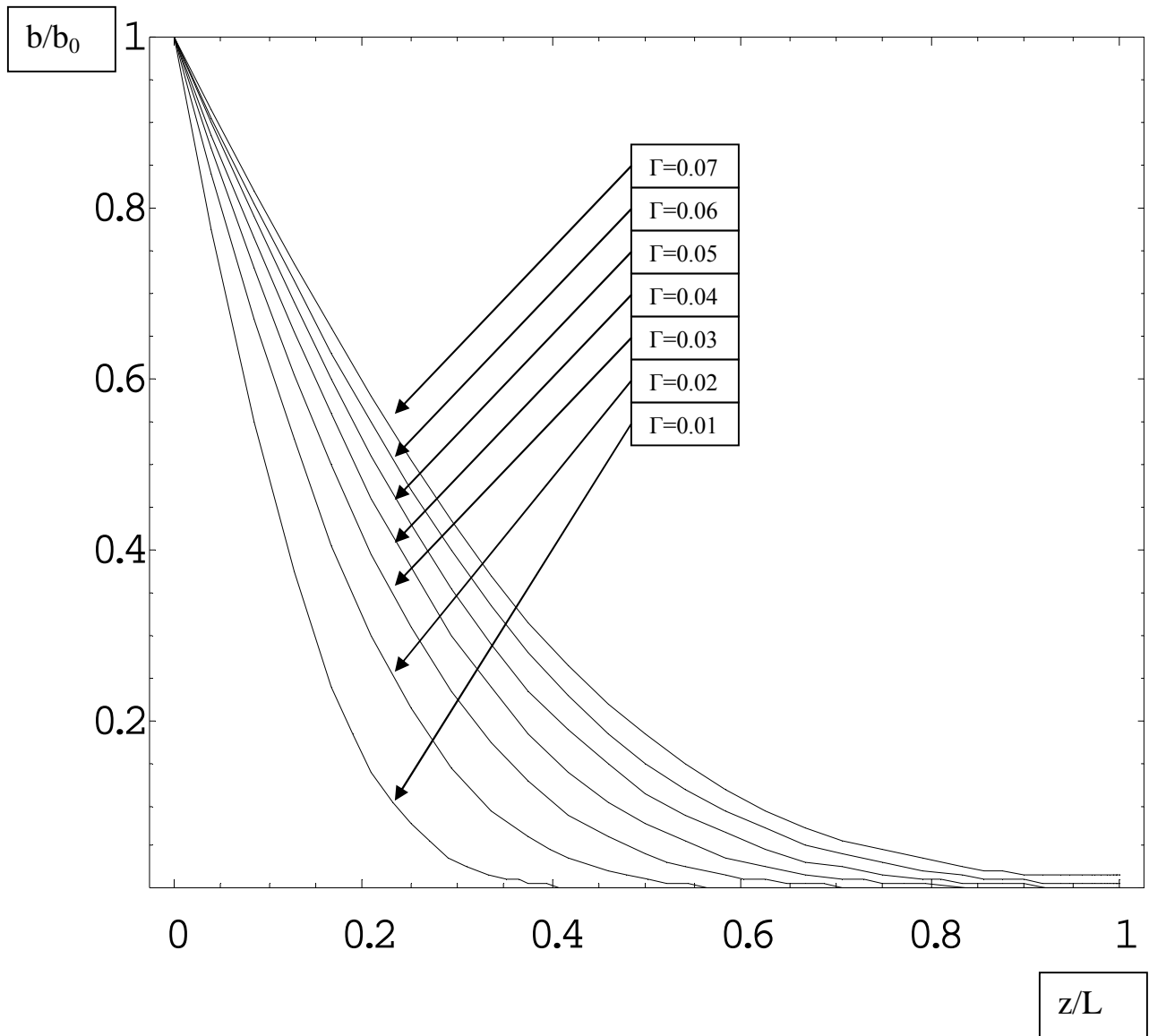


Figura 3.1 Perfiles de concentración adimensional para tiempos adimensionales $\Gamma=0.01$, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06 y 0.07 (ecuación 3.37).

3.5.-Determinación de coeficientes de movilidad aleatoria efectivos.

Para estimar el coeficiente efectivo de movilidad aleatoria Barton y Ford (15) utilizan los siguientes parámetros:

Tabla 3.2. Parámetros utilizados por Barton y Ford (15) en sus cálculos.

Variable o parámetro	Símbolo	Valor
Densidad bacteriana inicial	b_0	2.0×10^7 células/mL
Densidad bacteriana en $z=L$ al tiempo de penetración	b_p	300 células/mL*
Longitud de la columna	L	10 cm
Diámetro de la columna	D	1.25 cm
Diámetro de la aguja	D_a	0.04 cm (#22)**

*Límite de detección del método utilizado por Reynolds (17), Barton y Ford no mencionan en forma explícita que utilizaron este valor en sus cálculos. De acuerdo con esto no se obtienen células viables en el extremo distal de la columna hasta que la concentración sea al menos de 300 por mL.

**Este valor se obtuvo de tablas de jeringas comerciales (22 gauge).

Con estos valores se evalúa el tiempo adimensional de penetración utilizando la expresión (3.36).

Concentración adimensional de penetración, C_p :

$$C_p = 1 - \frac{b_p}{b_0 \left(\frac{A_{aguja}}{A_{columna}} \right)} \quad (3.38)$$

$$C_p = 1 - \frac{300 \text{ células / mL}}{2.0 \times 10^7 \text{ células / mL} \left(\frac{0.04 \text{ cm}}{1.25 \text{ cm}} \right)^2}$$

$$C_p = 0.9853$$

Esta concentración se evalúa en $z=L$ ($\zeta=0$), con la expresión (3.36):

$$0.98535 = \sum_{n=0}^{\infty} \frac{4(-1)^n}{\pi(2n+1)} e^{\left(\frac{-(2n+1)^2 \pi^2 \Gamma}{4}\right)} \quad (3.39)$$

y se obtiene el tiempo adimensional de penetración:

$$\Gamma_p = \frac{\mu_{ef} t_{penetración}}{L^2} = 0.06952 \quad (3.40)$$

$$\Gamma_p = \frac{\mu_{ef}}{R_p L} = 0.06952 \quad (3.41)$$

donde R_p es la rapidez de penetración.

$$\mu_{ef} = 0.06952 L R_p \quad (3.42)$$

Sustituyendo los valores de la tabla 3.1 y 3.2 se obtienen los siguientes resultados:

Tabla 3.3. Comparación de coeficientes efectivos de movilidad aleatoria.

Componentes del medio				
Medio	Jeringa distal	Rapidez de penetración (cm/h)	$\mu_{ef} \times 10^6$ (cm ² /s) calculado por Barton y Ford	$\mu_{ef} \times 10^6$ (cm ² /s) ecuación (3.42)
Galactosa, peptona	Galactosa, peptona	0.032±0.005	3.5	6.2
Peptona	Peptona	0.100±0.006	11	19.3

En el trabajo presente se comparan únicamente los dos primeros sistemas de la tabla 3.1 porque cumplen con las suposiciones de la expresión (3.42). Barton y Ford no mencionan cómo calcularon los coeficientes, plantean el sistema, los valores de los parámetros y dan sus resultados. A este respecto la única información que no proporcionan en forma explícita es qué concentración de bacterias consideraron en el extremo distal de la columna al tiempo de penetración. Lo anterior podría explicar en parte las diferencias entre los coeficientes calculados.

3.6.-Ecuación de difusión amortiguada.

Se ha observado que las bacterias no se mueven con velocidades infinitas sino a través de frentes de concentración bien definidos(17), por lo que se estudió el efecto del amortiguamiento de la difusión de bacterias introduciendo la ecuación de Cattaneo. Para comparar los perfiles de concentración producidos por una difusión de Fick, con los obtenidos considerando que la velocidad de propagación de la densidad bacterial en la columna es finita, se utiliza la expresión del flux amortiguado propuesta por Cattaneo en 1948 (11):

$$\underline{J}_b + \tau \frac{\partial \underline{J}_b}{\partial t} = -\mu_{ef} \nabla b(z,t) \quad (3.43)$$

donde τ es el tiempo de relajación y el balance de materia es:

$$\frac{\partial}{\partial t} b(z,t) = -\nabla \cdot \underline{J}_b \quad (3.44)$$

Sustituyendo (3.43) en (3.44) se tiene:

$$\frac{\partial}{\partial t} b(z,t) = -\nabla \cdot \left(-\tau \frac{\partial \underline{J}_b}{\partial t} - \mu_{ef} \nabla b(z,t) \right) \quad (3.45)$$

Desarrollando (3.45) y considerando que $\underline{J}_b = (0,0,J_b)$:

$$\frac{\partial}{\partial t} b(z,t) = \mu_{ef} \frac{\partial^2 b}{\partial z^2} + \tau \frac{\partial}{\partial z} \left(\frac{\partial \underline{J}_b}{\partial t} \right) \quad (3.46)$$

Derivando (3.44) con respecto a t se tiene:

$$\frac{\partial^2}{\partial t^2} b(z,t) = -\frac{\partial}{\partial t} \left(\frac{\partial \underline{J}_b}{\partial z} \right) \quad (3.47)$$

Como la variable z es independiente de t se puede cambiar el orden de la derivación en (3.47):

$$\frac{\partial^2}{\partial t^2} b(z, t) = -\frac{\partial}{\partial z} \left(\frac{\partial J_b}{\partial t} \right) \quad (3.48)$$

sustituyendo (3.48) en (3.46) se tiene:

$$\frac{\partial}{\partial t} b(z, t) = \mu_{ef} \frac{\partial^2 b}{\partial z^2} - \tau \frac{\partial^2}{\partial t^2} b(z, t) \quad (3.49)$$

$$\frac{\partial}{\partial t} b(z, t) + \tau \frac{\partial^2}{\partial t^2} b(z, t) = \mu_{ef} \frac{\partial^2 b}{\partial z^2} \quad (3.50)$$

La ecuación (3.50) es hiperbólica e implica que la densidad bacterial se propaga con una velocidad finita $v = (\mu_{ef} / \tau)^{1/2}$. En el límite cuando $\tau \rightarrow 0$, se obtiene la segunda ley de Fick y v tiende a infinito. La ecuación (3.50) es del tipo de una onda amortiguada o del “Telégrafo”.

3.7.-Solución adimensional de la ecuación de difusión amortiguada.

Introduciendo las variables adimensionales (3.6), (3.7), (3.8) y sustituyendo en (3.50) se tiene:

$$\frac{\partial C}{\partial \Gamma} + \Lambda \frac{\partial^2 C}{\partial \Gamma^2} = \frac{\partial^2 C}{\partial \zeta^2} \quad (3.51)$$

donde Λ es :

$$\Lambda = \frac{\mu_{ef} \tau}{L^2} \quad (3.52)$$

que se puede interpretar como un tiempo adimensional característico del sistema.

Las condiciones iniciales y de frontera son:

Condiciones iniciales:

$$C(\zeta, 0) = 1 \quad (3.53)$$

$$\frac{\partial C}{\partial \Gamma}(\zeta, 0) = 0 \quad (3.54)$$

Condiciones de frontera:

$$C(1, \Gamma) = 0 \quad (3.55)$$

$$\frac{\partial C}{\partial \zeta}(0, \Gamma) = 0 \quad (3.56)$$

Como en el caso parabólico, se supone que existe una solución para C de la siguiente forma (separación de variables):

$$C(\zeta, \Gamma) = Z(\zeta)\Gamma(\Gamma) \quad (3.57)$$

Sustituyendo (3.57) en (3.51) se obtiene:

$$Z \frac{d\Gamma}{d\Gamma} + \Lambda Z \frac{d^2\Gamma}{d\Gamma^2} = \Gamma \frac{d^2Z}{d\zeta^2} \quad (3.58)$$

Separando variables:

$$\frac{1}{\Gamma} \frac{d\Gamma}{d\Gamma} + \Lambda \frac{1}{\Gamma} \frac{d^2\Gamma}{d\Gamma^2} = \frac{1}{Z} \frac{d^2Z}{d\zeta^2} = -\lambda^2 \quad (3.59)$$

donde λ es una constante de separación.

La solución general para Z es:

$$Z = k_1 \text{sen}(\lambda \zeta) + k_2 \cos(\lambda \zeta) \quad (3.60)$$

k_1 y k_2 son la primera y segunda constantes de integración.

