

CODEN: LUTFD2/(TFRT-5298)/1-073/(1983)

REGLERAD PEROXIDMILJÖ I EN MIKROBIELL PROCESS

JONNY OLSSON

INSTITUTIONEN FÖR REGLERTEKNIK
LUNDS TEKNISKA HÖGSKOLA

JUNI 1983

LUND INSTITUTE OF TECHNOLOGY DEPARTMENT OF AUTOMATIC CONTROL Box 725 S 220 07 Lund 7 Sweden		Document name Report	
		Date of issue May 1983	
		Document number CODEN:LUTFD2/(TFRT-5298)/1-073/(1983)	
Author(s) Jonny Olsson		Supervisor Per Hagander, Olle Holst	
		Sponsoring organization	
Title and subtitle Controlled peroxidelevel in a microbial process. (Reglerad peroxidmiljö i en mikrobiell process.)			
Abstract Consumption of oxygen in microbial processes is often rapid and in dense cultures the supply of oxygen might be limiting. Conventional aeration, e.g. agitation, is not possible when using immobilized cells due to the low mechanical stability of the preparations. The acetic acid bacteria <u>Gluconobacter oxydans</u> catalyses the conversion of glycerol to dihydroxyacetone and the decomposition of hydrogen peroxide to oxygen. Oxygen is necessary for the first conversion and consequently hydrogen peroxide might be used as an oxygen source in a process for production of dihydroxyacetone. However, hydrogen peroxide is toxic to microorganisms and thus a controller addition based on measured peroxide-concentration is necessary. A PI-controller and a controller using a Kalman filter are tested on the process. Reaction rate and viability tests gives information about the cell functions. Two different processes have been investigated, one utilizing immobilized cells and one system with membrane reactors.			
Key words Microbial process, Gluconobacter oxydans, Dihydroxyacetone, Hydrogen peroxide, PI-controller, Kalman filer, Immobilized cells.			
Classification system and/or index terms (if any)			
Supplementary bibliographical information			
ISSN and key title			ISBN
Language Swedish	Number of pages 73	Recipient's notes	
Security classification			

DC DOCUMENT DATABLAD RT 3/81

Distribution: The report may be ordered from the Department of Automatic Control or borrowed through the University Library 2, Box 1010, S-221 03 Lund, Sweden, Telex: 33248 lubbis lund.

1. BAKGRUND OCH SAMMANFATTNING

Sammanfattning	s1/1
Bakgrund och tack	s1/2
Syfte	s1/2
Allmän diskussion	s1/2
Implementerade regulatorer	s1/2
Försöksuppställning	s1/3-4
Försök	s1/4
Några viktiga bisyften	s1/4
Framtida möjligheter	s1/4-5
Beteckningar	s1/5

2. MÄTMETODER, MIKROORGANISMER, UTRUSTNING

<u>Mätmetoder</u>	s2/1-4
Syrelektrod	s2/1
Flödeskalorimeter	s2/2-4
Framtida mätmetoder	s2/4
<u>Mikroorganismer</u>	s2/5
<u>Utrustning</u>	s2/6-7
Nivåregulator	s2/6
Membranenhet	s2/6
H ₂ O ₂ -pump	s2/6-7
Datorer	s2/7

3. INLEDANDE FÖRSÖK

<u>3. INLEDANDE FÖRSÖK</u>	s3/1-6
Försök 1	s3/1
Försök 2	s3/1
Försök 3	s3/2-6

4. TEORI OCH SIMULERINGAR MED KALMANFILTER

Modellbygge	s4/1
Reglering	s4/1
Utökad modellbygge för Kalmanfilter	s4/1-3
Simulering	s4/3-7
Förbättrat Kalmanfilter	s4/8
Simulering	s4/8-13
Slutsatser om Kalmanfiltrering	s4/14

5. REGLERING, IMMOBILISERADE CELLER

<u>Försök</u>	s5/1-3
PI-reglering	s5/1-2
Kalmanfiltrering	s5/3
<u>Simulering med PI-reglering</u>	5/4-5

6. REGLERING, FRIA CELLER

<u>Försök, PI-reglering</u>	s6/1-13
Utförande	s6/1
Försöksresultat	s6/1-4
Modell	s6/5-6
Utvärdering	s6/7-13
<u>APPENDIX A</u>	sA/1-19
<u>Reglerprogram</u>	sA/1-18
Användning	sA/1
Beskrivning av gemensamma delar i programmen	sA/1-3
PIPERPER	sA/4-8
KALREG	sA/9-16
<u>Utskriftsprogram</u>	sA/17-18
<u>Pumptest</u>	sA/19
<u>APPENDIX B</u>	
Kemi	sB
<u>APPENDIX C</u>	
Referenser	sC

1. BAKGRUND OCH MÅLSÄTTNING

SAMMANFATTNING

En mikrobiell process kan ofta konsumera syre så snabbt att tillförsel från luften till processen blir besvärlig och kostsam. Samtidigt blir vid konventionell luftningsteknik den mekaniska påfrestningen så stor att immobiliserade celler ej kan användas. Gluconobacter oxydans katalyserar både glycerol- och dihydroxyaceton och väteperoxid → syre reaktionerna. Dvs väteperoxid kan användas som syrekälla för den förstnämnda reaktionen.

Peroxid är skadligt för mikroorganismerna, det är därför nödvändigt med en reglerad peroxidtillförsel baserad på mätning av peroxidkoncentrationen. PI-reglering och en Kalmanfilterreglering har testats på processen. Reaktionshastigheterna och cfu-test ger information om cellernas funktioner. Två processtyper har undersökts nämligen en med fria celler där membranteknik utnyttjats för produktseparation och en där immobiliserade celler använts.

BAKGRUND OCH TACK

Mikroorganismer som omvandlar glycerol och syre till dihydroxyaceton (DHA) är vår process. Syret producerar organismerna själva genom nedbrytning av väteperoxid till syre. Väteperoxid är skadligt för våra celler. Vi vill därför hålla peroxidens koncentration så låg som möjligt utan att hämma cellernas syretillförsel alltför mycket. Problemet är att bestämma lämpliga (H_2O_2), (O_2), (glycerol) och (DHA) så att varje cell producerar så mycket DHA som möjligt utan att utslitna bakterier sänker effektiviteten i fermentorn. Processen är uppbyggd vid Inst för Tekn. Mikrobiologi. Försöksuppställningen kan man betrakta i fig 1.1 och fig 1.2. Olle Holst undersöker här sådana celler. Ulla Dissing från Inst för Tillämpad Biokemi har tillsammans med Olle Holst utfört allt kemiskt och biologiskt arbete. Jan Sjöholm, Inst för Tekn. Mikrobiologi tackas för råd. Till stor hjälp har också Jan-Peter Axelsson vid Inst för Reglerteknik varit och förstås min handledare Per Hagander, Inst för Reglerteknik.

SYFTE

Vi hade två huvud mål, dels att åstadkomma lämplig reglering av processen dels att ta reda på så mycket som möjligt om hur mikroorganismerna fungerar.

ALLMÄN DISKUSION

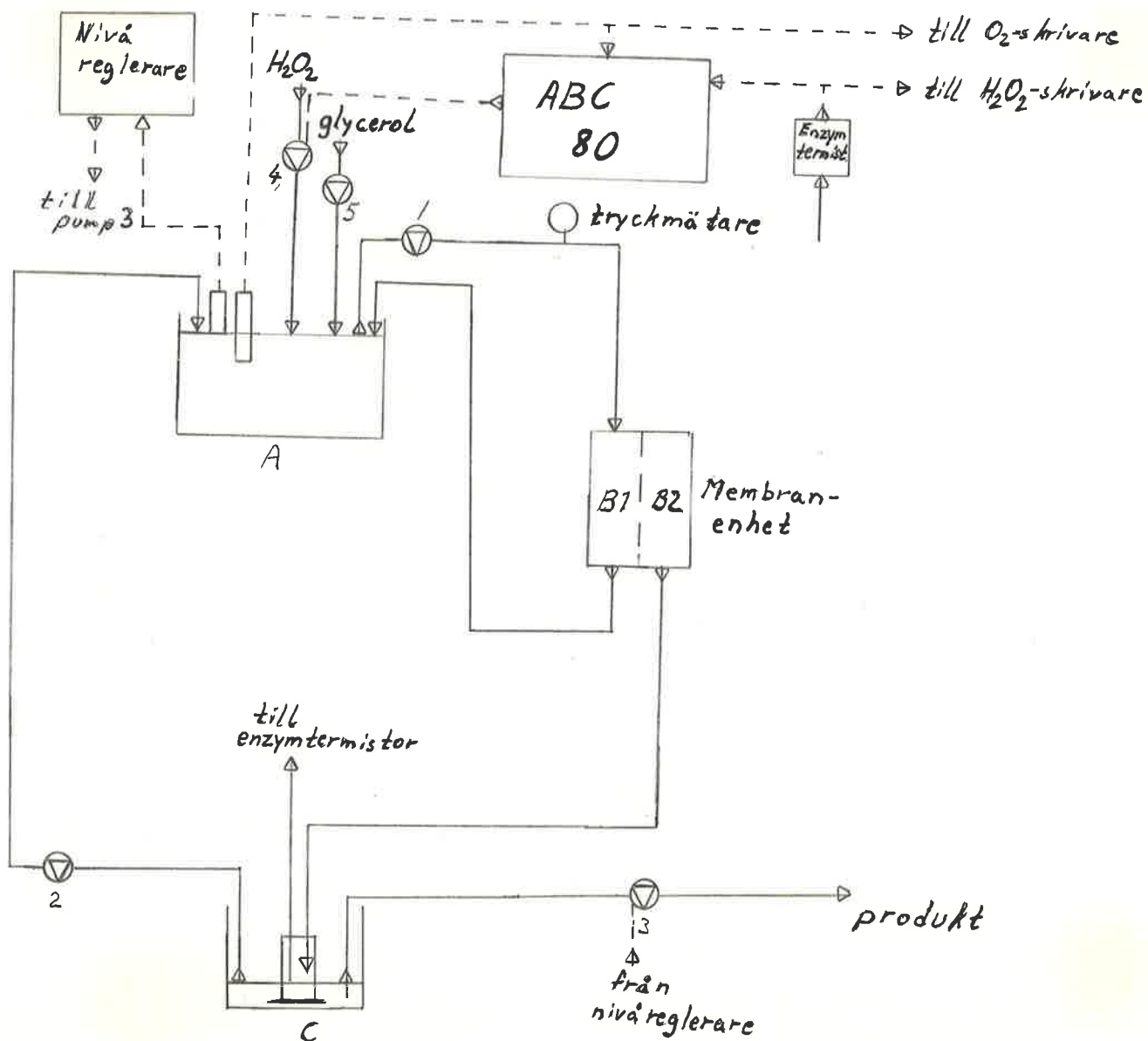
Det är rimligt att skadorna hos mikroorganismerna blir större då de fritt flyter omkring än då de immobiliserats – kontakten med peroxidlösningen blir mer effektiv. Att skillnaden blir avsevärd kan man se om man jämför resultaten från kapitel 5 o.6. (Se speciellt kap 6, Utvärdering)

IMPLEMENTERADE REGULATORER

1. PI-REGLERING med inflöde av konc. H_2O_2 -lsg till processen som styrsignal. Utsignal från processen är (H_2O_2) registrerad av enzymtermistor. Dessutom registreras (O_2). Kallas PIPERPER.
2. KALMANFILTER med samma in- och utsignaler som för PI-regleringen. Kallas KALREG.