Ecuación diferencial para T:

$$\frac{1}{T} \frac{dT}{d\Gamma} + \Lambda \frac{1}{T} \frac{d^2 T}{d\Gamma^2} = -\lambda^2 \quad (3.61)$$

Reordenando (3.61):

$$\frac{d^2 T}{d\Gamma^2} + \frac{1}{\Lambda} \frac{dT}{d\Gamma} + \frac{\lambda^2}{\Lambda} T = 0 \quad (3.62)$$

La solución general de (3.62) depende de la relación entre los coeficientes de la primera derivada y la función T. Considerando que se busca una solución en series de Fourier, λ tendrá los valores dados por la ecuación 3.27, de los cuales el menor (con $n=0$) es $\pi/2$. Por lo tanto se puede obtener una solución general válida haciendo que:

$$\Lambda > \frac{1}{\pi^2} \quad (3.63)$$

Lo cual implica que la siguiente desigualdad se cumple:

$$\left(\frac{1}{2\Lambda} \right)^2 < \frac{\lambda_n^2}{\Lambda} \quad \text{para } n=0,1,2,\dots,\infty \quad (3.64)$$

Con las consideraciones anteriores la solución general para T es:

$$T = e^{\frac{-\Gamma}{2\Lambda}} \left(k_3 \cos\left(\frac{\sqrt{4\Lambda\lambda^2 - 1}}{2\Lambda} \Gamma \right) + k_4 \text{sen}\left(\frac{\sqrt{4\Lambda\lambda^2 - 1}}{2\Lambda} \Gamma \right) \right) \quad (3.65)$$

Con k_3 y k_4 como la tercera y cuarta constantes de integración respectivamente. La solución corresponde a una ecuación diferencial ordinaria de segundo orden con coeficientes constantes que cumple con la condición (3.64).

La solución general para C es:

$$C(\zeta, \Gamma) = (k_1 \text{sen}(\lambda\zeta) + k_2 \cos(\lambda\zeta)) e^{\frac{-\Gamma}{2\Lambda}} \left(k_3 \cos\left(\frac{\sqrt{4\Lambda\lambda^2 - 1}}{2\Lambda}\right) \Gamma + k_4 \text{sen}\left(\frac{\sqrt{4\Lambda\lambda^2 - 1}}{2\Lambda}\right) \Gamma \right) \quad (3.66)$$

Determinación de constantes:

Condición de frontera: $\frac{\partial C}{\partial \zeta}(0, \Gamma) = 0$ (ec. 3.56)

$$\frac{\partial C}{\partial \zeta} = (\lambda k_1 \cos(\lambda\zeta) - \lambda k_2 \text{sen}(\lambda\zeta)) e^{\frac{-\Gamma}{2\Lambda}} \left(k_3 \cos\left(\frac{\sqrt{4\Lambda\lambda^2 - 1}}{2\Lambda}\right) \Gamma + k_4 \text{sen}\left(\frac{\sqrt{4\Lambda\lambda^2 - 1}}{2\Lambda}\right) \Gamma \right) \quad (3.67)$$

Evaluando 3.67 en $\zeta=0$:

$$0 = (\lambda k_1 - 0) e^{\frac{-\Gamma}{2\Lambda}} \left(k_3 \cos\left(\frac{\sqrt{4\Lambda\lambda^2 - 1}}{2\Lambda}\right) \Gamma + k_4 \text{sen}\left(\frac{\sqrt{4\Lambda\lambda^2 - 1}}{2\Lambda}\right) \Gamma \right) \quad (3.68)$$

De donde se tiene que $k_1=0$.

La solución se simplifica a:

$$C(\zeta, \Gamma) = (k_2 \cos(\lambda\zeta)) e^{\frac{-\Gamma}{2\Lambda}} \left(k_3 \cos\left(\frac{\sqrt{4\Lambda\lambda^2 - 1}}{2\Lambda}\right) \Gamma + k_4 \text{sen}\left(\frac{\sqrt{4\Lambda\lambda^2 - 1}}{2\Lambda}\right) \Gamma \right) \quad (3.69)$$

Aplicando la segunda condición de frontera (3.55) se tiene:

$$0 = (k_2 \cos(\lambda))e^{\frac{-\Gamma}{2\Lambda}} \left(k_3 \cos\left(\frac{\sqrt{4\Lambda\lambda^2 - 1}}{2\Lambda}\right)\Gamma + k_4 \operatorname{sen}\left(\frac{\sqrt{4\Lambda\lambda^2 - 1}}{2\Lambda}\right)\Gamma \right) \quad (3.70)$$

para que la solución no sea trivial, $k_2 \neq 0$ y se debe cumplir para todo Γ por lo que:

$$0 = \cos(\lambda) \quad (3.71)$$

con λ dado por la ecuación 3.27 y simplificando las constantes en 3.69 :

$$C(\zeta, \Gamma) = \sum_{n=0}^{\infty} (\cos(\lambda_n \zeta))e^{\frac{-\Gamma}{2\Lambda}} \left(A_n \cos\left(\frac{\sqrt{4\Lambda\lambda_n^2 - 1}}{2\Lambda}\right)\Gamma + B_n \operatorname{sen}\left(\frac{\sqrt{4\Lambda\lambda_n^2 - 1}}{2\Lambda}\right)\Gamma \right) \quad (3.72)$$

Utilizando la condición inicial dada por (3.54) en (3.72) se tiene:

$$\frac{\partial C}{\partial \Gamma} = \sum_{n=0}^{\infty} (\cos(\lambda_n \zeta))e^{\frac{-\Gamma}{2\Lambda}} \left(-\frac{1}{2\Lambda} (A_n \cos \alpha \Gamma + B_n \operatorname{sen} \alpha \Gamma) + (-A_n \alpha \operatorname{sen} \alpha \Gamma + B_n \alpha \cos \alpha \Gamma) \right) \quad (3.73)$$

donde
$$\alpha = \frac{\sqrt{4\Lambda\lambda_n^2 - 1}}{2\Lambda}$$

evaluando (3.73) en $\Gamma=0$ e igualando a cero:

$$0 = \sum_{n=0}^{\infty} (\cos(\lambda_n \zeta)) \left(-\frac{1}{2\Lambda} (A_n) + (B_n \alpha) \right) \quad (3.74)$$

La condición inicial de (3.74) se debe cumplir para todo ζ por lo que:

$$0 = \left(-\frac{1}{2\Lambda} (A_n) + (B_n \alpha) \right) \quad \text{para } n=0,1,2,\dots,\infty \quad (3.75)$$

$$B_n = \frac{A_n}{2\Lambda \alpha} \quad (3.76)$$

$$B_n = \frac{A_n}{\sqrt{4\Lambda \lambda_n^2 - 1}} \quad (3.77)$$

Sustituyendo este resultado en (3.72):

$$C(\zeta, \Gamma) = \sum_{n=0}^{\infty} A_n (\cos(\lambda_n \zeta)) e^{\frac{-\Gamma}{2\Lambda}} \left(\cos \left(\frac{\sqrt{4\Lambda \lambda_n^2 - 1}}{2\Lambda} \Gamma \right) + \frac{1}{\sqrt{4\Lambda \lambda_n^2 - 1}} \operatorname{sen} \left(\frac{\sqrt{4\Lambda \lambda_n^2 - 1}}{2\Lambda} \Gamma \right) \right) \quad (3.78)$$

Esta expresión es válida para valores de Γ mayores a $1/\pi^2$. Los coeficientes A_n se determinan utilizando la condición inicial dada por (3.53) y la propiedad de ortogonalidad de la función coseno expresada en la ecuación (3.32).

Evaluando (3.78) para $\Gamma=0$:

$$1 = \sum_{n=0}^{\infty} A_n (\cos(\lambda_n \zeta)) \quad (3.79)$$

$$1 = \sum_{n=0}^{\infty} A_n \left(\cos \left(\frac{(2n+1)\pi}{2} \zeta \right) \right) \quad (3.80)$$

Multiplicando (3.80) por:

$$\cos \frac{(2m+1)\pi}{2} \zeta$$

e integrando con respecto a ζ de 0 a 1 :

$$\int_0^1 \cos \frac{(2m+1)\pi}{2} \zeta d\zeta = \sum_{n=0}^{\infty} \int_0^1 A_n \cos \frac{(2m+1)\pi}{2} \zeta \cos \frac{(2n+1)\pi}{2} \zeta d\zeta \quad (3.81)$$

aplicando (3.32) a (3.81) :

$$A_m = \frac{4(-1)^m}{\pi(2m+1)} \quad (3.82)$$

Sustituyendo (3.82) en (3.78):

$$C(\zeta, \Gamma) = \sum_{n=0}^{\infty} \frac{4(-1)^n}{\pi(2n+1)} \left(\cos \left(\frac{(2n+1)\pi}{2} \zeta \right) \right) e^{\frac{-\Gamma}{2\Lambda}} \left(\cos \left(\frac{\sqrt{\Lambda(2n+1)^2 \pi^2 - 1}}{2\Lambda} \right) \Gamma + \frac{1}{\sqrt{\Lambda(2n+1)^2 \pi^2 - 1}} \operatorname{sen} \left(\frac{\sqrt{\Lambda(2n+1)^2 \pi^2 - 1}}{2\Lambda} \right) \Gamma \right) \quad (3.83)$$

Para expresar la ecuación (3.83) en términos de la concentración adimensional b/b_0 , la coordenada adimensional z/L y el tiempo adimensional Γ , se utilizan las ecuaciones (3.6), (3.7) y (3.8).

$$\frac{b}{b_0} = 1 - \sum_{n=0}^{\infty} \frac{4(-1)^n}{\pi(2n+1)} \left(\cos \left(\frac{(2n+1)\pi}{2} \left(1 - \frac{z}{L} \right) \right) \right) e^{-\frac{\Gamma}{2\Lambda}} \left(\cos \left(\frac{\sqrt{\Lambda(2n+1)^2 \pi^2 - 1}}{2\Lambda} \Gamma \right) + \frac{1}{\sqrt{\Lambda(2n+1)^2 \pi^2 - 1}} \operatorname{sen} \left(\frac{\sqrt{\Lambda(2n+1)^2 \pi^2 - 1}}{2\Lambda} \Gamma \right) \right) \quad (3.84)$$

En la expresión (3.84) el parámetro Λ representa un tiempo característico adimensional que describe el amortiguamiento del flux de masa de bacterias. Para obtener la solución analítica del sistema se ha supuesto que $\Lambda > 1/\pi^2$ y en la figura 3.2 se dibujan los perfiles de concentración adimensional b/b_0 en función de la coordenada adimensional z/L para tiempos adimensionales Γ de 0.1 hasta 0.3. Al revisar la figura 3.2 se observa que en el caso de la ecuación 3.84 se presenta un frente de avance bien definido lo cual establece que la velocidad de propagación de la concentración de bacterias en el medio poroso es finita. Lo anterior representa cualitativamente las observaciones experimentales de acuerdo con el trabajo reportado por Sharma et al (17). En comparación, la figura 3.1 (difusión de Fick) predice concentraciones de bacterias en toda la extensión de la columna inclusive a tiempos cortos, lo cual no se ha reportado en los trabajos de Reynolds y Sharma (16,17).

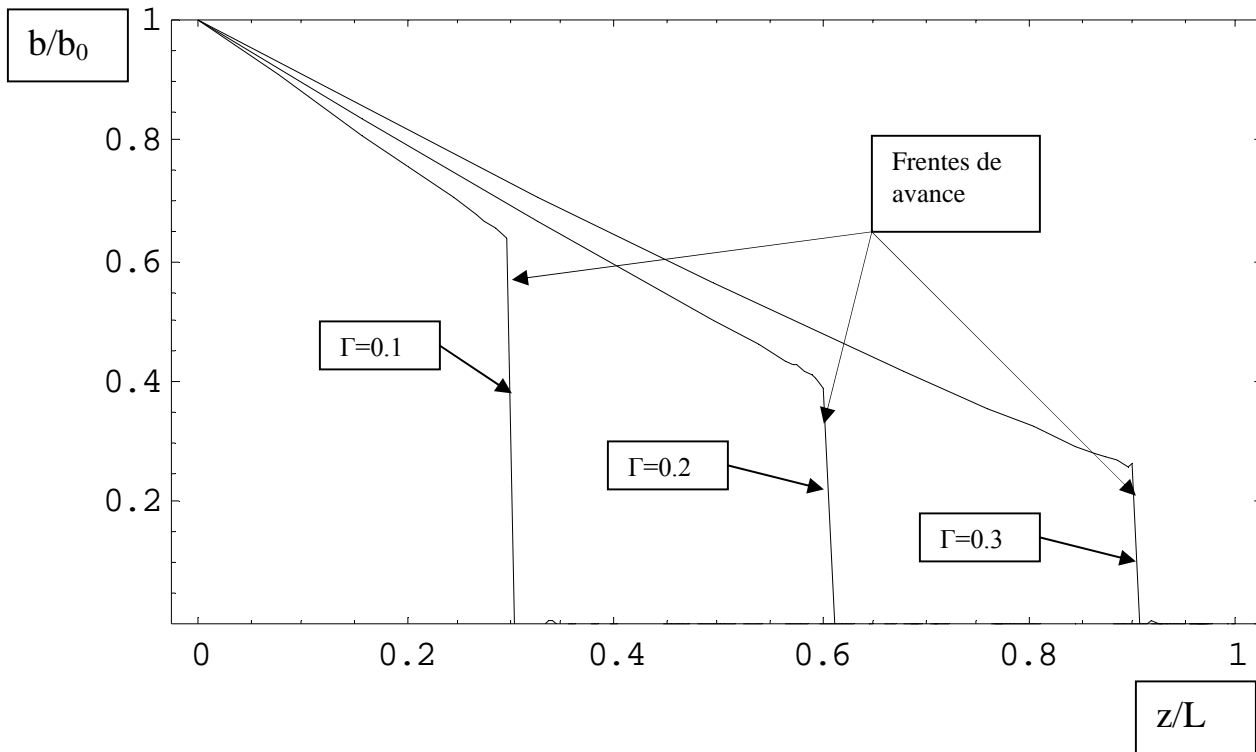


Figura 3.2 Perfiles de concentración adimensional con $\Lambda=0.11$ y $\Gamma=0.1, 0.2$ y 0.3 (ecuación 3.84).

Capítulo 4

Sistema reactivo-difusivo

4.1.-Introducción.

En este capítulo se obtienen aproximaciones numéricas de la solución del sistema reactivo-difusivo planteado en el capítulo 2 (ecuaciones 2.14 y 2.15). Como se verá más adelante, el mecanismo de transporte principal en el sistema de Barton y Ford (15) es la difusión mientras que la quimiotaxis tiene menor influencia a tiempos cortos debido a que los gradientes de nutriente son casi nulos. Primero se reproducen algunos resultados reportados por Barton y Ford (15) para después incluir el flux amortiguado de bacterias y analizar otros casos particulares.

4.2.-Resultados preliminares.

Se utilizan los resultados reportados por Sharma (17) para la migración de bacterias *E. Coli* de la cepa RW262 a través de columnas empacadas de arena. En los experimentos de Sharma se dividieron las columnas en cinco secciones de 2 cm de longitud y se midieron las concentraciones de células y nutriente (D-Galactosa) a diferentes tiempos a partir de la inoculación en un extremo de la columna. Adicionalmente se reportan en este experimento datos de crecimiento de la cepa *E. Coli* RW262 en medio poroso los cuales se reproducen en la figura 4.1.

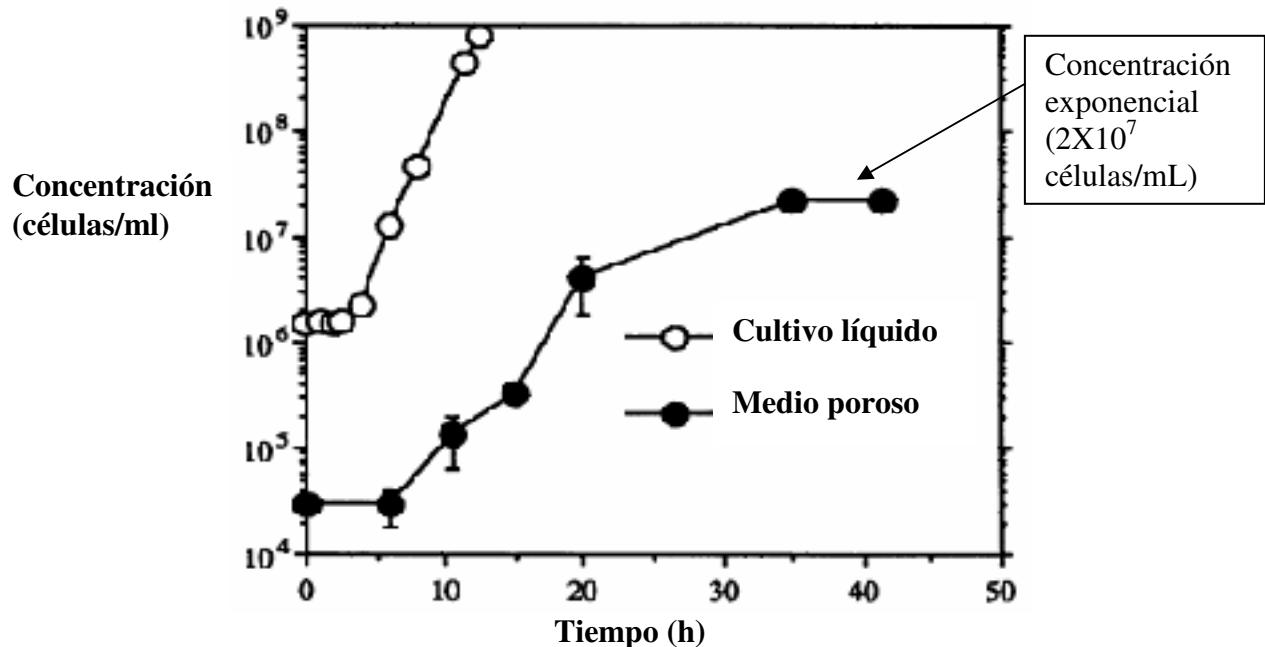


Fig.4.1 Curvas de crecimiento de *E. Coli* RW262 en cultivo líquido y medio poroso (Sharma et al.) (17)

En la gráfica anterior se observa que existe un tiempo de retraso en el crecimiento de las bacterias en medio poroso de 6 horas aproximadamente, a partir de este tiempo comienza el crecimiento y llega a un aparente punto máximo en un tiempo de 35 horas después de la inoculación. Por lo anterior se considera que durante las primeras 6 horas del experimento el término de crecimiento bacteriano es despreciable, posterior a este tiempo se consideran los términos reactivos en el sistema dado por las ecuaciones 2.14 y 2.15. Los parámetros utilizados para resolver este sistema se muestran en la tabla 4.1.

Tabla 4.1 Parámetros utilizados por Barton y Ford (15) en sus cálculos.

Variable o parámetro	Símbolo	Valor
Densidad bacteriana inicial	b_0	2.0×10^7 células/mL
Concentración inicial de quimioattractor	a_0	21 mM
Porosidad de la columna	ϵ	0.35
Tortuosidad	σ	1.5
Longitud de la columna	L	10 cm
Diámetro de la columna	D	1.25 cm
Coefficiente de difusión	D	6.9×10^{-6} cm ² /s
Constante de disociación	K_d	0.03 mM
Constante de Monod	K_s	0.03 mM
Rapidez de crecimiento específica máxima (modelo de Monod)	k_{max}	0.35 h ⁻¹
Coefficiente de eficiencia	Y	0.2

Utilizando estos datos se obtienen los siguientes parámetros:

$$D_{ef} = (\epsilon/\sigma)D = (0.35/1.5)6.9 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s} = 1.61 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$$

El coeficiente de eficiencia tiene unidades de masa de bacterias sobre masa de nutriente ya que en el modelo de Monod se define como (ver capítulo 1, sección 1.3):

$$Y = - \frac{db_{promedio}}{da_{promedio}} \quad (4.1)$$

para expresarlo en unidades de bacterias/mL por mM de nutriente se utiliza la siguiente conversión:

$$\left(\frac{0.2 \text{ g bacteria}}{\text{g nutriente}} \right) \left(\frac{\text{célula} *}{2.8 \times 10^{-13} \text{ g bacteria}} \right) \left(\frac{0.18008 \text{ g nutriente}}{\text{mMol nutriente}} \right) \left(\frac{10^{-3} \text{ L}}{\text{mL}} \right) = 1.3 \times 10^8 \frac{\text{células}}{\text{mL}} \frac{\text{mL}}{\text{mM}}$$

* Referencia: Sharma et al. (17)

4.3.-Método de solución (18,19).

Para calcular el perfil de concentración de bacterias durante las primeras 6 horas del experimento se utiliza la ecuación (3.2) ya que en este tiempo no se presenta crecimiento y se considera que el flujo es puramente difusivo. Con este modelo y los datos de penetración reportados por Sharma se estima el valor del coeficiente efectivo de movilidad aleatoria, μ_{ef} :

Sistema:

$$\frac{\partial b}{\partial t} = \mu_{ef} \frac{\partial^2 b}{\partial z^2} \quad (3.2)$$

Condición inicial:

Las columnas son inoculadas en el extremo distal con 0.2 mL de cultivo de concentración exponencial (2.0×10^7 células/mL, ver figura 4.1) y considerando la función del filtro, se puede suponer este volumen como la condición inicial.

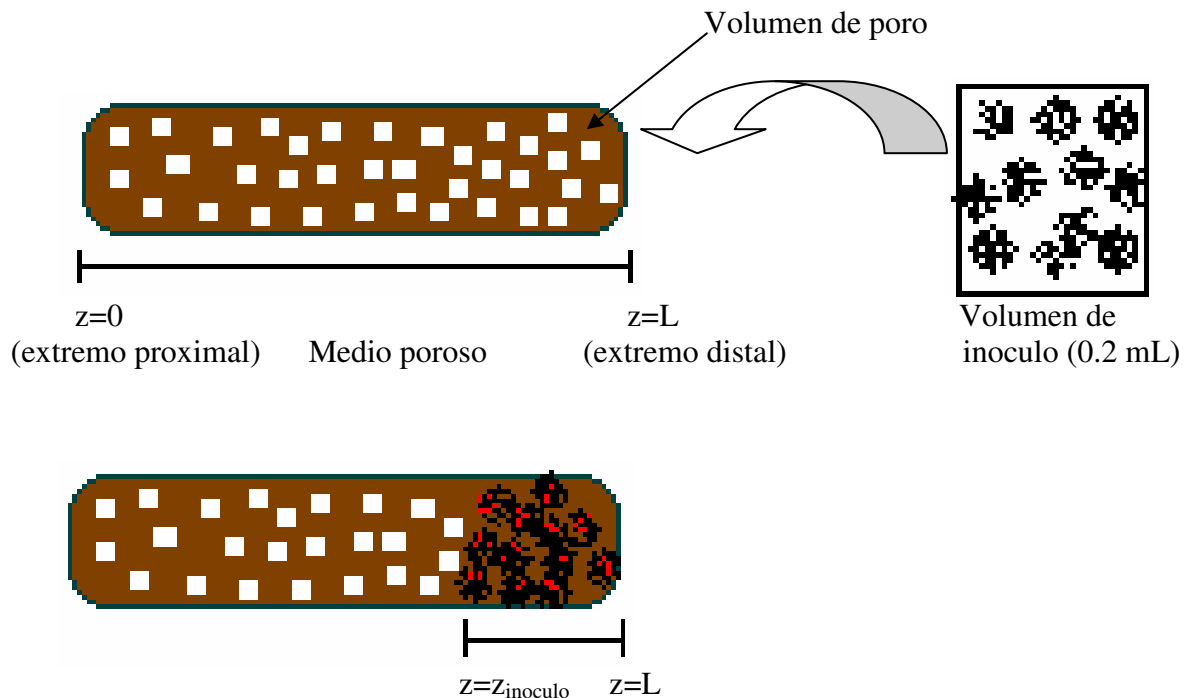


Fig.4.2 Inoculación del medio poroso con un volumen de 0.2 mL de cultivo en fase exponencial (concentración de 2.0×10^7 células/mL).