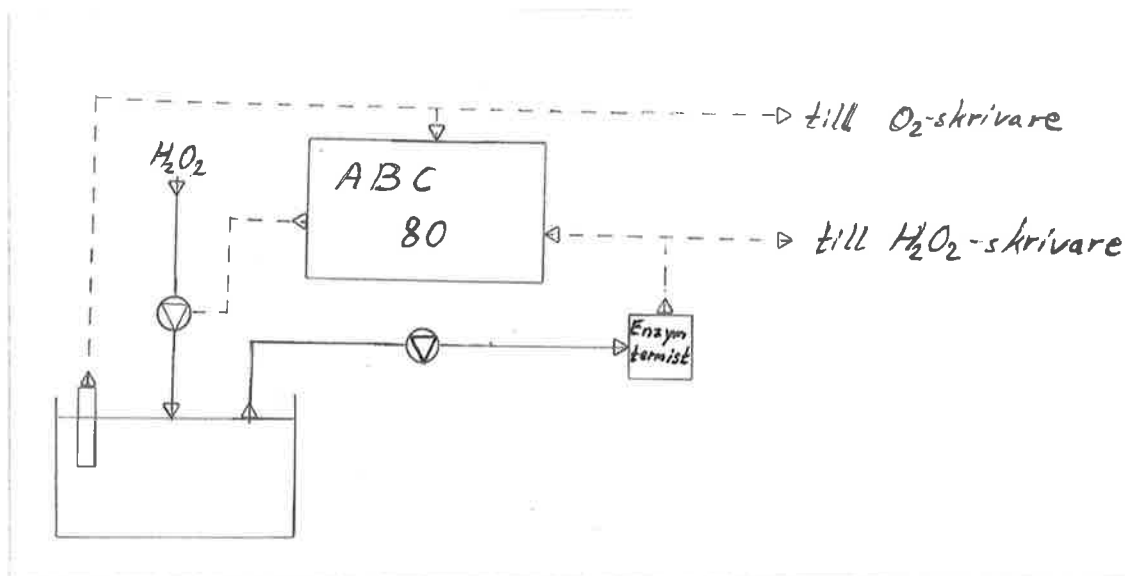
Dessa regulatorer finns som ABC-80 BASIC-program i Appendix A.

Fig 1.1 Försökupställning för fria celler.
Största delen av försöksvolymen finns
i A. Den är ca 1 L.



— Väskeflöde
- - - elektriska signaler

Fig 1.2 Försöksuppställning för immobiliserade celler



FÖRSÖK

Fria
celler

Vi har utfört en del batchförsök (kap 3) men också två försök reglerade av ett av oss implementerat ABC-80 program (kap 6).

Immobiliserade
celler

Två försök som reglerats av två av våra ABC 80-program har utförts. Ett av försöken är dock utfört över ganska kort tidsperiod. Försöken varade 10 timmar resp. 80 minuter. (se kap 5).

Att

NÅGRA VIKTIGA BILSYFTEN

Vi får reda på en del om olika membraners användbarhet i biotekniska tillämpningar (Se Kap 2 Membranenhet). Tack vare membran kan vi köra processen kontinuerligt och man kan då fråga sig om rekonditionering av gamla celler är lönsam (se Utvärdering kap 6).

FRAMTIDA MÖJLIGHETER

Modellbygget bör testas genom simuleringar av gjorda försök. Inte bara (H_2O_2) utan också de övriga aktuella koncentrationerna bör då tas med. Man kan använda KALREG (Appendix A) för att få reda på tidsfördröjningar i cellerna eller deras känslig-

het för snabba (H_2O_2) toppar.

Eftersom syretillförseln är viktig kan man använda syresignalen som utsignal från processen och reglera på denna.

BETECKNINGAR

cfu =colony forming units =mått på det antal celler som kan föröka sig (testas genom odling på agarplattor)

OD =optical density. Vi mäter absorbansen vid 620 nm och får ett ungefärligt mått på cellmassan

TS =torrsubstans (cellerna torkas och vägs sedan)

$X_1 = (H_2O_2)$

$X_2 = (O_2)$

$X_3 = (DHA)$

$X_4 = (glycerol)$

$\dot{} = \frac{d}{dt}$

() =koncentration

2. MÄTMETODER, MIKROORGANISMER, UTRUSTNING

MÄTMETODER

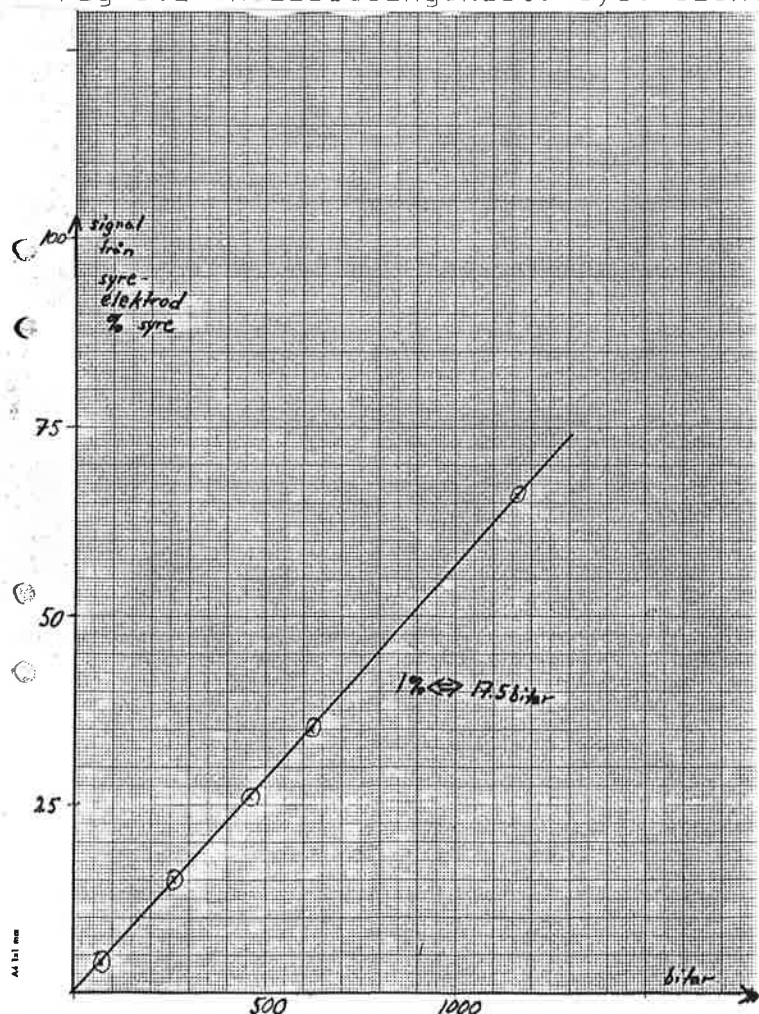
(H_2O_2) mäts med flödeskalorimeter. (O_2) mäts med syre-elektrod. Mätning av glycerol och DHA kan inte ske kontinuerligt, då det ej finns någon lämplig mätmetod. DHA koncentrationen bestämdes istället så att prover togs ut manuellt och blev analyserade spektrofotometriskt.

Vad gäller pH och temp kunde vi genom att utnyttja färdig utrustning bestämma oss för det pH och den temperatur vi önskade. Vi använde pH=5.0 och temp=25 C. Genom att manuellt ta ut prov kan vi också bestämma OD och TS.

Syre-elektrod

Mätningen kan ske kontinuerligt. Signalen tas genom en A/D omvandlare in i ABC-80 (se fig2.1).

Fig 2.1 Kalibreringskurva syre-elektrod.



Flödeskalorimeter

Flödeskalorimetern kommer här i fortsättningen att benämnas enzym-termistor. Detta är något oegentligt, ty vi använder inte ett enzym utan platina-belagt kol. Detta finns i en patron (se fig 2.2.b) där H_2O_2 bryts ned. Funktionen för en enzymtermistor kan studeras i ref 3.

Man måste ha en cellfri lösning in i patronen. Cellerna kommer annars att börja växa där och mätningarna blir då otillförlitliga. Detta var troligen orsaken till problem med mätningar på de immobiliserade cellerna.

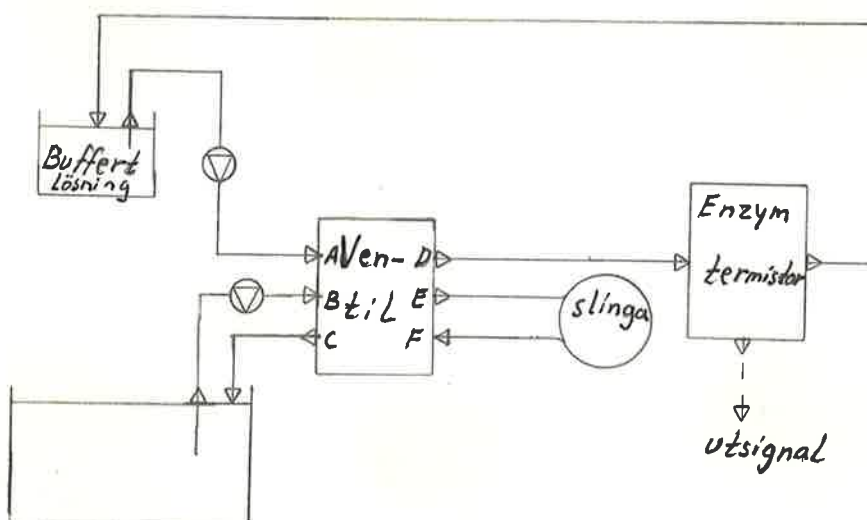


Fig 2.2.a.

Arbetscykel enzym-termistor

Ventilen har 2 lägen. Omkopplingen sköts av en timer.

1. Fyller slingan med provlös. Tid, ca 3 min.
B-E F-C A-D

2. Tömmer slingan in i enzym-termistor. Tid, ca 5 min.
A-E F-D B-C

Slingans volym är 0.27 ml
Flödes hastigheten 0.96 ml/min. Vi får alltså ett mätvärde var 8:e min.