Si el diámetro interno de la columna es de 1.25 cm, el volumen de poro de la sección inoculada es de 1.47 ml (17) y se considera la relación de 1mL= 1cm³, entonces el volumen del inoculo ocupa una longitud en la columna de (ver figura 4.2):

$$z_{inoculo} = L - \frac{\text{Volumen de inoculo}}{\text{Volumen de poro (sección inoculada)}} (\text{longitud de la sección inoculada})$$

$$z_{inoculo} = 10\text{cm} - \frac{0.2\text{cm}^3}{1.47\text{cm}^3} (2\text{cm})$$

$$z_{inoculo} = 9.728 \text{ cm}$$

La condición inicial está dada por:

$$b(z,0) = 2 \times 10^7 \frac{\text{células}}{\text{mL}} \quad 9.728 \text{ cm} \leq z \leq 10 \text{ cm} \quad (4.2)$$

$$b(z,0) = 0 \frac{\text{células}}{\text{mL}} \quad 0 \text{ cm} \leq z < 9.728 \text{ cm}$$

Condiciones de frontera:

$$\frac{\partial b}{\partial z}(L,t) = 0 \quad (4.3)$$

$$\frac{\partial b}{\partial z}(0,t) = 0 \quad (4.4)$$

Esquema en diferencias finitas:

$$\frac{\partial b_n}{\partial t} = \mu_{ef} \left(\frac{b_{n-1} - 2b_n + b_{n+1}}{\Delta z^2} \right) \quad (4.5)$$

La ecuación (3.2) se aproxima con diferencias finitas centrales respecto al espacio ya que esta aproximación es de segundo orden. En un esquema con $n=N$ (N intervalos iguales en el espacio), las condiciones de frontera se aplican como sigue:



$$\frac{\partial b_{N+1}}{\partial z} = \left(\frac{b_{N-1} - 4b_N + 3b_{N+1}}{\Delta z} \right) \quad (4.6)$$

(diferencia finita hacia atrás de segundo orden)

Combinando (4.3) y (4.6):

$$b_{N+1} = \left(\frac{4b_N - b_{N-1}}{3} \right) \quad (4.7)$$

Para la segunda condición de frontera se utilizan diferencias hacia delante de segundo orden:

$$\frac{\partial b_1}{\partial z} = \left(\frac{-3b_1 + 4b_2 - b_3}{\Delta z} \right) \quad (4.8)$$

Combinando (4.4) con (4.8):

$$b_1 = \left(\frac{4b_2 - b_3}{3} \right) \quad (4.9)$$

Para la solución de la ecuación (3.2) se utilizó $N=100$ ($\Delta z=0.1$ cm) por lo que la condición inicial del sistema en diferencias finitas es:

$$b_n(0) = 2 \times 10^7 \frac{\text{células}}{\text{mL}} \quad \text{Para } n=98,99,100,101 \quad (4.10)$$

$$b_n(0) = 0 \frac{\text{células}}{\text{mL}} \quad \text{Para } n=1,\dots,97$$

Para estimar el valor del coeficiente efectivo de movilidad aleatoria, μ_{ef} , se propone la siguiente función como medida del error entre el perfil promedio experimental y el perfil promedio calculado a partir del sistema dado por las ecuaciones (4.5), (4.7), (4.9) y (4.10):

$$E(\mu_{ef}) = \sqrt{\sum_{i=1}^{i=n} \left(\frac{b_{i,\text{exp}} - b_{i,\text{cal}}}{b_{i,\text{exp}}} \right)^2} \quad (4.11)$$

donde $b_{i,\text{exp}}$ son las concentraciones promedio experimentales a un tiempo de 6 horas reportadas por Sharma (17) y $b_{i,\text{cal}}$ son las concentraciones promedio calculadas con el modelo descrito anteriormente. Se trabaja con concentraciones promedio debido a que los datos reportados por Sharma (17) se obtienen a partir del análisis de una sección completa de la columna, los datos experimentales de concentración de bacterias y nutriente en función de la posición en la columna no son puntuales.

El valor de μ_{ef} se obtiene minimizando la función (4.11). Si en el perfil calculado se presentan concentraciones promedio menores a 300 células /mL, se consideran como nulas ya que este es el límite de detección experimental y no se cuenta con un valor experimental para hacer la comparación. Este procedimiento de cálculo consiste en definir un valor inicial para μ_{ef} , calcular el perfil, determinar las concentraciones promedio y evaluar la función (4.11). Esta función tiene la forma de mínimos cuadrados pero está ponderada respecto a cada valor experimental para evitar el efecto de los órdenes de magnitud.

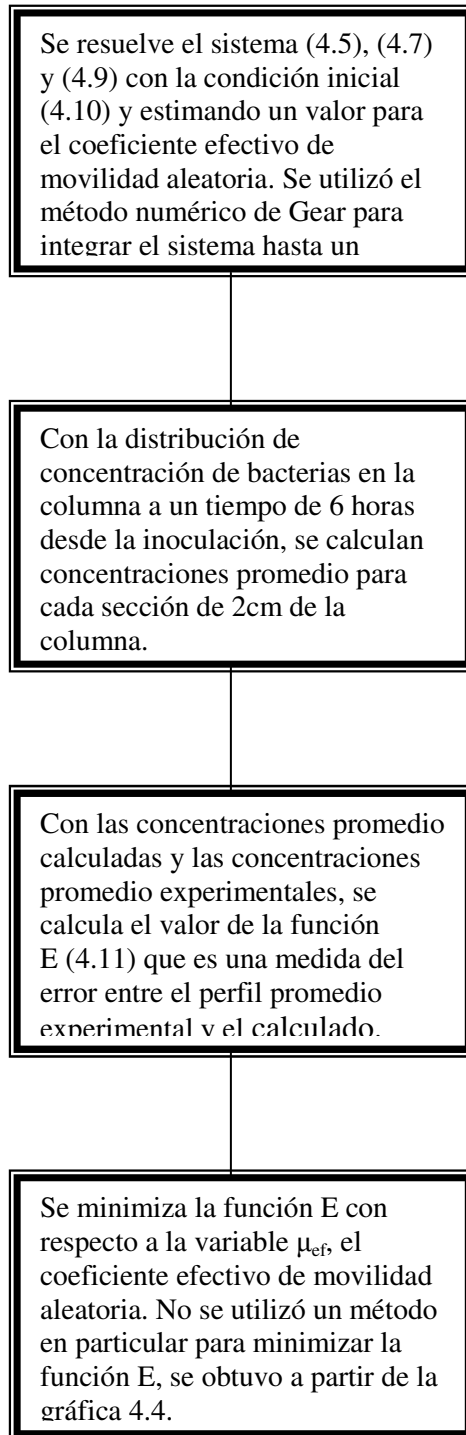


Fig.4.3 Diagrama de flujo para el cálculo del coeficiente efectivo de movilidad aleatoria.

Los cálculos se realizaron con el programa Mathematica donde se integró el sistema (4.5), (4.7), (4.9) y (4.10) con $N=100$ ya que con más intervalos las soluciones se hacen inestables, los resultados se muestran en la figura 4.4. En su artículo Barton y Ford (15) no mencionan cómo utilizaron los datos de Sharma para estimar el valor del coeficiente efectivo de movilidad aleatoria. Del perfil de concentración obtenido se calculan valores promedio para cada sección de 2 cm y se trazan en los puntos medios de cada intervalo para comparar con los valores experimentales reportados por Sharma.

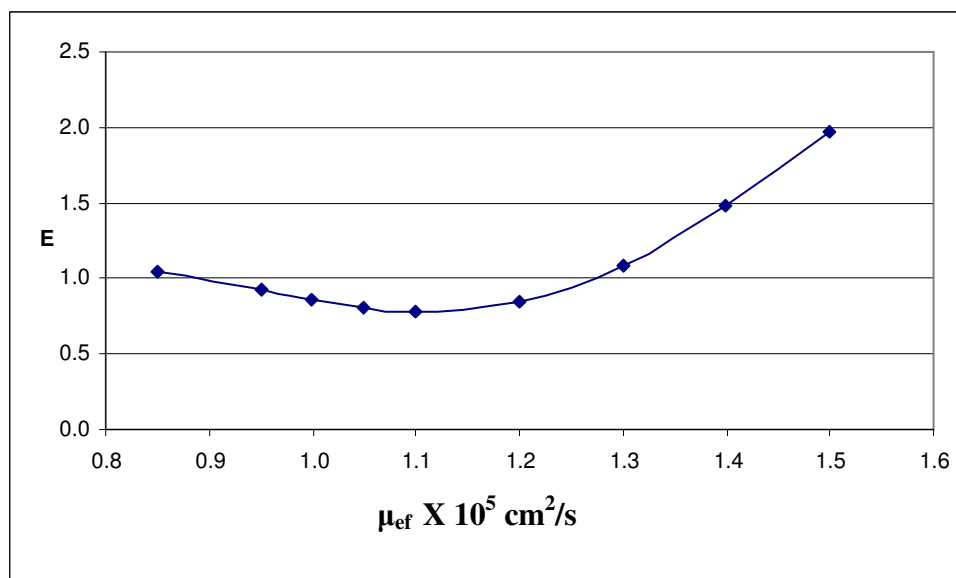


Fig.4.4 Gráfica de error en función del coeficiente efectivo de movilidad aleatoria para un tiempo de 6 horas.

El valor mínimo para E se obtiene con $\mu_{ef} = 1.11 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ aproximadamente. El valor reportado por Barton y Ford es de $\mu_{ef} = 1.05 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ y por lo tanto se compara bien con el valor obtenido con el método utilizado en este trabajo. Para propósitos de comparación, se han reportado valores experimentales que van de 4.7×10^{-6} hasta $1.5 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ para otras cepas de E. Coli (15). El perfil de concentración de bacterias generado con este coeficiente se utiliza como condición inicial para resolver el sistema difusivo-reactivo mientras que la condición inicial para el quimioattractor (D-Galactosa) se presenta como una concentración homogénea a lo largo de toda la columna.

El perfil promedio de concentración hasta el tiempo de retraso de crecimiento (6 horas) se muestra en la figura 4.5 y se compara con el perfil experimental. Se observa que la mayor diferencia se presenta en la sección distal de la columna (extremo de inoculación) donde se predice una concentración más baja que la experimental. Si las hipótesis del modelo se cumplen, entonces la masa total inicial de bacterias se debe conservar hasta un tiempo de 6 horas apartir de la inoculación de la columna, ya que no hay crecimiento de acuerdo con la figura 4.1. El perfil promedio experimental implica que la masa de bacterias se incrementó durante el tiempo de retraso de crecimiento por lo que las diferencias entre el modelo y los datos podrían deberse al error experimental.

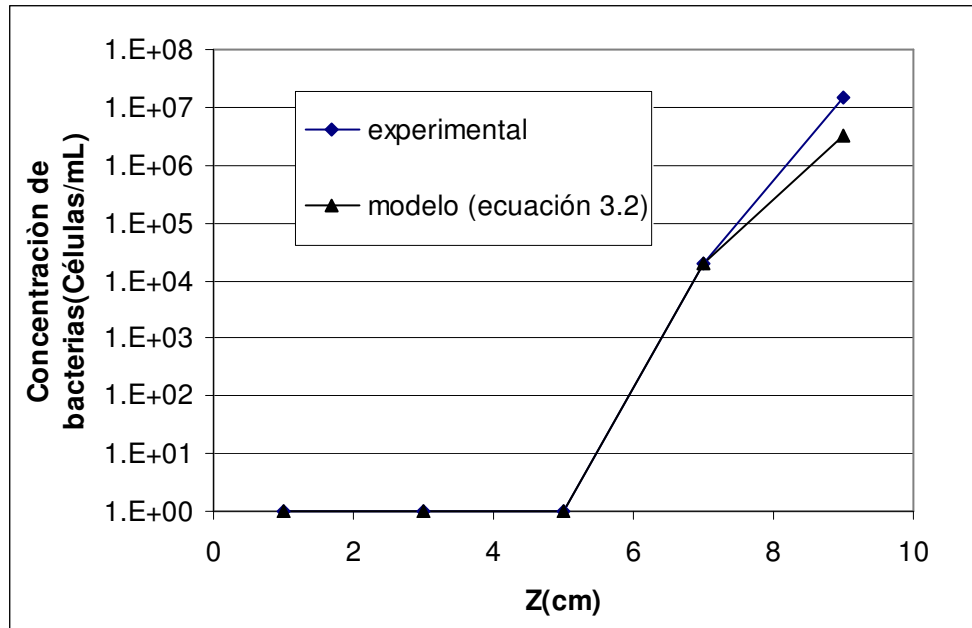


Fig 4.5 Perfil promedio de bacterias con $\mu_{ef} = 1.11 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ a $t = 6$ horas (tiempo de retraso de crecimiento) y perfil experimental.