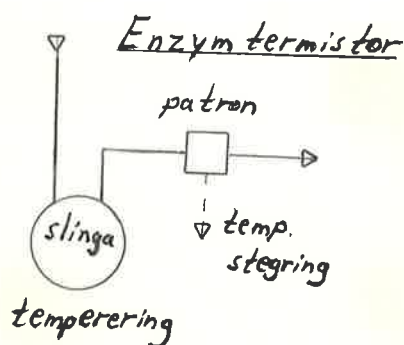


Fig 2.2.b.

Enzym-termistor

Den mätsignal som vi får var 8:e minut är inte den nuvarande (H_2O_2). Transporttiden genom enzym-termistorn är ca 2 min. Under denna tid tempereras lösningen. Dessutom ska lösningen sugas in i slingan genom slangar. Vi låter också datorn vänta i 6 sek (se fig 2.5) för att vara säkra på att vi har en topp.

Total tidsfördröjning=2.74 min.

Fig 2.3
Koppling mellan enzymtermistor och ABC-80

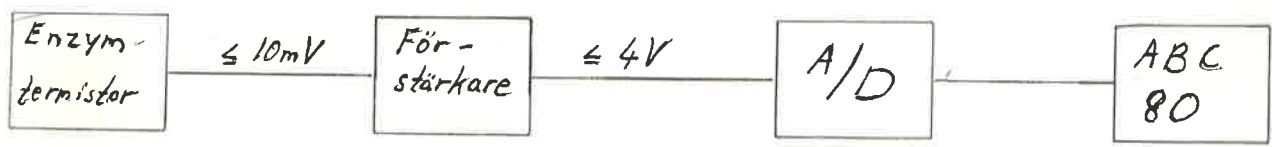


Fig 2.4
Kalibreringskurva in-signal till förstärkare - bitar i ABC-80

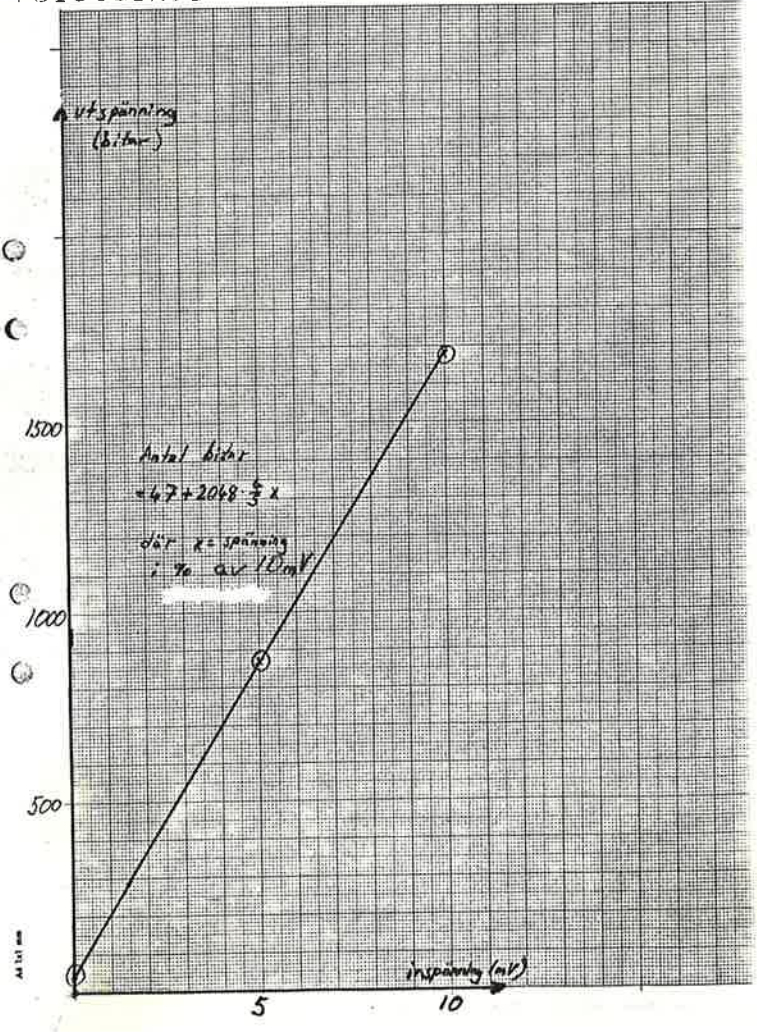


Fig 2.5
Undersökning av en topp. ABC-80:s insignal.

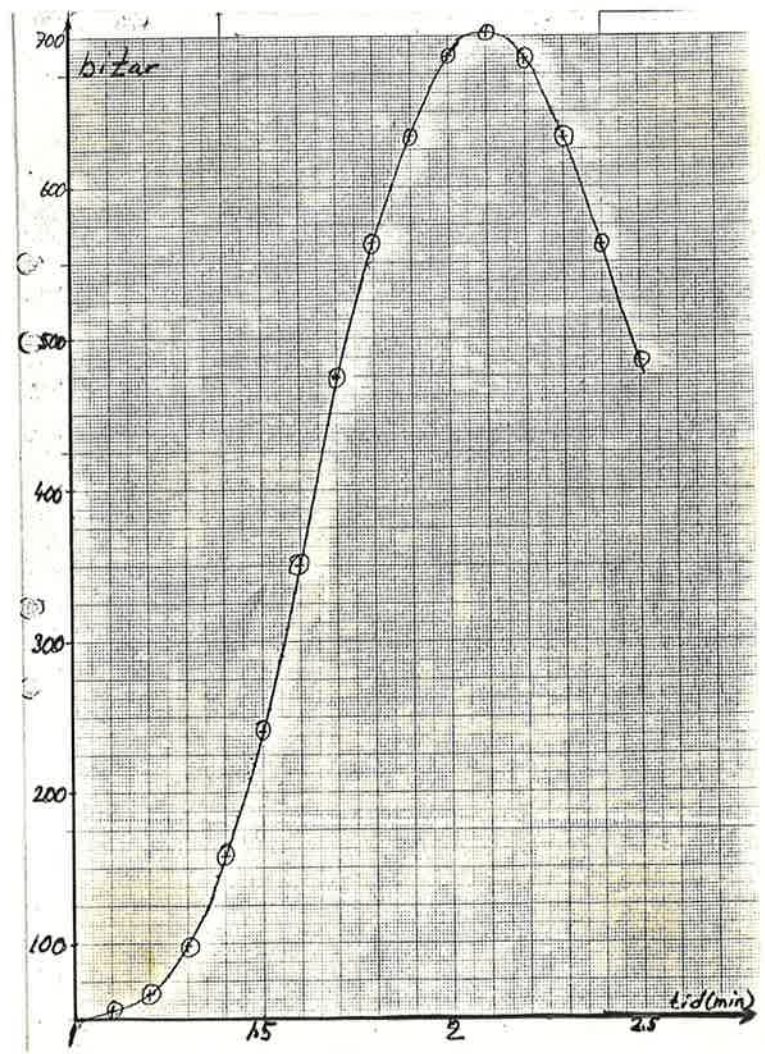
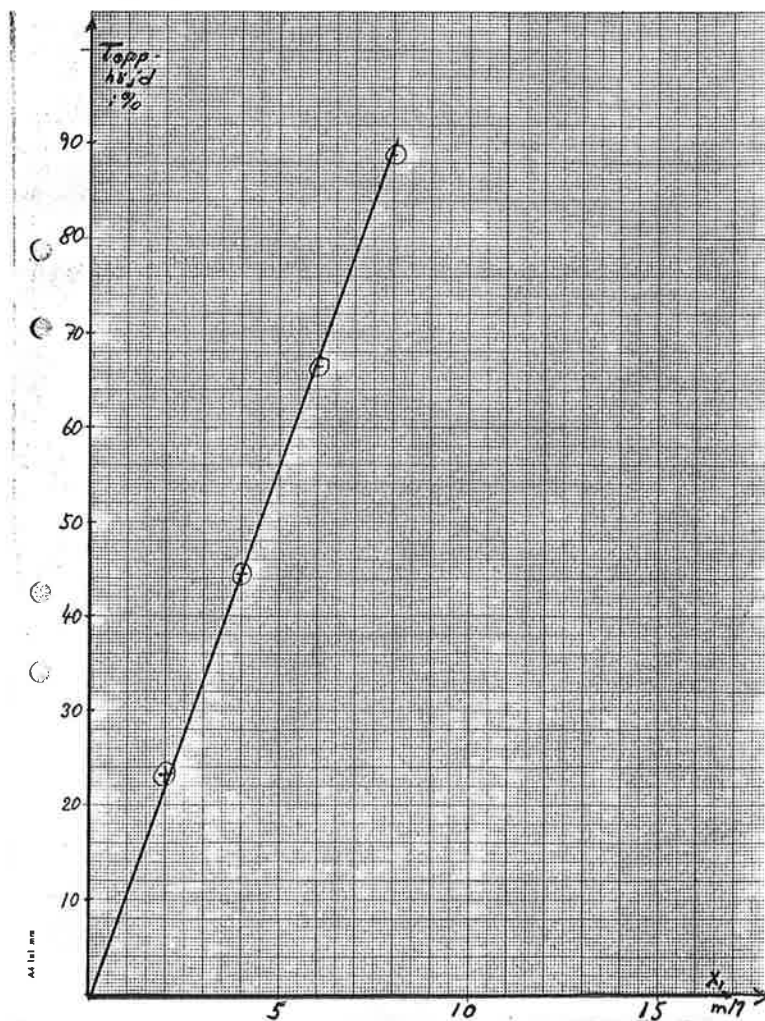


Fig 2.6
Kalibreringsdiagram.
Topp höjd i % av 10mV från enzymtermistor
vs (H_2O_2), vid 20g glycerol/l



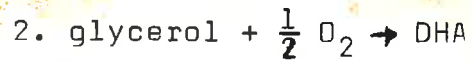
Vi ser att topphöjden är approximativt linjär i (H_2O_2). Dock har vi vid regleringen istället använt oss av mätvärdena direkt och approximerat linjärt mellan dessa (se Appendix A beskrivning av rad 4000). Om man gör ett liknande kalibreringsdiagram för en annan glycerolkoncentration finner man en mindre skillnad. Ökad glycerolkoncentration medför lägre och bredare toppar. Exempel på signalens utseende finns i fig 5.3. och fig 5.6

Framtida mätmetoder

Det är möjligt att mäta OD kontinuerligt ehuru besvärligt. En metod att mäta aktivitetsnivån mha enzymtermistor håller på att utarbetas på Kemacentrum. Den av pH-regleringen tillsatta NaOH kan eventuellt användas för att ge en uppskattning av producerad mängd DHA. En ny och snabbare (H_2O_2)-mätningmetod håller också på att utarbetas.