Esquema en diferencias finitas para el problema reactivo difusivo:

$$\frac{\partial a}{\partial t} = D_{ef} \frac{\partial^2 a}{\partial z^2} - \left[\frac{k_{\max} a}{Y(K_s + a)} \right] b \quad (2.14)$$

$$\frac{\partial b}{\partial t} = \mu_{ef} \frac{\partial^2 b}{\partial z^2} - \frac{\partial}{\partial z} \left[\chi_{0,ef} \frac{K_d b}{(K_d + a)^2} \frac{\partial a}{\partial z} \right] + \frac{k_{\max} a b}{K_s + a} \quad (2.15)$$

Condiciones de frontera:

$$\frac{\partial a}{\partial z}(L,t) = 0 \quad (4.12)$$

$$\frac{\partial a}{\partial z}(0,t) = 0 \quad (4.13)$$

$$\frac{\partial b}{\partial z}(L,t) = 0 \quad (4.14)$$

$$\frac{\partial b}{\partial z}(0,t) = 0 \quad (4.15)$$

Condiciones iniciales:

$$a(z,0) = 21 \text{ mM} \quad (4.16)$$

$$b(z,0) = f(z) \quad (4.17)$$

Donde $f(z)$ es el perfil generado a partir de la ecuación (3.2) (ver figura 4.4). Desarrollando el término quimiotáctico en (2.15) se tiene:

$$\frac{\partial}{\partial z} \left[\chi_{0,ef} \frac{K_d b}{(K_d + a)^2} \frac{\partial a}{\partial z} \right] \quad (4.18)$$

$$\chi_{0,ef} K_d \frac{\partial}{\partial z} \left[\frac{b}{(K_d + a)^2} \frac{\partial a}{\partial z} \right] \quad (4.19)$$

$$\chi_{0,ef} K_d \left[\frac{\partial^2 a}{\partial z^2} \frac{b}{(K_d + a)^2} + \frac{\partial a}{\partial z} \frac{\partial}{\partial z} \frac{b}{(K_d + a)^2} \right] \quad (4.20)$$

$$\chi_{0,ef} K_d \left[\frac{\partial^2 a}{\partial z^2} \frac{b}{(K_d + a)^2} + \frac{\partial a}{\partial z} \left[\frac{\partial b}{\partial z} \frac{1}{(K_d + a)^2} - \frac{2b}{(K_d + a)^3} \frac{\partial a}{\partial z} \right] \right] \quad (4.21)$$

$$\chi_{0,ef} K_d \left[\frac{\partial^2 a}{\partial z^2} \frac{b}{(K_d + a)^2} + \frac{\partial a}{\partial z} \frac{\partial b}{\partial z} \frac{1}{(K_d + a)^2} - \frac{2b}{(K_d + a)^3} \left(\frac{\partial a}{\partial z} \right)^2 \right] \quad (4.22)$$

$$\frac{\chi_{0,ef} K_d}{(K_d + a)^2} \left[b \frac{\partial^2 a}{\partial z^2} + \frac{\partial a}{\partial z} \frac{\partial b}{\partial z} - \frac{2b}{(K_d + a)} \left(\frac{\partial a}{\partial z} \right)^2 \right] \quad (4.23)$$

Sustituyendo (4.23) en (2.15) se obtiene:

$$\frac{\partial b}{\partial t} = \mu_{ef} \frac{\partial^2 b}{\partial z^2} + \frac{\chi_{0,ef} K_d}{(K_d + a)^2} \left[\frac{2b}{(K_d + a)} \left(\frac{\partial a}{\partial z} \right)^2 - \frac{\partial a}{\partial z} \frac{\partial b}{\partial z} - b \frac{\partial^2 a}{\partial z^2} \right] + \frac{k_{\max} ab}{K_s + a} \quad (4.24)$$

Esquema en diferencias finitas:

$$\frac{\partial a_n}{\partial t} = D_{ef} \left(\frac{a_{n-1} - 2a_n + a_{n+1}}{\Delta z^2} \right) - \left[\frac{k_{\max} a_n}{Y(K_s + a_n)} \right] b_n \quad (4.25)$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial b_n}{\partial t} = \mu_{ef} \left(\frac{b_{n-1} - 2b_n + b_{n+1}}{\Delta z^2} \right) + \frac{\chi_{0,ef} K_d}{(K_d + a_n)} \left[\frac{2b_n}{(K_d + a_n)} \left(\frac{a_{n+1} - a_{n-1}}{2\Delta z} \right)^2 - \left(\frac{a_{n+1} - a_{n-1}}{2\Delta z} \right) \left(\frac{b_{n+1} - b_{n-1}}{2\Delta z} \right) - b_n \left(\frac{a_{n-1} - 2a_n + a_{n+1}}{\Delta z^2} \right) \right] \\ + \\ \left[\frac{k_{\max} a_n}{(K_s + a_n)} \right] b_n \quad (4.26) \end{aligned}$$

Condiciones de frontera:

$$\frac{\partial a_{N+1}}{\partial z} = \left(\frac{a_{N-1} - 4a_N + 3a_{N+1}}{\Delta z} \right) = 0 \quad (4.27)$$

$$\frac{\partial a_1}{\partial z} = \left(\frac{-3a_1 + 4a_2 - a_3}{\Delta z} \right) = 0 \quad (4.28)$$

$$\frac{\partial b_{N+1}}{\partial z} = \left(\frac{b_{N-1} - 4b_N + 3b_{N+1}}{\Delta z} \right) = 0 \quad (4.29)$$

$$\frac{\partial b_1}{\partial z} = \left(\frac{-3b_1 + 4b_2 - b_3}{\Delta z} \right) = 0 \quad (4.30)$$

Condición inicial:

$$a_n(0) = 21 \text{ mM} \quad (4.31)$$

$$b_n(0) = f((1-n)\Delta z) \quad (4.32)$$

El sistema dado por (4.25-4.32) se integró en el programa Mathematica hasta un tiempo de 9 horas correspondiente a un tiempo experimental de 15 horas (6 horas de tiempo de retraso de crecimiento + 9 horas de crecimiento bacteriano). La información experimental es insuficiente para estimar en forma independiente el valor del coeficiente efectivo de sensibilidad quimiotáctica ($\chi_{0,ef}$) por lo que se utiliza la relación $\chi_{0,ef} = 8\mu_{ef}$ que ha sido reportada para otras cepas de E. Coli en medio acuoso (17).

Resultados:

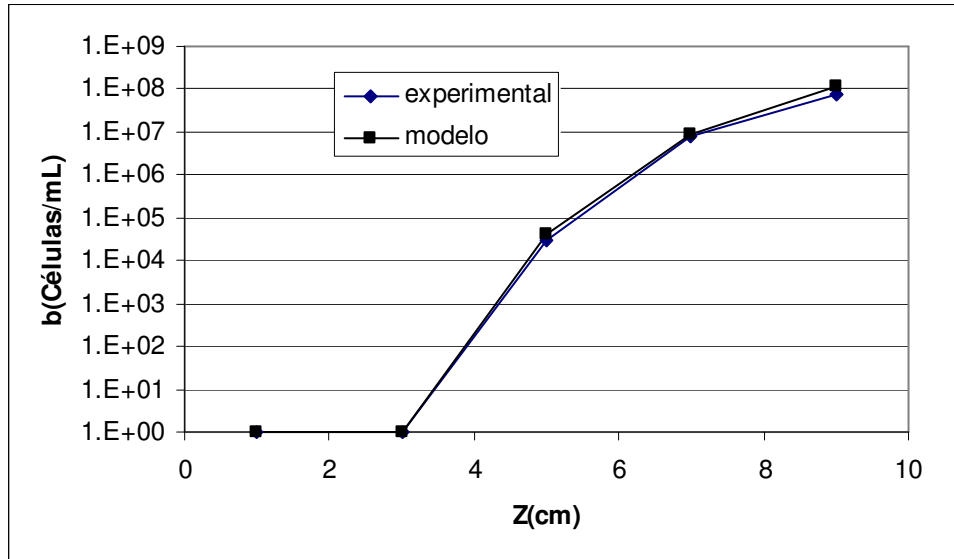


Fig 4.6 Perfil promedio de concentración de bacterias con $\mu_{ef} = 1.11 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ y $\chi_{0,ef} = 8 \mu_{ef}$ a $t = 15$ horas, y perfil promedio experimental.

En la gráfica anterior se comparan el perfil experimental y el generado mediante el modelo a un tiempo de 15 horas. Para tiempos del orden de 25 horas la solución del modelo se hace inestable debido al incremento del término de crecimiento bacteriano y por lo tanto las curvas experimentales y del modelo a tiempos mayores no se incluyen. Esta deficiencia del modelo podría deberse a que no se considera un término que describa la muerte de bacterias.

Para tiempos cortos del orden de 15 horas el gradiente de quimioattractor es casi nulo según se observa en la figura 4.5. La concentración inicial del atractor se reduce en la solución teórica a 21mM que es el valor promedio que se recuperó experimentalmente de las columnas en ausencia de degradación. Para que se manifieste el mecanismo de la quimiotaxis es necesario que se genere un gradiente en la concentración del nutriente y éste se presenta hasta que el nutriente es consumido a partir del extremo de inoculación por las bacterias. En el caso de los experimentos estudiados, las columnas se llenaron con altas concentraciones de nutriente y los gradientes de concentración a tiempos cortos (del orden de hasta 25 horas) son poco significativos por lo que se esperaría que los mecanismos de difusión y reacción controlaran la penetración de bacterias en este tipo de sistemas.

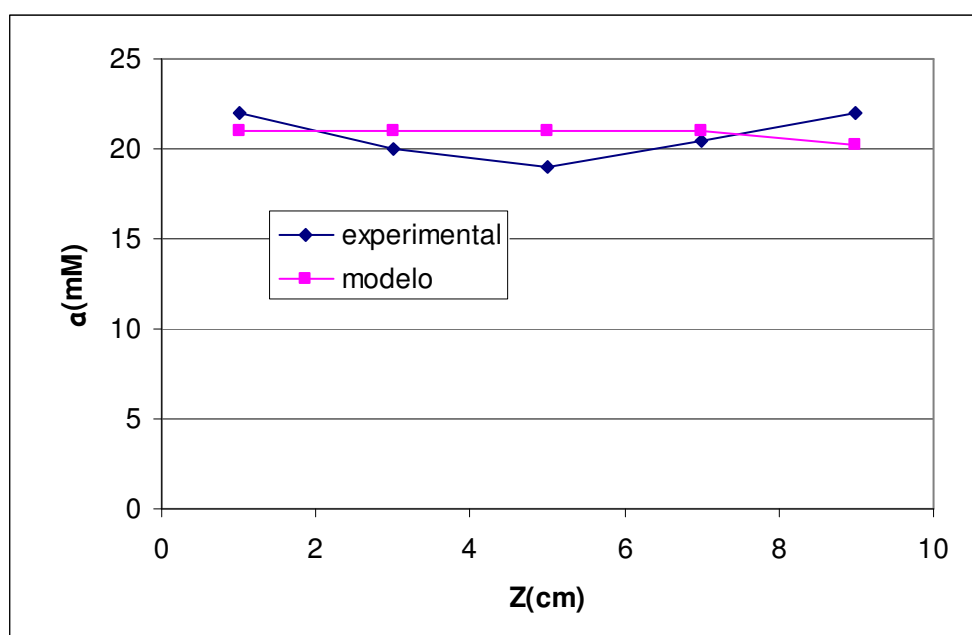


Fig 4.7 Perfil promedio de concentración de quimioattractor (D-Galactosa) con $\mu_{ef} = 1.11 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ y $\chi_{0,ef} = 8 \mu_{ef}$ a $t = 15$ horas, y perfil promedio experimental.

Los resultados obtenidos hasta este punto son la reproducción de parte del trabajo reportado por Barton y Ford (15). Con estos resultados preliminares como base se evaluará el efecto de un relajamiento del flux total de bacterias en los perfiles de concentración para un tiempo máximo de hasta 15 horas, donde el modelo describe bien los resultados experimentales y se analizarán otros casos que lleven a simplificaciones del sistema original propuesto.

4.4.- Flux amortiguado de bacterias.

Para evaluar el efecto de la relajación del flux bacteriano se utiliza la siguiente ecuación constitutiva escalar propuesta:

$$J_b + \tau \frac{\partial J_b}{\partial t} = -\mu_{ef} \frac{\partial b}{\partial z} + \frac{\chi_{0,ef} K_d b}{(K_d + a)^2} \frac{\partial a}{\partial z} \quad (4.33)$$

Derivando (4.33) con respecto a z se tiene :

$$\frac{\partial}{\partial z} (J_b + \tau \frac{\partial J_b}{\partial t}) = \frac{\partial}{\partial z} (-\mu_{ef} \frac{\partial b}{\partial z} + \frac{\chi_{0,ef} K_d b}{(K_d + a)^2} \frac{\partial a}{\partial z}) \quad (4.34)$$

$$\frac{\partial}{\partial z} J_b + \tau \frac{\partial}{\partial z} \frac{\partial J_b}{\partial t} = -\mu_{ef} \frac{\partial^2 b}{\partial z^2} + \frac{\partial}{\partial z} \left(\frac{\chi_{0,ef} K_d b}{(K_d + a)^2} \frac{\partial a}{\partial z} \right) \quad (4.35)$$

$$\frac{\partial}{\partial z} J_b + \tau \frac{\partial}{\partial t} \frac{\partial J_b}{\partial z} = -\mu_{ef} \frac{\partial^2 b}{\partial z^2} + \frac{\partial}{\partial z} \left(\frac{\chi_{0,ef} K_d b}{(K_d + a)^2} \frac{\partial a}{\partial z} \right) \quad (4.36)$$

Del balance de materia para b (2.4) se tiene:

$$\frac{\partial}{\partial z} J_b = -\frac{\partial b}{\partial t} + R_b \quad (4.37)$$

Sustituyendo (4.37) en (4.36) :

$$-\frac{\partial b}{\partial t} + R_b + \tau \frac{\partial}{\partial t} \left(-\frac{\partial b}{\partial t} + R_b \right) = -\mu_{ef} \frac{\partial^2 b}{\partial z^2} + \frac{\partial}{\partial z} \left(\frac{\chi_{0,ef} K_d b}{(K_d + a)^2} \frac{\partial a}{\partial z} \right) \quad (4.38)$$

Reordenando:

$$\frac{\partial b}{\partial t} + \tau \frac{\partial^2 b}{\partial t^2} = \mu_{ef} \frac{\partial^2 b}{\partial z^2} - \frac{\partial}{\partial z} \left(\frac{\chi_{0,ef} K_d b}{(K_d + a)^2} \frac{\partial a}{\partial z} \right) + R_b + \tau \frac{\partial R_b}{\partial t} \quad (4.39)$$

La ecuación (4.39) representa el balance de materia para las bacterias considerando que el flux total está amortiguado. En ausencia de crecimiento y quimiotaxis la expresión (4.39) se reduce a:

$$\frac{\partial b}{\partial t} + \tau \frac{\partial^2 b}{\partial t^2} = \mu_{ef} \frac{\partial^2 b}{\partial z^2} \quad (4.40)$$

La solución del sistema se aproxima hasta un tiempo de 15 horas, durante las primeras 6 horas (ausencia de crecimiento y quimiotaxis) el sistema está dado por la ecuación de balance (4.40), las condiciones de frontera (4.14) y (4.15), las condiciones iniciales (4.2) y:

$$\frac{\partial b}{\partial t}(z,0) = 0 \quad (4.41)$$

Posterior al tiempo de 6 horas, el sistema está dado por las ecuaciones de balance (2.14) y (4.39), las condiciones de frontera (4.12) a (4.15), las condiciones iniciales (4.16) y:

$$b(z,0) = f(z) \quad (4.42)$$

$$\frac{\partial b}{\partial t}(z,0) = g(z) \quad (4.43)$$

donde $f(z)$ y $g(z)$ son funciones generadas a partir de la solución del modelo a un tiempo de 6 horas. Se utilizan diferencias finitas centrales de segundo orden para aproximar las derivadas con respecto a z y el sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias resultante se integró en el programa Mathematica con $\Delta z = 0.1$ cm.

En la figura 4.8 se muestra el efecto del amortiguamiento del flux. Para tiempos característicos del orden de 10^6 segundos se observa un frente de bacterias bien definido.

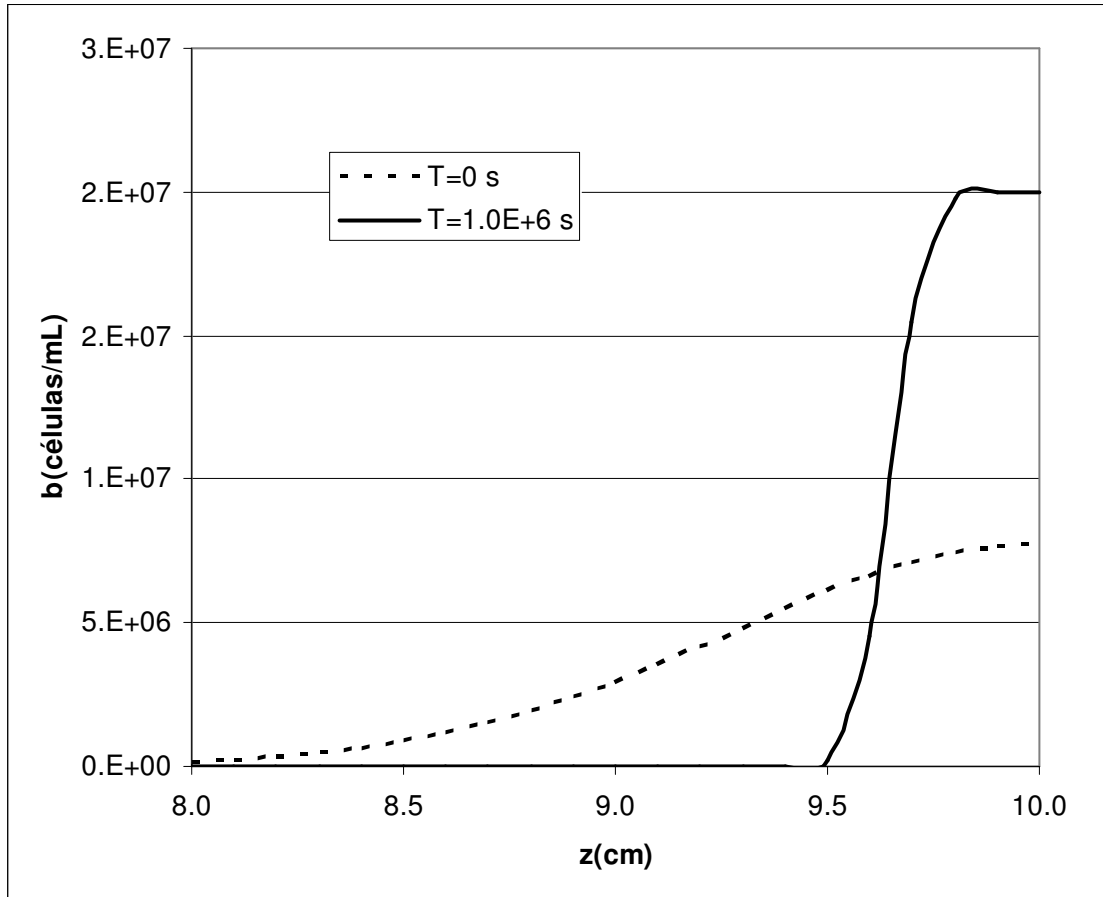


Fig 4.8 Perfiles de concentración de bacterias con $\mu_{ef} = 1.11 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ a $t= 6$ horas para $\tau= 0$ s y 10^6 s.

Resultados:

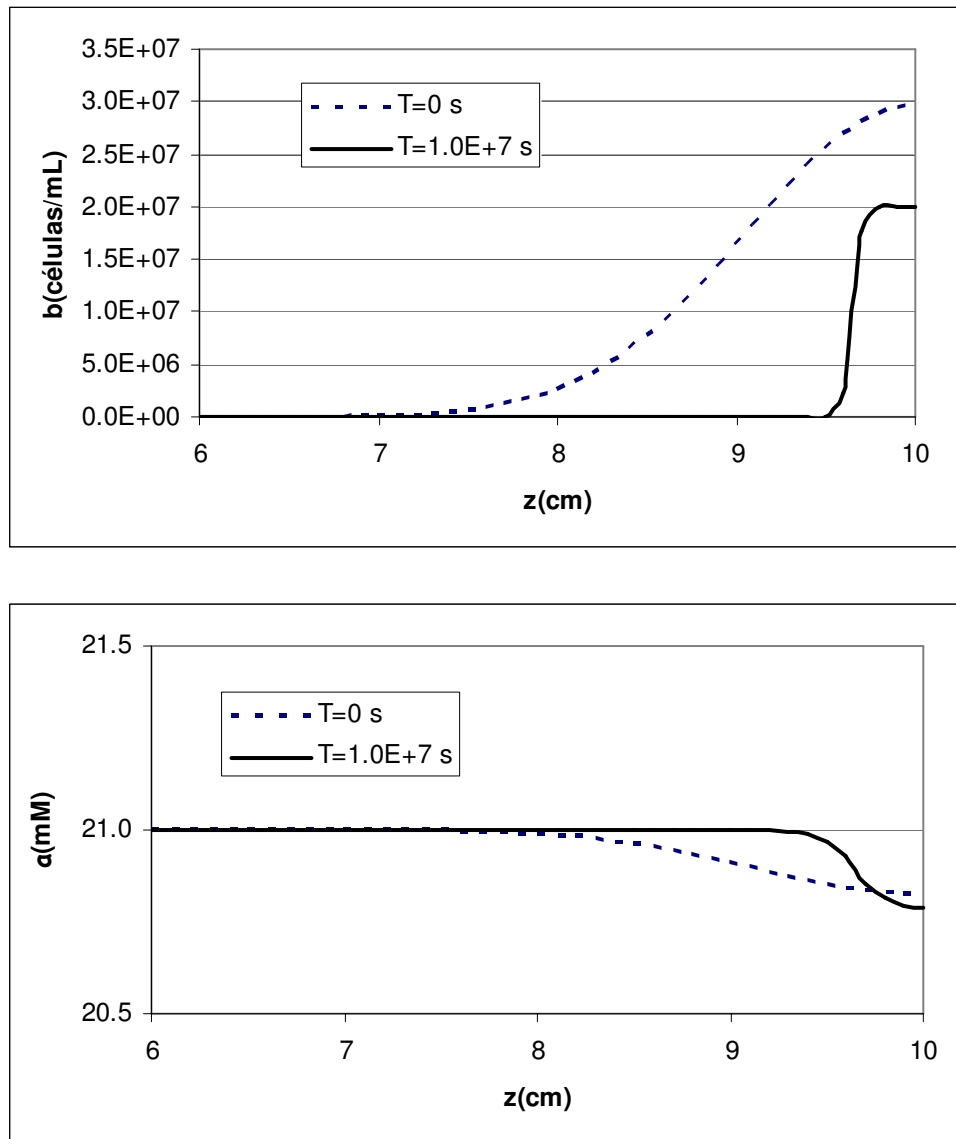


Fig 4.9 Perfiles de concentración de bacterias y quimioattractor con $\mu_{ef} = 1.11 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ a $t = 10$ horas para $\tau = 0$ s y 10^7 s. Para $\tau = 10^6$ s la solución se hace inestable.

Para tiempos de relajamiento τ de hasta 10^3 segundos se obtienen perfiles de concentración del tipo de una ecuación de transporte parabólica, con velocidad de propagación infinita. Existe una zona de transición para valores de τ entre 10^3 y 10^7 segundos donde las soluciones numéricas se hacen inestables y por lo tanto no se incluyen en las gráficas. Para valores de τ iguales o mayores a 10^7 segundos se presentan perfiles de concentración con frentes de avance bien definidos que indican que la velocidad de propagación de bacterias es finita.