MIKROORGANISMER

Vi har använt Gluconobacter oxydans*. De har enzymer som katalyserar två i detta sammanhang viktiga reaktioner.



Immobilisering Cellerna hålls kvar inuti mm-stora alginatkulor, se ref 1.

Odling och lagring Cellerna producerades i batchodling, se ref 1. De skördades vid stationär fas. Lagringen skedde som beskrivits i ref 2.

Alder Enl. ref 4 så är DHA-produktionen beroende av cellernas ålder.

Inhibering DHA inhiberar inte vid en koncentration som understiger 15%, se ref 5

Vanliga problem Mutationer kan ge icke önskvärda ändringar av våra celler. Sterilitetsproblem kan ge andra organismer i fermentorn. Vid eventuell rekonditionering av cellerna är båda dessa problem besvärliga.

Syreberoende Enl. BAILEY-OLLIS s 421 ligger kritiska syrevärden för organismerna i området 0.003-0.05 mM, dvs 0.25-4 % löst O_2 .

* American Type Culture Collection stam nr 621

UTRUSTNINGNivåregulator

En elektrod som känner av vätskeytans höjd, ger insignal till en utflödspump.

Membranenhet

Vi använder membran för ultrafiltrering. (dvs använder en tryckskillnad). För att få bra förhållande mellan flöde på cellside och cellfri sida, använde vi strypningar.

Två olika membran användes. Det ena av märke Gambro lundia major high flux benäms i fortsättningen plattmembran. Det andra en Gambro Hollow-fiber, benäms i fortsättningen Hollow-fiber. Plattmembranet ger största flödet på cellsidan, medan Hollow-fiber membranet ger det största flödet på cellfri sida. P.g.a. detta använde vi strypningar på cellside för plattmembranet och på cellfri sida för Hollow-fiber. (se fig 1.1). Plattmembranet hade den otrevliga egenskapen att alla cellerna samlats i den efter några timmars cirkulation. Vi har därför använt Hollow-fiber membran, då detta ej nämnvärt ackumulerar celler.

Data:	Inflöde	Tryck	Utflöde cellside	Utflöde cellfri sida
Plattmembran	500ml/min	200mm Hg	400ml/min	100ml/min
Hollow-fiber	500ml/min	50-150mm Hg		

Utflödet för Hollow-fiber blev inte uppmätt men var ungefär som för plattmembranet.

H₂O₂-pump

Peristaltisk LKB-pump har använts. Tyvärr var endast till-från reglering möjlig. Elektronik för utstyrning av en varierande utsignal fanns ej tillgänglig.

Fig 2.7

Kontinuerligt flöde blir diskontinuerligt



Pumpen kördes i ett antal perioder/samplings intervall. Programmet sköter omvandling enl. fig 2.7. PIPERPER 16 perioder/samplingintervall dvs varje period ca 30s, men i övriga program reglerbart dock rekommenderas högst 60 perioder/8 min.

Datorer

Använd datakraft var av två slag. Hos Tekn.Mikrobiologi fanns en ABC-80 med flexskiveenhet som kunde användas för att reglera processen. För simuleringar kunde reglertekniks VAX och simulerings-språket SIMNON utnyttjas.

3. INLEDANDE FÖRSÖK

Vi startade med att göra några försök utan att använda reglering. Samtliga försök i detta kapitel gäller fria celler.

FÖRSÖK 1

Utförande Celler, glycerol och buffert blandades i en kolv som hölls tempererad och placerades på skakbord.

Resultat Vi konstaterade att vid ett $TS=0.3g/l$ så behöver cellerna mera syre än det som överförs från luften.

FÖRSÖK 2

Syfte Vi vill undersöka H_2O_2 -kinetiken. Vi antar att $\dot{X}_1=f(X_1, X_4)$.

Utförande Vi bestämmer X_1 dels med (A) $X_4=0$ dels med (B) $X_4=100mM$.

I (A) o. (B) blanda vi celler och buffert.

I (B) blanda vi dessutom i glycerol. Vid $t=0$ tillsätter vi $5mM H_2O_2$.

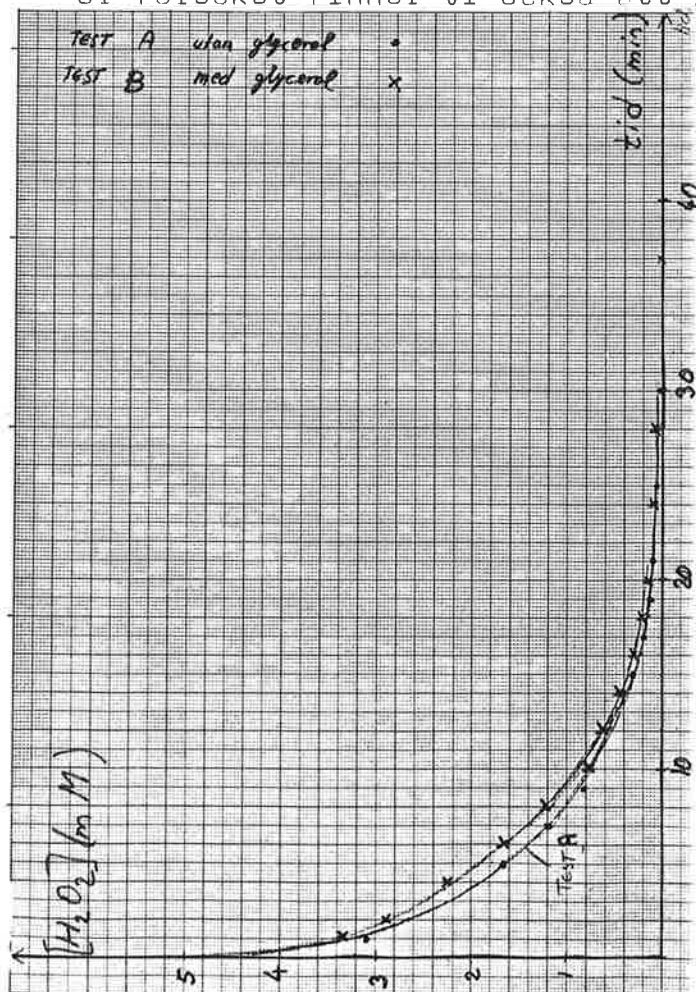
Fig 3.1

H_2O_2 -nedbrytning verkar vara oberoende av glycerol-konc. åtminstone vid dessa korta tidsperioder. (Samma resultat med glycerol som utan glycerol).

$$\dot{X}_1=f(X_1)$$

Ur försöket finner vi också att $X_1 = -\frac{1}{T} X_1$ där

T är konstant.



FÖRSÖK 3

Syfte Vi vill undersöka glycerolkinetiken genom att titta på

$$\dot{X}_3 = f(X_2, X_4)$$

Vi använder H_2O_2 för att tillföra O_2

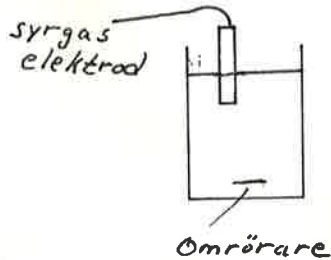


Fig 3.2
Försökupställning

Utförande En blandning med celler och buffert tillförs H_2O_2 vid $t=0$ ($X_1(0)=1mM$). När syret nått sitt max-värde tillförs glycerol.

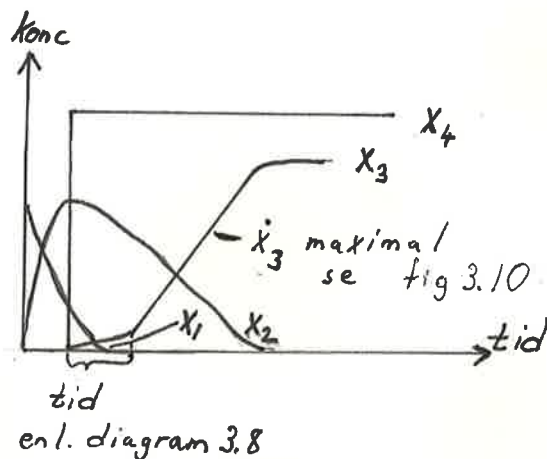


Fig 3.3
Principiellt utseende för
försök 3
(X_1-X_4 se beteckningar kap 1)

Den ändring av X_4 som sker under försökets gång är $\ll X_4$.

Fig 3.4 0.93 g glycerol/l TS=0.19 g/l

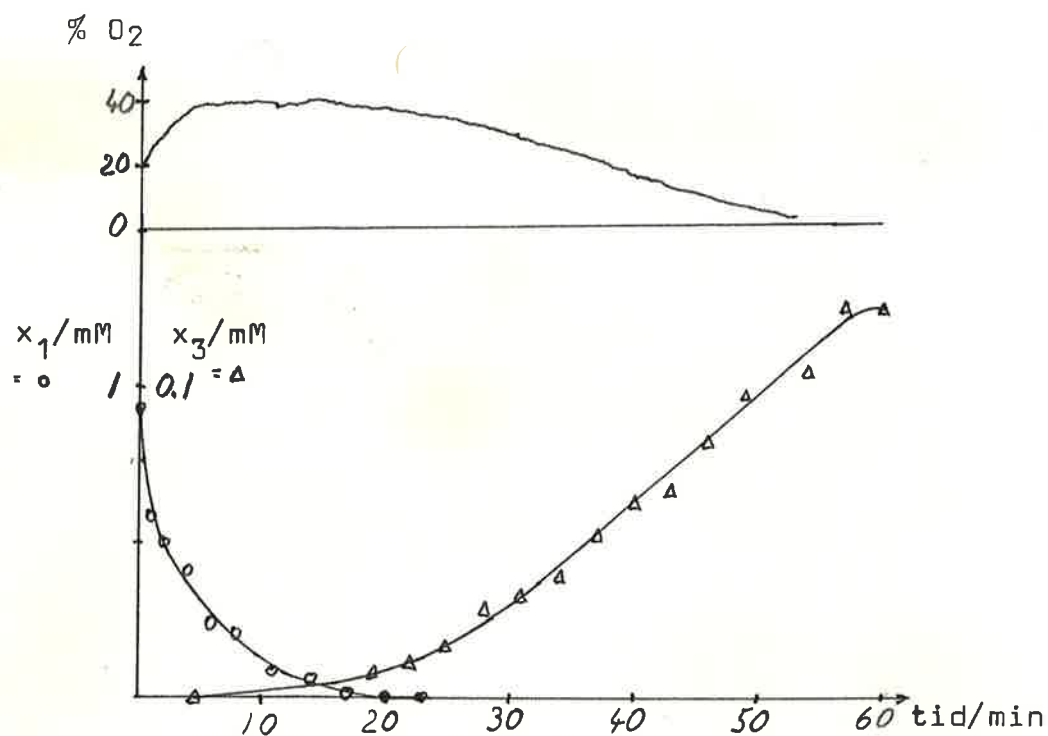


Fig 3.5 1.87 g glycerol/l TS=0.199g/l

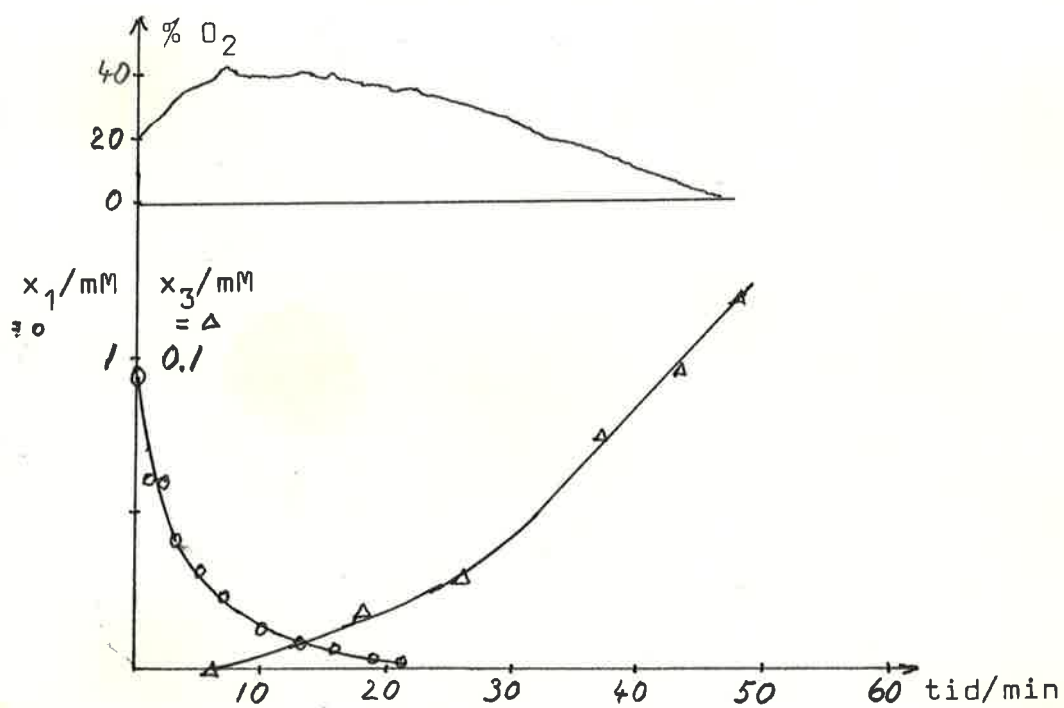


Fig 3.6 4.79 g glycerol/l TS=0.20g/l

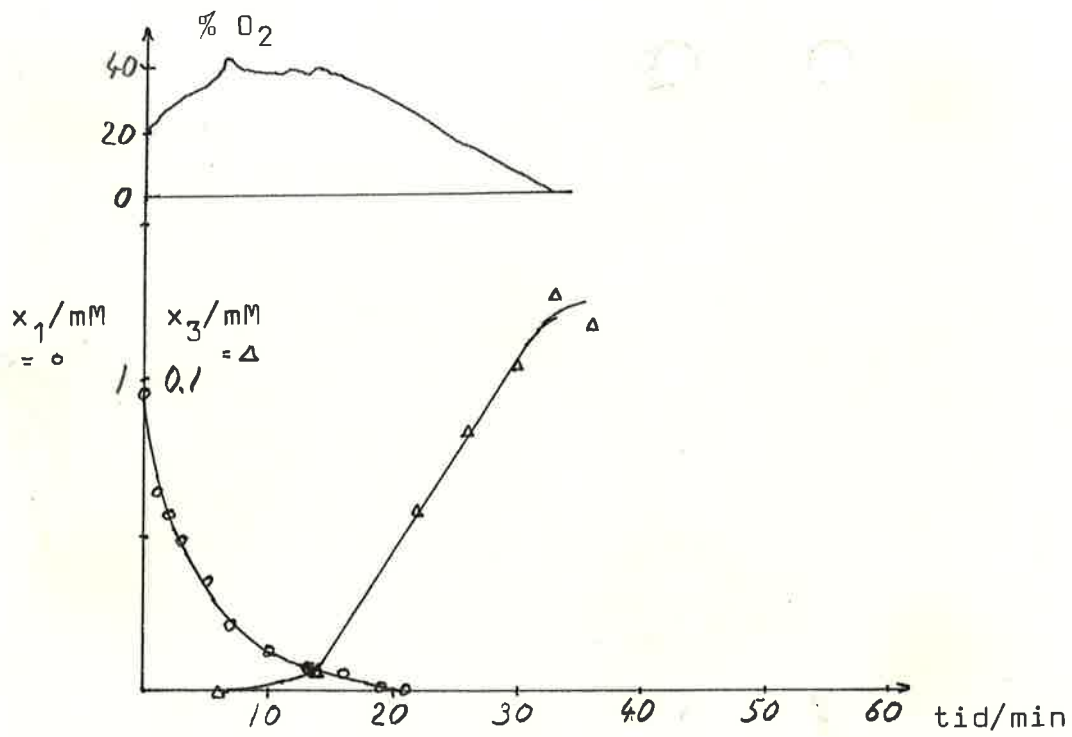


Fig 3.7 9.3 g glycerol/l TS=0.19g/l

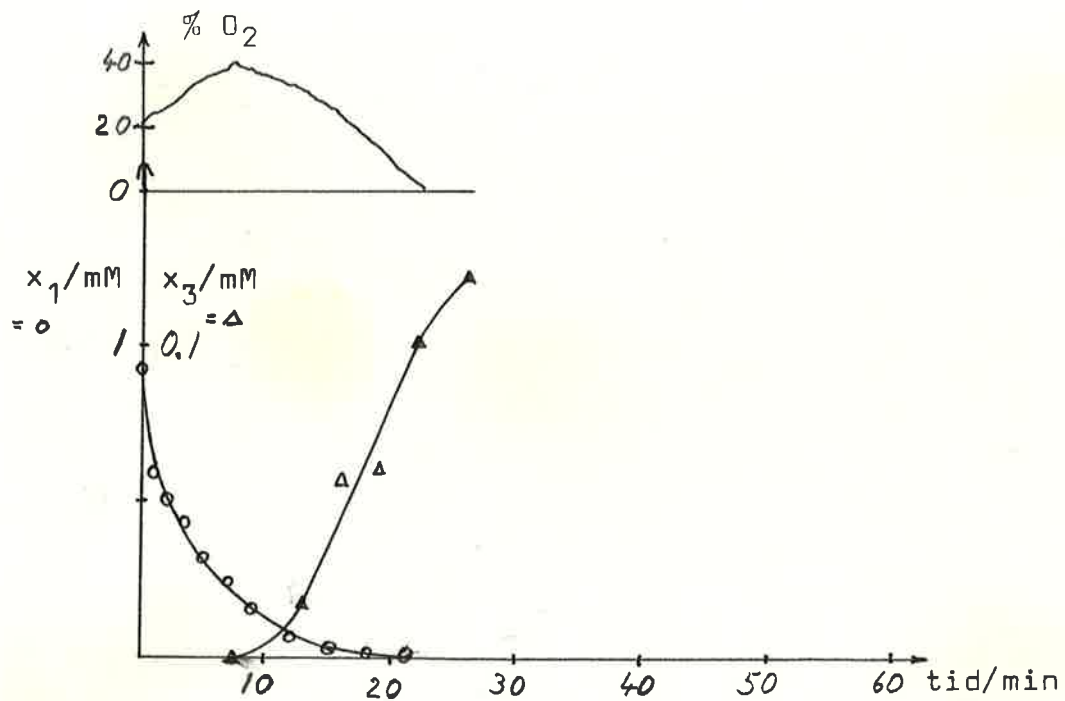


Fig 3.8 46.7 g glycerol/l TS=0.19 g/l

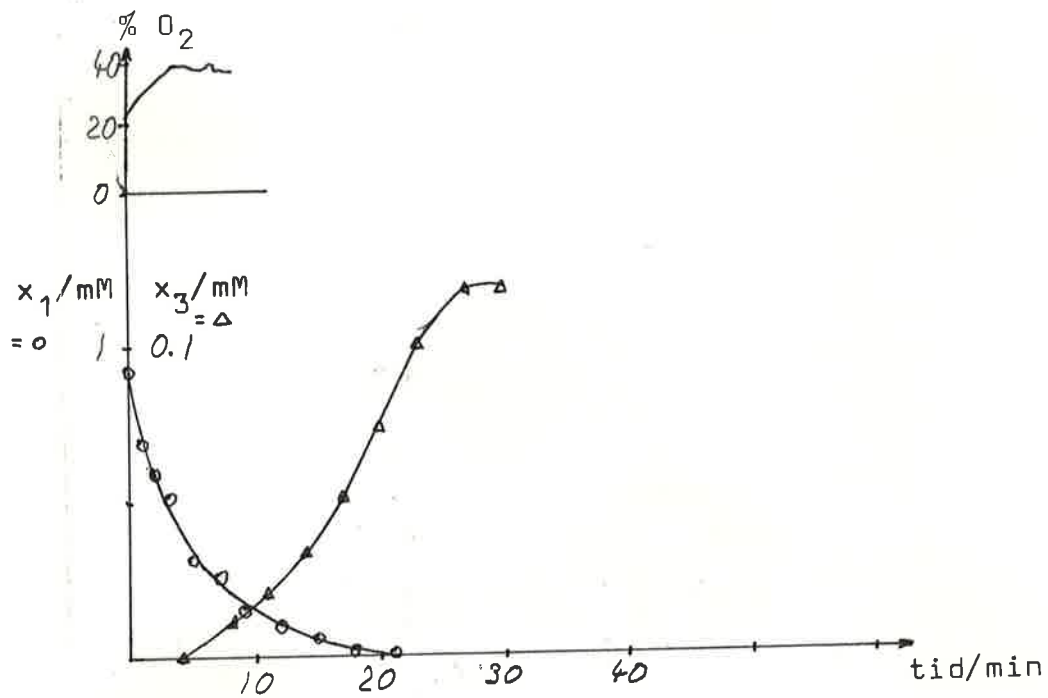
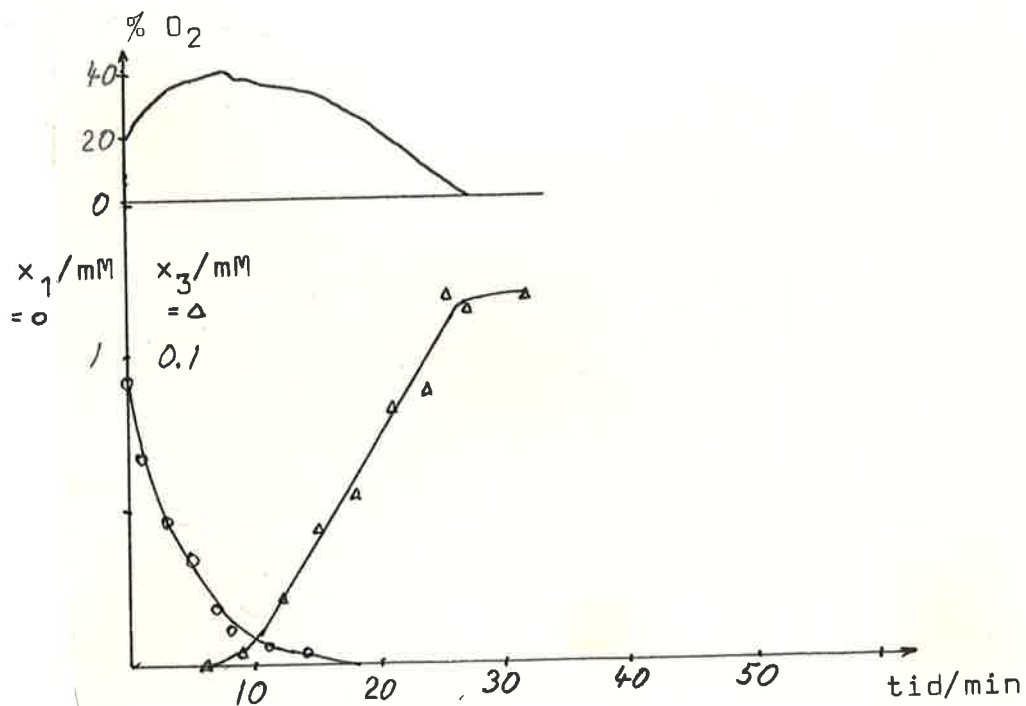