Resultados:

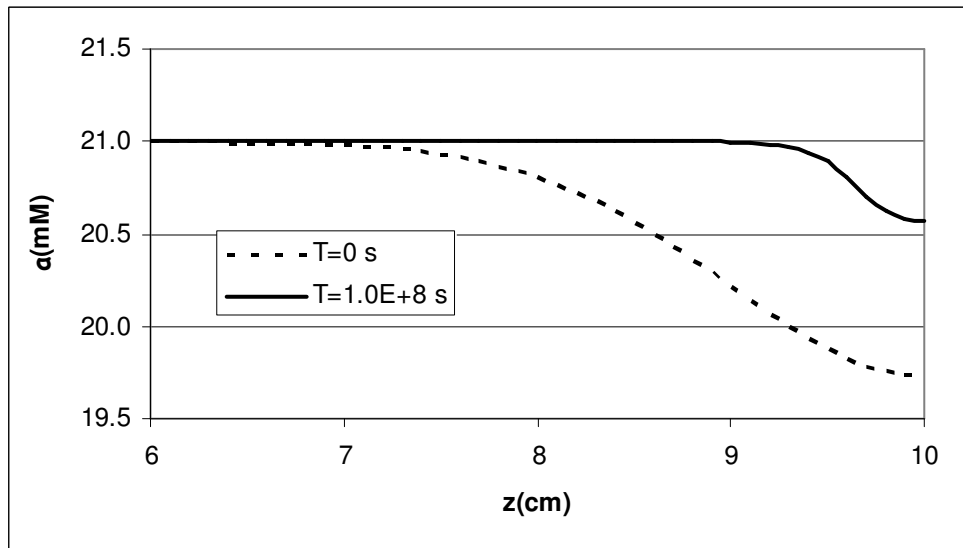
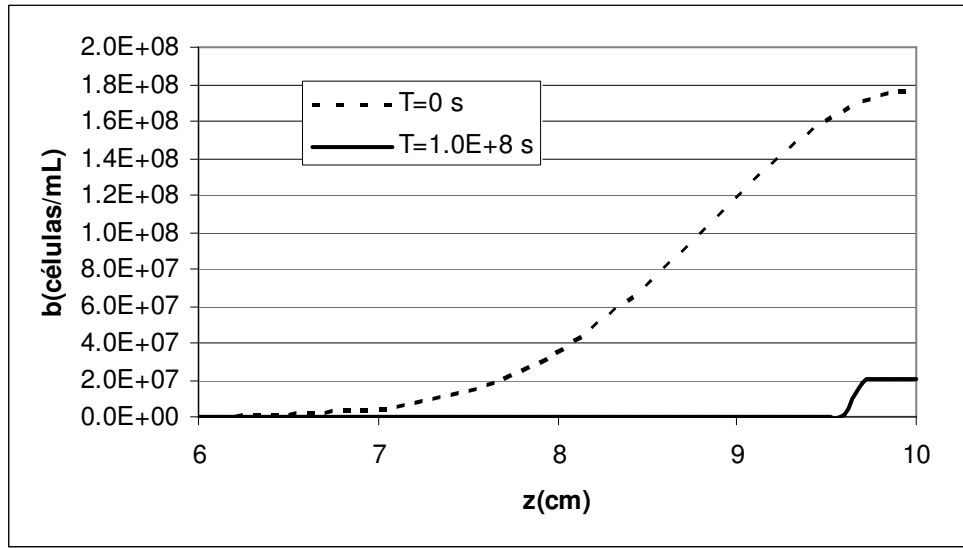


Fig 4.10 Perfiles de concentración de bacterias y quimioattractor con $\mu_{ef} = 1.11 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ a $t = 15$ horas para $\tau = 0$ s y 10^8 s. Para $\tau = 10^6$ s y 10^7 s la solución se hace inestable.

Con el avance del tiempo la zona de transición se incrementa, ahora las soluciones numéricas de los perfiles con $\tau = 10^6$ y 10^7 se hacen inestables y no se incluyen en las gráficas.

4.5.- Ambiente saturado de alimento.

En los resultados anteriores se observa que a tiempos del orden de 15 horas el gradiente de concentración de atractor no es significativo y se podría utilizar la siguiente aproximación en los términos cinético y quimiotáctico:

$$K_s = K_d = 0.03mM \ll a(z,t) \quad (4.44)$$

$$(K_s + a) \approx a \quad (4.45)$$

$$(K_d + a) \approx a \quad (4.46)$$

Sustituyendo (4.45) y (4.46) en (2.14) y (2.15) se obtiene:

$$\frac{\partial a}{\partial t} = D_{ef} \frac{\partial^2 a}{\partial z^2} - \left[\frac{k_{\max}}{Y} \right] b \quad (4.47)$$

$$\frac{\partial b}{\partial t} = \mu_{ef} \frac{\partial^2 b}{\partial z^2} - \frac{\partial}{\partial z} \left[\chi_{0,ef} \frac{K_d b}{a^2} \frac{\partial a}{\partial z} \right] + k_{\max} b \quad (4.48)$$

El sistema (4.47-4.48) representa el caso de un ambiente saturado de alimento para la especie viva en el que la rapidez de crecimiento bacteriano es proporcional a su concentración.

Resultados:

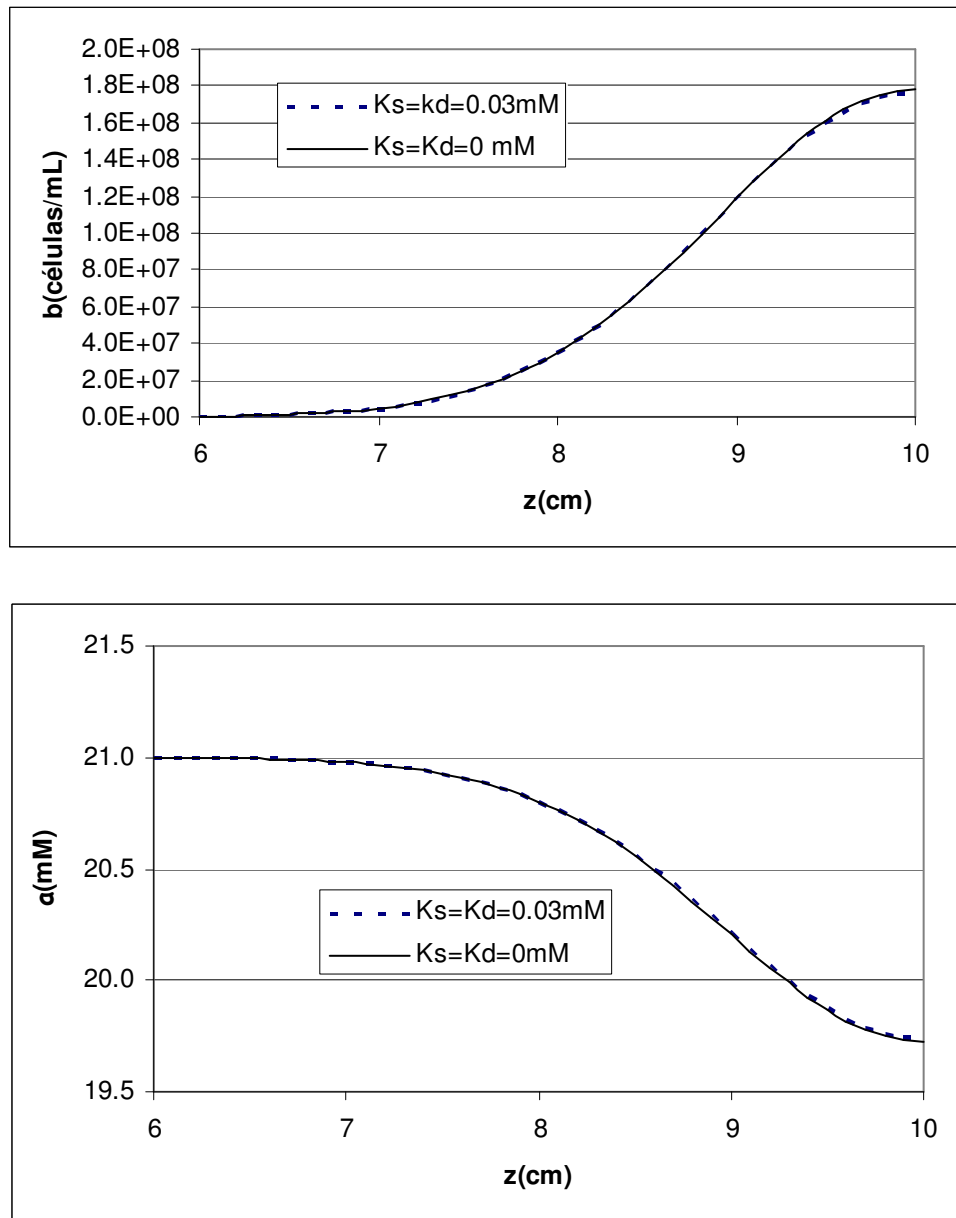


Fig 4.11 Perfiles de concentración de bacterias y quimioattractor con $\mu_{ef} = 1.11 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ a $t = 15$ horas para $K_s=K_d=0.03\text{mM}$ y $K_s=K_d=0\text{mM}$.

La superposición de los perfiles de concentración valida la aproximación del sistema (4.47-4.48) e indica que los mecanismos principales de transporte de bacterias en el medio poroso son la difusión y el crecimiento durante las primeras 15 horas.

4.6.- Muerte de bacterias.

En el sistema dado por las ecuaciones (2.14) y (2.15) no se considera la muerte de bacterias por lo que se introduce un término adicional para tomar en cuenta este efecto (ver sección 1.3):

$$-mb(z,t) \quad (4.49)$$

Sumando el término dado por (4.49) a (2.15) se tiene el siguiente sistema de ecuaciones:

$$\frac{\partial a}{\partial t} = D_{ef} \frac{\partial^2 a}{\partial z^2} - \left[\frac{k_{\max} a}{Y(K_s + a)} \right] b$$

$$\frac{\partial b}{\partial t} = \mu_{ef} \frac{\partial^2 b}{\partial z^2} - \frac{\partial}{\partial z} \left[\chi_{0,ef} \frac{K_d b}{(K_d + a)^2} \frac{\partial a}{\partial z} \right] + \frac{k_{\max} ab}{K_s + a} - mb \quad (4.50)$$

Resultados:

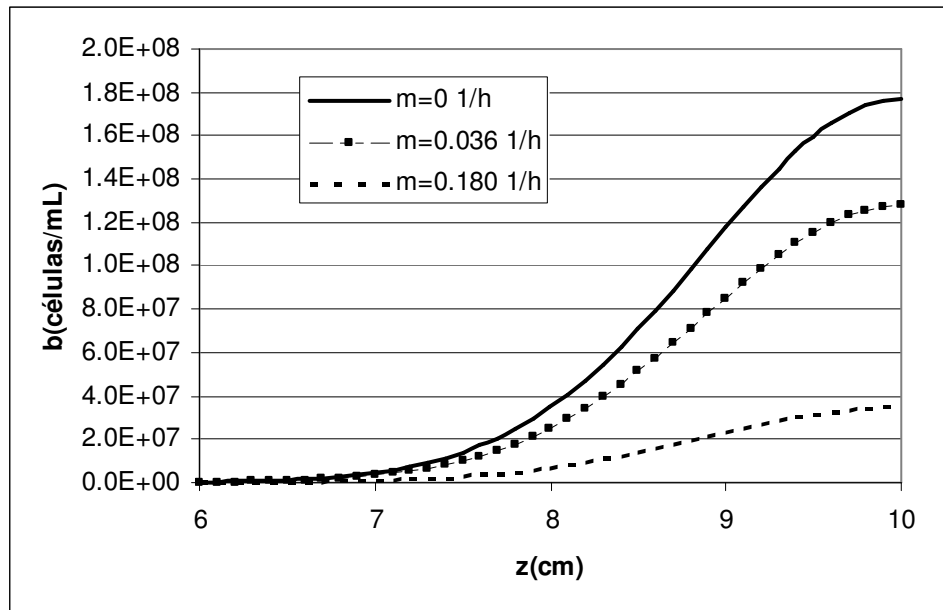


Fig 4.12 Perfil de concentración de bacterias con $\mu_{ef} = 1.11 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ a $t = 15$ horas para $m = 0, 0.036$ y 0.180 h^{-1} .

En la gráfica 4.11 se muestra el efecto del parámetro m . Se observa cómo se puede ajustar el término de crecimiento bacteriano para evitar que las soluciones numéricas sean inestables.