Fig 3.9 93 g glycerol/l TS=0.19 g/l



Resultat: Vi har inte funnit något som tyder på att \dot{X}_1 beror av glycerolkonc.

$$\text{Medelvärde } \frac{1}{TS} = 1.15 \text{ min}^{-1} \left(\frac{\text{g celler}}{\text{l}} \right)^{-1}$$

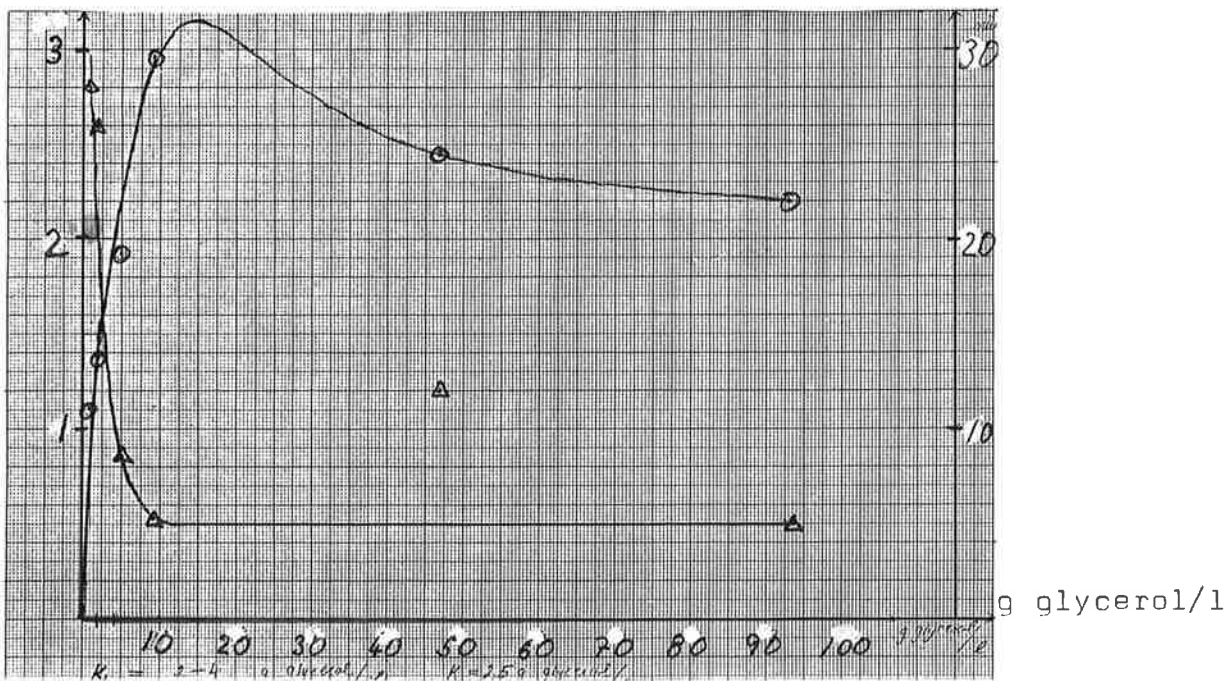
$$H_2O_2 = -\frac{1}{TS} H_2O_2$$

Se också fig 3.10

Fig 3.10
Glycerolkinetik

\dot{X}_3/TS maximalt
(gDHA (gceller)⁻¹h⁻¹)

tid att uppnå
maximal produktion (min)



4. TEORI OCH SIMULERINGAR MED KALMANFILTER

MODELLBYGGE

$$\dot{X} = -\frac{1}{T} X + Ku \quad (1)$$

$$y(t) = X(t-t_d) \quad (2)$$

$$X = (\text{H}_2\text{O}_2) \quad (\text{mM})$$

T = tidskonstant för cellernas (H_2O_2)-nedbrytning

$$K = (\text{H}_2\text{O}_2) \text{ i inflödet} / (\text{Fermentorns volym}) \\ (\text{mM/ml})$$

Försöken med fria celler (kap 6) har skett med konstant volym, vi har då haft ett utflöde av produkt. Däremot så har försöken med immobiliserade celler (kap 5) skett utan produktutflöde, dvs. volymen ökar något. Eftersom volymökningen (jfr fig 5.1) var liten har alla simuleringar skett med konstant volym. Utflödet av H_2O_2 saknar betydelse för (1) ty inflödets koncentration är ca 500 ggr större än fermentorns.

u = inflödet av H_2O_2 -lösning (ml/min)

y = mätsignal från enzymtermistorn tillgänglig var 8:e minut

t_d = tidsfördröjning = 2.75 min (se kap 2 Mätmetoder, flödeskalorimeter).

REGLERING

Vi har alltså ett första ordningens system med tidsfördröjning. Detta kan vi enkelt reglera med en PI-regulator se t.ex. simuleringen av en sådan i kap 5. Om man vill ha ett snabbare system kan man göra ett Kalmanfilter. Vi inför då fördröjda tillstånd för att klara tidsfördröjningen av mätsignalen. Eftersom modellparametrarna är svåra att bestämma exakt använder vi en integrator också. Kalmanfiltret blir mest lämpat för kortare körningar med snabba ändringar av börvärdet för (H_2O_2). (T ändras ju kraftigt med tiden)

UTÖKAT MODELLBYGGE FÖR KALMANFILTER

$$t_d = 2.75 \text{ min}$$

samlingsintervallet $h = 1 \text{ min}$

$$\phi = e^{-h/T}$$

T_i = tidskonstant

$$\gamma = \int_0^h e^{-s/T} K ds$$

$$\Gamma_0 + \Gamma_1 = 1$$

Observera att tillståndsåterkoppling sker *eftare* än modellkorrektions $c = 1$ då vi får mätsignal dvs. var 8:e sampling och 0 f.ö.

$$A = \begin{pmatrix} \varphi & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & c \frac{-\sqrt{0}}{T_i} & c \frac{-\sqrt{1}}{T_i} & 1 \end{pmatrix} \quad B = \begin{pmatrix} \gamma \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \end{pmatrix}$$

$$C = c \begin{pmatrix} 0 & 0 & -\sqrt{0} & -\sqrt{1} & 0 \end{pmatrix}$$

$$x = \begin{pmatrix} x(k) \\ x(k-1) \\ x(k-2) \\ x(k-3) \\ I(k) \end{pmatrix}$$

$$qx = Ax + Bu + \frac{c}{T_i} y_{ref} \quad (3)$$

$$u = -L\hat{x} \quad (4)$$

$$y = Cx \quad (5)$$

$$q\hat{x} = A\hat{x} + Bu + K(y - C\hat{x}) \quad (6)$$

Integraltillståndet $I(k)$ representeras endast en gång och man tänker sig att det finns i processen.

Vi kan nu föreställa oss \hat{x} som en 1×4 matris.

Återkopplingen från integratorn ska vara liten. För att förenkla beräkningarna inför vi därför matrisen $A_{öv}$ som är övre vänstra delen av A .

$$A_{öv} = \begin{pmatrix} \varphi & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \end{pmatrix} \quad \text{pss. } B_{öv} = \begin{pmatrix} \gamma \\ 0 \\ 0 \\ 0 \end{pmatrix}$$

Karakteristiska polynom

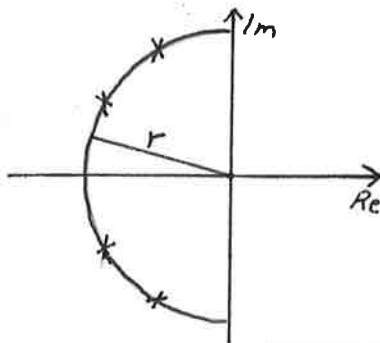
$$\det(\lambda I - (A_{öv} - KC)) =$$

$$\begin{aligned} & \lambda^4 + \lambda^3 (\sqrt{0} K_3 + \sqrt{1} K_4 - \varphi) + \lambda^2 (\sqrt{1} K_3 + \sqrt{0} K_2 - \varphi (\sqrt{0} K_3 + \sqrt{1} K_4)) \\ & + \lambda (\sqrt{1} K_2 + \sqrt{0} K_1 - \varphi (\sqrt{1} K_3 + \sqrt{0} K_2)) \\ & + \sqrt{1} K_1 - \varphi \sqrt{1} K_2 \end{aligned} \quad (7)$$

$$\det(\lambda I - (A_{\ddot{v}} - B_{\ddot{v}}L)) = \lambda^4 + \lambda^3 (\gamma_1 - \varphi) + \lambda^2 \gamma_2 + \lambda \gamma_3 + \gamma_4 \quad (8)$$

Polplacering

Fig 4.1
Polplacering
tidskontinuerliga
motsvarighet



En polplacering enl. fig 4.1 ger i diskret tid ett karakteristiskt polynom = $\lambda^4 - 2\lambda^3(e(-a)c(b) + e(-b)c(a)) + \lambda^2(e(-2b) + e(-2a) + 4e(-a)e(-b)c(b)c(a)) - 2\lambda(e(-a)c(b)e(-2b) + e(-b)c(a)e(-2a)) + e(-2a)e(-2b)$ (9)

där $a = \frac{hr}{2}$ $b = \frac{hr\sqrt{3}}{2}$

$$e(x) = \exp(x)$$

$$c(x) = \cos(x)$$

Identifisering - Vi kan nu bestämma K och L matriserna genom att identifiera koefficienterna i polynomen. (se närmast följande SIMNON-program).

SIMULERING

Här följer nu resultat av två simuleringar som använt integratorn på två olika sätt och simuleringsprogrammen. (7) och (8) har identifierats med (9). Detta innebär att K beräknats som om man kunde mäta varje minut. Men vi har mätsignal var 8:e minut.

Polplacering $A_{\ddot{v}} - KC$ gavs $r=10$ och $A_{\ddot{v}} - B_{\ddot{v}}L$ $r=0.4$.

Detta ger det bästa uppträdandet hos systemet. Vi har deadbeat för $A-KC$ och blir brus känsliga.

Modellfel Tidskonstanten i modellen är 9 min men den är 10 min i processen. Felet har introducerats för att testa integratorn.

Integratör - Olyckligtvis finns det i SIMNON-programmet en konstant benämning T_I , den får ej förväxlas med τ_i från (3) - (6). Det är av intresse att titta på överföringskonstanten K_0 från fel till insignal.

$$I = c_1 (y - y_{ref})$$

$$u = l_5 I \text{ i så fall är } K_0 = c_1 l_5.$$

För att få en uppfattning om tidskonstanter för integrationen sätter vi

$$K_0 = \frac{1}{G(0)} \cdot \frac{8h}{\tau_i} = \frac{1}{KT} \cdot \frac{8h}{\tau_i} \quad (10)$$

τ_i är då vår tidskonstant. (Vi har nu bestämt l_5).

Brus Till varje mätvärde har vitt brus med $stdev=0.5$ adderats.

Fig 4.2
Integratören kopplas endast till processen $\tau_i=60\text{min}$

83.01.15 - 14:01:21
HCOPI

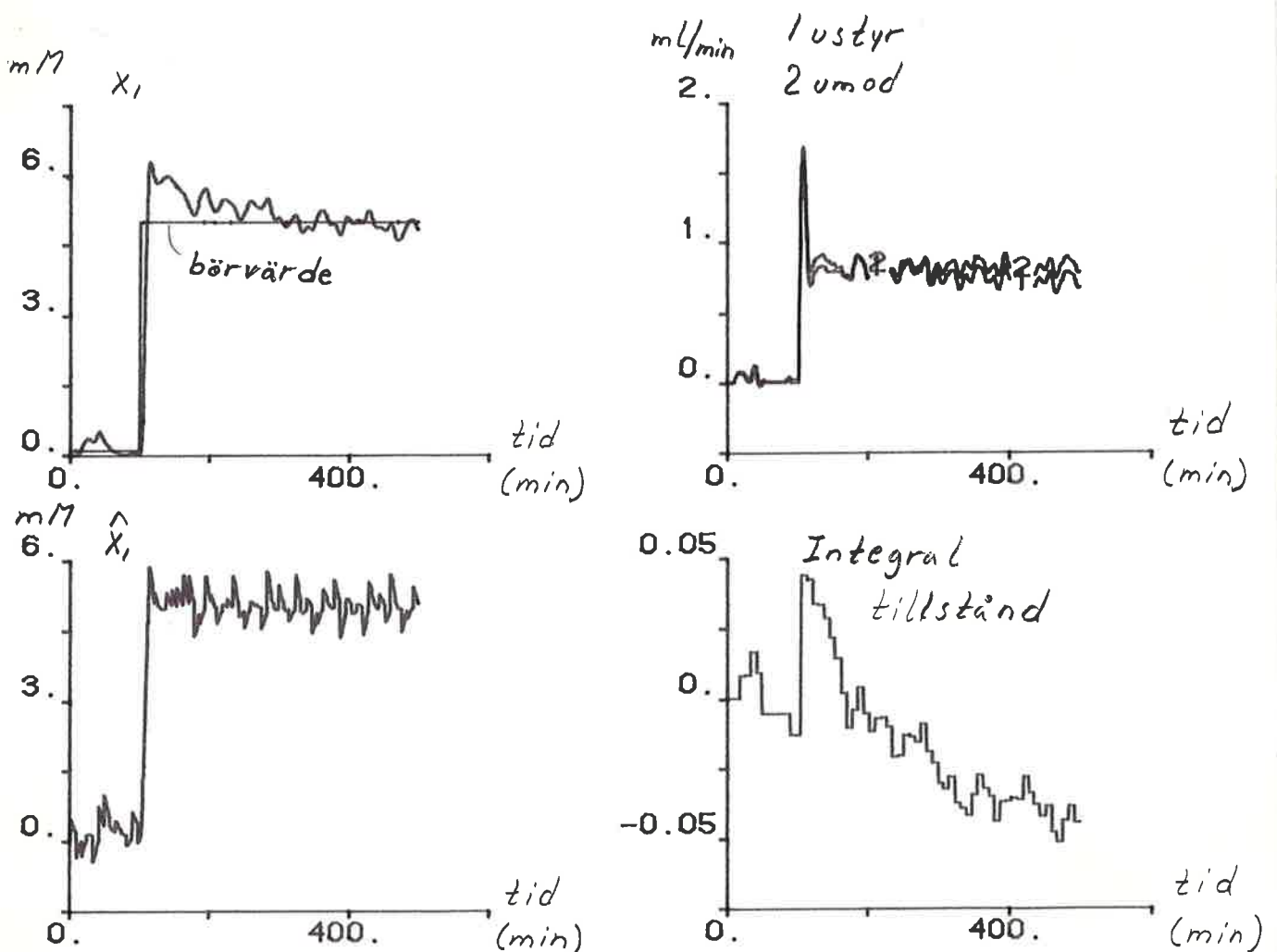
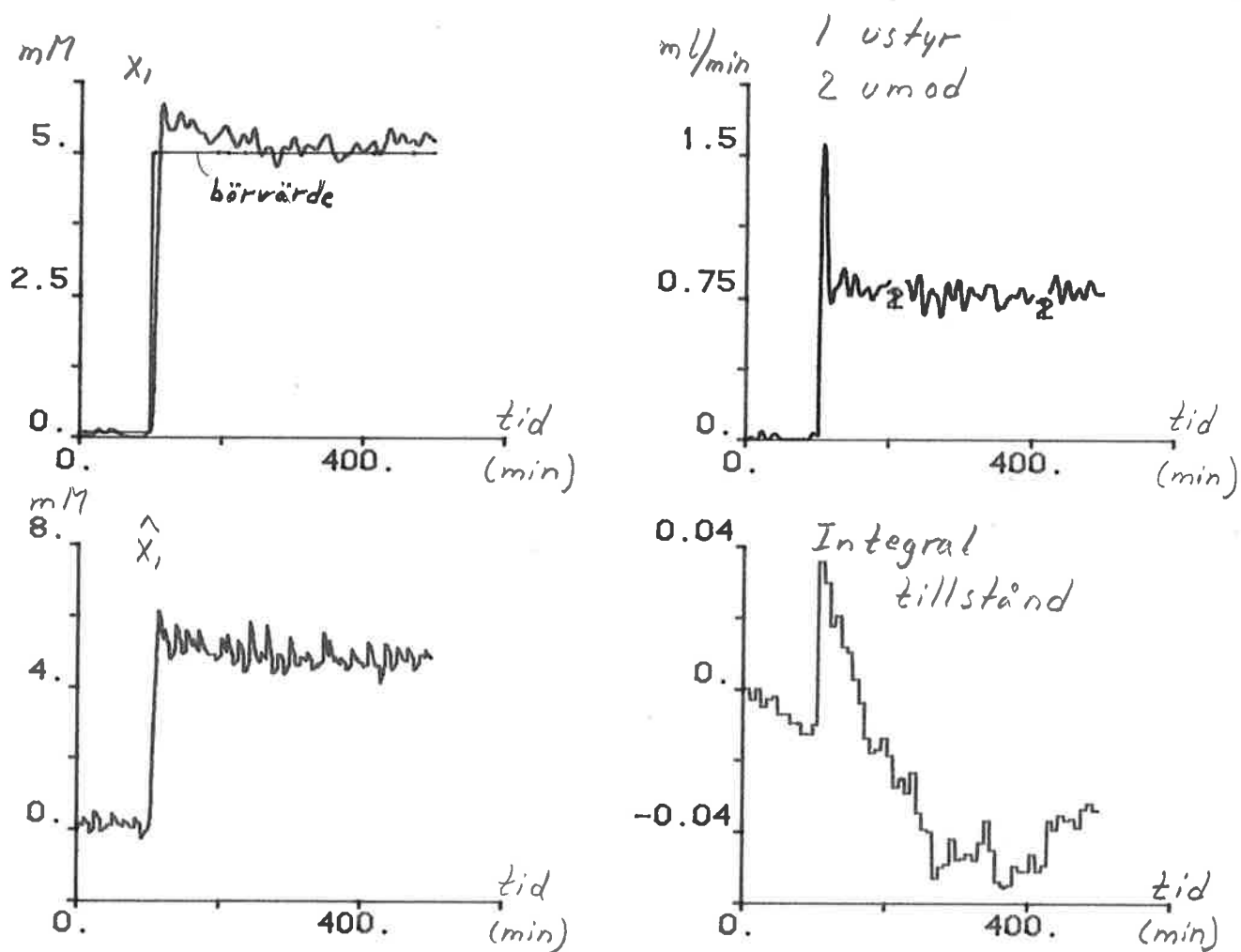


Fig 4.3
Integratorm kopplas till process
och modell. $T_i=850\text{min}$

83.01.15 - 14:25:19
HCOPIY



Resultat av simulering

Vissa dåliga egenskaper hos systemet tex. så är \hat{x} mycket brusig, integraltillståndet får ett kraftigt tillskott då börvärdet ändras. Om man inför en modell av y_{ref} istället för att säga att y_{ref} ska vara samma som börvärdet släpper man ifrån det sista problemet.

Kommentarer till program

KALABC 80 I detta program finns en modell av processen och här beräknas processens insignal. X1 är en modell av processvärdet och X2 · X3 · X4 är gamla värden. XI är integraltillståndet.