Resultados:

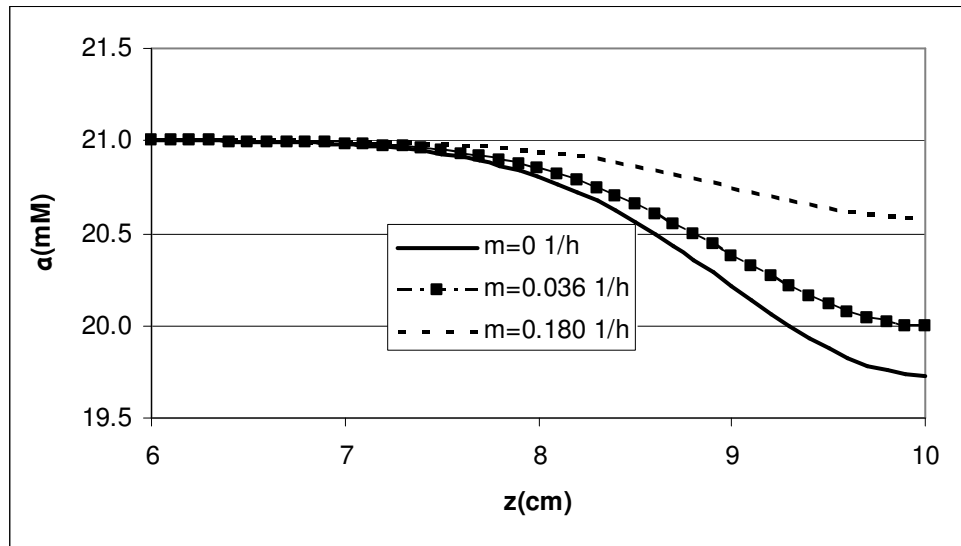


Fig 4.13 Perfil de concentración de quimioattractor con $\mu_{ef} = 1.11 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ a $t = 15$ horas para $m = 0, 0.036$ y 0.180 h^{-1} .

Al incrementar la tasa de muerte de bacterias (parámetro m) el consumo de nutriente disminuye así como el gradiente de concentración que origina la quimiotaxis.

Capítulo 5

Análisis de resultados y conclusiones

5.1.- Sistema de Reynolds et al.

Se planteó un modelo para representar el sistema reportado por Reynolds, se expresó en forma adimensional, se encontró la solución analítica y a partir de esta solución y los datos experimentales de rapidez de penetración se estimaron los coeficientes de movilidad aleatoria efectivos. Se obtuvieron valores de $6.2 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ y $19.3 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ comparados con $3.5 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ y $11 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ calculados por Barton y Ford (ver Cap.3, Tabla 3.3). La solución del sistema depende de la concentración de bacterias al tiempo de penetración (b_p) pero ésta no es reportada en el trabajo de Reynolds por lo que se supone que es la concentración del límite de detección del método experimental. Lo anterior podría ser la causa principal de las diferencias entre los valores calculados.

Se ha observado que las bacterias no se mueven con velocidades infinitas por lo que se estudió el efecto del amortiguamiento de la difusión de bacterias introduciendo la ecuación de Cattaneo. Combinando la ecuación constitutiva modificada para la difusión de bacterias con el balance materia se obtuvo una ecuación hiperbólica con el parámetro τ como el tiempo de relajamiento. La ecuación de difusión amortiguada se expresó en forma adimensional con el parámetro $\Lambda = \mu\tau/L^2$ como el tiempo característico adimensional del sistema. Cuando $\Lambda \rightarrow 0$ en la ecuación (3.51) se recupera el modelo parabólico de la ecuación (3.9) por lo que la velocidad de propagación en el modelo difusivo depende de este parámetro. De esta manera el fenómeno amortiguado tendrá más importancia en sistemas con valores grandes de μ y τ , es decir, en sistemas con coeficientes de difusión y tiempos de relajación grandes. Por otra parte influye también la dimensión del sistema, para sistemas con dimensiones pequeñas el amortiguamiento es más importante.

Los experimentos de Reynolds no se realizaron con el objetivo de verificar algún modelo en particular por lo que la información experimental es insuficiente para estimar un valor del tiempo de relajamiento del sistema y en consecuencia el parámetro Λ . Las curvas generadas partir de la solución analítica (ecuación (3.83)) muestran un frente de bacterias bien definido que avanza con velocidad finita.

5.2.- Sistema de Sharma et al.

Se calculó un valor de $1.11 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ para el coeficiente de movilidad aleatoria efectivo para la cepa RW262 de E.Coli comparado con el valor de $1.05 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ calculado por Barton y Ford. En este sistema la información experimental también es insuficiente para calcular en forma independiente el coeficiente de sensibilidad quimiotáctica por lo que se utilizó la relación $\chi_0 = 8\mu$ que ha sido reportada para sistemas acuosos. Los perfiles promedio de bacterias y quimioattractor se comparan bien para un tiempo de 15 horas, a tiempos mayores las soluciones se hacen inestables debido principalmente al término de crecimiento bacteriano por lo que no se incluyen en el análisis.

Se estudia también el efecto del amortiguamiento del flux de bacterias. Durante las primeras 6 horas del experimento, este flux se considera puramente difusivo ya que representa el tiempo de retraso de crecimiento durante el cual no se ha establecido un gradiente de quimioattractor necesario para la quimiotaxis. Se evalúan tiempos de relajamiento de hasta 10^8 segundos lo que equivale, considerando el coeficiente de difusión calculado y la longitud de la columna, a valores de 10 del parámetro Λ . Se encontró que la solución del sistema no es estable para valores de Λ menores a 0.1 y para valores mayores se presentan frentes de bacterias bien definidos. Lo anterior coincide con la solución analítica obtenida en el capítulo 3 (ecuación (3.83)) de la difusión amortiguada que es válida para $\Lambda > 1/\pi^2$ (> 0.101). En el trabajo experimental de Sharma y colaboradores se indica que la población de bacterias se mueve a través del medio poroso como bandas con frentes de concentraciones altas de bacterias (mayores a 10^5 células/mL). Este fenómeno se podría describir mediante un modelo de difusión amortiguada porque predice frentes de avance de bacterias con velocidad finita en lugar de una difusión con velocidad de propagación infinita tipo Fick.

La rapidez de crecimiento específica así como la constante de disociación son del orden de 10^{-2} mM mientras que la concentración media inicial de nutriente es de 21 mM por lo que el sistema está saturado con alimento y durante las primeras 15 horas de difusión el gradiente de quimioattractor es casi nulo. Debido a lo anterior en el sistema de Sharma el mecanismo principal de transporte es difusivo durante las primeras 15 horas; al incrementarse la población de bacterias el nutriente es consumido desde el extremo de inoculación, se genera el gradiente y la quimiotaxis comienza a ser más importante.

Las soluciones a tiempos mayores de 15 horas se hacen inestables debido al término de crecimiento. Se evaluó el efecto de considerar la muerte de bacterias incluyendo el término $-mb$. Este término puede limitar el crecimiento haciendo que las soluciones del sistema sean estables a tiempos más largos de difusión.

5.3.- Conclusiones.

- 1.- Utilizando el modelo de difusión de bacterias en un medio poroso propuesto por Barton y Ford, se obtuvo una expresión para calcular el coeficiente efectivo de movilidad aleatoria a partir de un experimento de difusión unidireccional. Esta expresión requiere como entradas la longitud de la columna y el tiempo de penetración.
- 2.- Se obtuvieron distribuciones de concentración de bacterias con frentes de avance bien definidos al utilizar la ecuación de Cattaneo en la difusión de bacterias. Se obtuvo una solución analítica para este sistema. Este resultado describe cualitativamente mejor las observaciones experimentales (16,17) que la ecuación de difusión de Fick.
- 3.- Se han estimado tiempos de relajación del orden de 10^6 segundos para el sistema de Sharma y de 10^7 segundos para el sistema de Reynolds.
- 3.-El término de muerte de bacterias mejora el modelo de Barton y Ford a tiempos más largos evitando que el término de crecimiento prediga altas concentraciones de bacterias en el extremo de inoculación.

5.4.- Perspectivas del trabajo.

Como trabajo futuro se tiene:

- 1.- La expresión derivada en este trabajo para estimar el valor del coeficiente efectivo de movilidad aleatoria (3.2) se puede utilizar con otros sistemas experimentales reportados que cumplan con las hipótesis.
- 2.- Se pueden probar métodos numéricos más eficientes como los de elemento finito para aproximar las soluciones de las ecuaciones de transporte (2.14) y (2.15).
- 3.- Se pueden incluir modelos generalizados de crecimiento bacteriano.
- 4.- En los sistemas estudiados en este trabajo los gradientes de nutriente son despreciables. Se puede probar el modelo aquí utilizado en sistemas con gradientes de nutriente que determinen a la quimiotaxis como mecanismo principal de transporte de bacterias.
- 5.- La investigación se puede dirigir a la evaluación de coeficientes efectivos de movilidad aleatoria como función de las características del medio poroso.

Referencias

1. Emtiazi, G., Shakarami, H., Nahvi, I., Mirdamadian, S.H., Utilization of petroleum hydrocarbons by *Pseudomonas* sp. and transformed *Escherichia Coli*, *Afr. J. Biotechnol.*,4:172-176,2005
2. Eweis J., S. Ergas, D. Chag y E. Schoroeder. Principios de Biorrecuperación. MacGraw-Hill. España. 1ª Edición en Español. 1999, 327 p.
3. Neidhardt FC. *Escherichia coli* and *Salmonella*: Cellular and Molecular Biology. 2nd edition. ASM Press, Washington, 1999.
4. Grover, J.P., Resource Competition, Population and Community Biology Series 19, Chapman and Hall, New York, 1997.
5. Koch, A.L., Robinson, J.A., Milliken, G.A., Mathematical Modeling in Microbial Ecology, Chapman & Hall, New York 1998.
6. Monod, J., Recherches sur la croissance des cultures bacteriennes. Paris: Herman, 1942. (Esta referencia no se consultó directamente pero debido a su importancia se incluye aquí).
7. Panikov, N.S., Microbial Growth Kinetics, Chapman & Hall, London, 1995.
8. Smith, H.L. and Waltman, P., The Theory of the Chemostat, Cambridge University Press, Cambridge, UK, 1995.
9. Tilman, D., Resource Competition and Community Structure, Princeton University Press, Princeton, 1982.
10. Ritter, L.R., A short course in the modeling of chemotaxis, Texas A & M University, 2004.
11. Compte, A., Metzler, R., The generalized Cattaneo equation for the description of anomalous transport processes, *J. Phys. A: Math. Gen.*, 30:7277-7289, 1997.
12. Sobolev, S.L., Local non-equilibrium transport models, *Physics-Uspekhi*, 40 :1043-1053,1997.
13. Jou, D., Casas-Vázquez, J., Lebon, G., Extended irreversible thermodynamics revisited (1988-98), *Rep. Prog. Phys.*, 62:1035-1142, 1999.

- 14.** DuChateau, P., Zachmann, D., Applied Partial Differential Equations, Dover Publications, 1989.
- 15.** Barton, J.W., Ford, R.M., Mathematical model for characterization of bacterial migration through sand cores, Biotechnol. Bioeng., 53:487-496, 1997.
- 16.** Reynolds, P.J., Sharma, P., Jenneman, G.E., McInerney, M.J., Mechanisms of microbial movement in subsurface materials, Appl. Environ. Microbiol., 55:2280-2286, 1989.
- 17.** Sharma, P.K., McInerney, M.J., Knapp, R.M., In situ growth and activity and modes of penetration of *Echerichia coli* in unconsolidated porous materials, Appl. Environ. Microbiol., 59:3686-3694, 1993.
- 18.** Ferziger, J.H., Numerical Methods for Engineering Application, John Wiley & Sons, 1981.
- 19.** Chung, T.J., Computational Fluid Dynamics, Cambridge University Press, 2002.
- 20.** Tanner, Roger I., Engineering Rheology, Oxford University Press, 2000.
- 21.** White, James L., Principles of Polymer Engineering Rheology, John Wiley & Sons, 1990.
- 22.** Gradshteyn, I.S., Ryzhik, I.M., Table of Integrals, Series, and Products, Fifth Edition, Academic Press, 1994, página 514.