AENDY används för att förhindra integration men den hindrar bara i ett samplingsintervall och har därför ingen större effekt. Vi har också villkorlig integration, det innebär att då styrsignal mättar slutar vi att integrera. Detta kan dock leda till oönskade situationer, om integraltillståndet blir för stort får vi stor utsignal och integraltillståndet kan då inte ändras. Integration sker på y-processens börvärde. Parametern PH ger oss möjlighet att ändra integratoråterkopplingen.

```

DISCRETE SYSTEM KALABC80
INPUT YBOER Y
OUTPUT USTYR H TS UHIGH ULOW
TIME T
STATE X1 X2 X3 X4 XI TAL AENDY
NEW NX1 NX2 NX3 NX4 NXI NTAL NAENDY
TSAMP TSS
"
NAENDY=YBOER
"
TSS=T+H
TS=TSS
H=SAMP/8
"
GAMMA=K*TKONST*(1-FI)
FI=EXP(-H/TKONST)
VILL=IF ABS(INT(TAL/8)-TAL/8) < 0.01 THEN 1 ELSE VIL
NTAL=TAL+1
GO=K*TKONST
UREF=YBOER/GO
"BERAEKNING AV L OCH K MATRIS
EA=EXP(-A)
EAL=EXP(-AL)
E2A=EXP(-2*A)
E2AL=EXP(-2*AL)
EB=EXP(-B)
EBL=EXP(-BL)
E2B=EXP(-2*B)
E2BL=EXP(-2*BL)
CA=COS(A)
CAL=COS(AL)
CB=COS(B)
CBL=COS(BL)
A=H*RK/2
AL=H*RL/2
B=A*SQRT(3)
BL=AL*SQRT(3)
A1=E2A*E2B
B1=E2AL*E2BL
A2=-2*(EA*CB*E2B+EB*CA*E2A)
B2=-2*(EAL*CBL*E2BL+EBL*CAL*E2AL)
A3=E2B+E2A+4*EA*EB*CB*CA
B3=E2BL+E2AL+4*EAL*EBL*CBL*CAL
A4=-2*(EA*CB+EB*CA)
B4=-2*(EAL*CBL+EBL*CAL)
"

```

forts. på nästa sida

```

X1BOER=YBOER
X2BOER=YBOER
X3BOER=YBOER
X4BOER=YBOER
U=UREF-(L1*(X1-X1BOER)+L2*(X2-X2BOER)+L3*(X3-X3BOER)+L4*(X4-X4BOER)+L5*XI*INTEG
USTYR=IF U<ULOW THEN ULOW ELSE IF U>UHIGH THEN UHIGH ELSE U
UMOD=USTYR+L5*XI*INTEG*PH
"
L1=(B4+F1)/GAMMA
L2=B3/GAMMA
L3=B2/GAMMA
L4=B1/GAMMA
L5=- (1/(GAMMA*10))*TI*SKAL
K4=(FI+A4-GDIV*(-GDIV*(-GDIV*A1+A2)+A3))/(GAMMA0*FI+GAMMA1)
K3=FI*K4-GDIV*(-GDIV*A1+A2)/GAMMA1+A3/GAMMA1
K2=FI*K3-GDIV*A1/GAMMA1+A2/GAMMA1
K1=FI*K2+A1/GAMMA1
"
NX1=FI*X1+K1*VILL*FEL+GAMMA*UMOD
NX2=X1+K2*VILL*FEL
NX3=X2+K3*VILL*FEL
NX4=X3+K4*VILL*FEL
NXI=XI+VILL*(YBOER-Y)*VILLI/SKAL
VILLI=IF(U<UHIGH AND U>ULOW)AND(ABS(AENDY-YBOER)<.01)THEN 1 ELSE 0
FEL=Y-YBOER-GAMMA0*(X3-X3BOER)-GAMMA1*(X4-X4BOER)
GAMMA0=(3*H-TAU)/H
GAMMA1=(TAU-2*H)/H
GDIV=GAMMA0/GAMMA1
UHIGH=UH
ULOW=UL
SKAL:100
PH:1
INTEG:1
UH:2
UL:0
VIL:0
TAU:2.75
SAMP:8.05
K:0.667
TKONST:9
TI:0.15
RK:10
RL:0.4
END

```

```

CONTINUOUS SYSTEM PROCESS
INPUT IN
OUTPUT UT
STATE X
DER DX
DX=-X/T2+KP*IN
UT=X
KP:.667
T2:10
END

```

```

CONNECTING SYSTEM KALSTY80
TIME T
TD1[DELAY]=T-D
U1[DELAY]=UT[PROCESS]
Y[KALABC80]=Y1[DELAY]+E1[NOISE1]
IN[PROCESS]=USTYR[KALABC80]
YBOER[KALABC80]=IF T<100 THEN A1 ELSE A2
A1:0.1
A2:5
D:2.75
END

```

FÖRBÄTTROT KALMANFILTER

Eftersom modellkorrektions sker var 8:e gång är det egenvärdena till $A_{\ddot{O}V}^7 (A_{\ddot{O}V} - KC)$ som man bör titta på. Dock är det ju så att om $A - KC$ egenvärden är tillräckligt små så konvergerar $A_{\ddot{O}V}^7 (A_{\ddot{O}V} - KC)$ också. Vi hoppas nu få ett \hat{x}_1 som blir mindre brus känsligt.

$$A_{\ddot{O}V}^7 (A_{\ddot{O}V} - KC) = \varphi^4 v u^T \quad (11)$$

$$u^T = (1 \ 0 \ 0 \ 0) (A_{\ddot{O}V} - KC) = (\varphi \ 0 \ -\Gamma_0 K_1 \ -\Gamma_1 K_1)$$

$$v = \begin{pmatrix} \varphi^3 \\ \varphi^2 \\ \varphi \\ 1 \end{pmatrix}$$

$$\Rightarrow \lambda_1 = \varphi^4 u^T v \quad \text{övriga } \lambda_2 = \lambda_3 = \lambda_4 = 0 \quad (12)$$

$$K_1 = \frac{\varphi^4 - \frac{1}{\varphi^4}}{\Gamma_0 \varphi + \Gamma_1} \quad (13)$$

Frågan är nu hur de övriga K ska väljas. Vi väljer

$$K_2 = \frac{7}{8} K_1 \quad K_3 = \frac{6}{8} K_1 \quad K_4 = \frac{5}{8} K_1$$

SIMULERING

Vi gör nu en motsvarande simulering som i fig 4.2 och fig 4.3 men med K matrisen bestämd genom att titta på $A_{\ddot{O}V}^7 (A_{\ddot{O}V} - KC)$:s egenvärden.

Polplacering
Samma L-matris som förra gången dvs $r=0.4$. Egenvärdet λ_1 i (12) ges värdet 0.4.

Modellfel, Präcis samma som i förra simuleringen.
integration,
brus

Fig 4.4
 Integration endast till processen
 $T_i=170$ min. \hat{x} konvergerar snabbt
 mot börvärdet för x .

82.11.19 - 15:13:54
 HCOFY

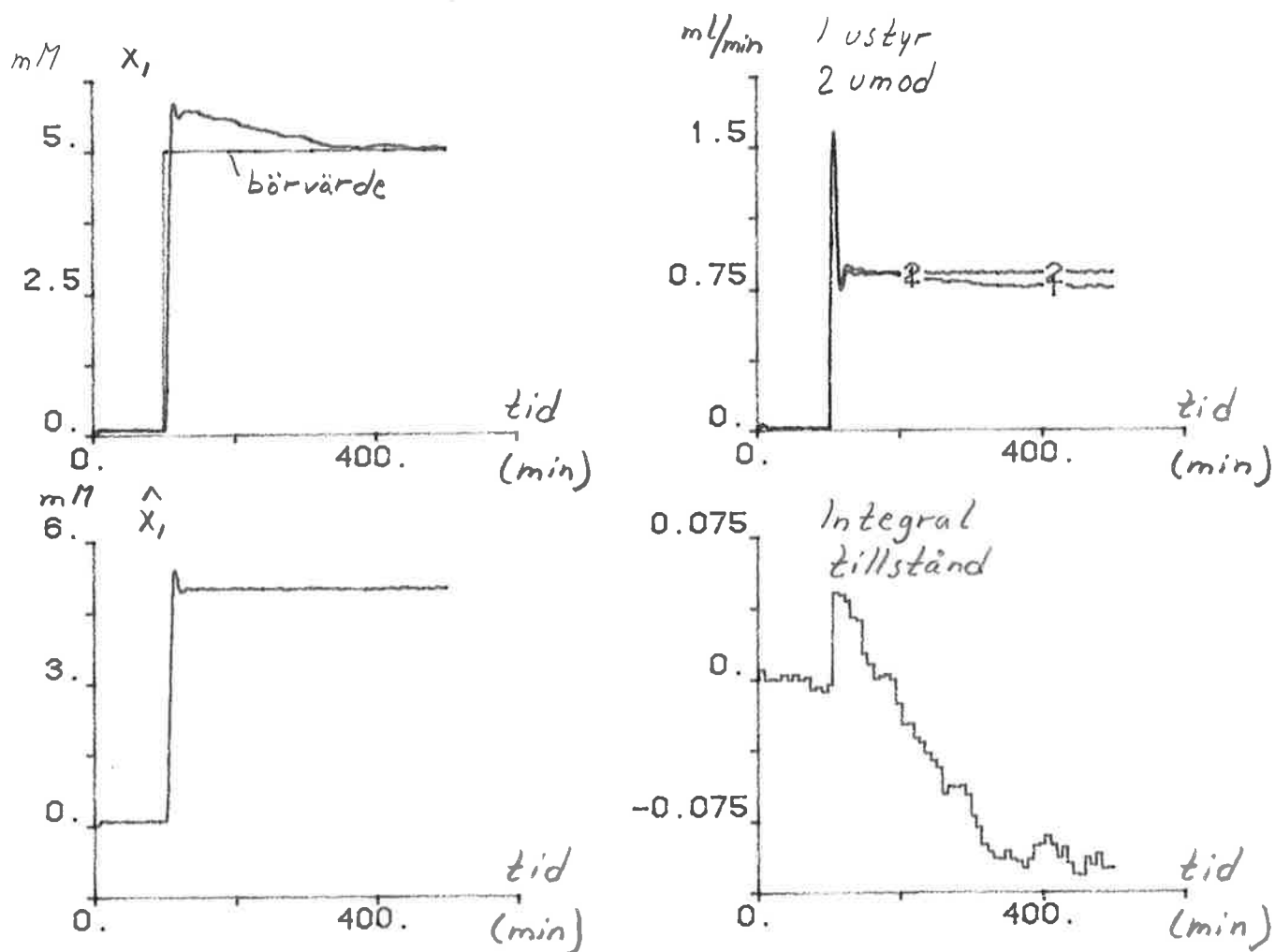
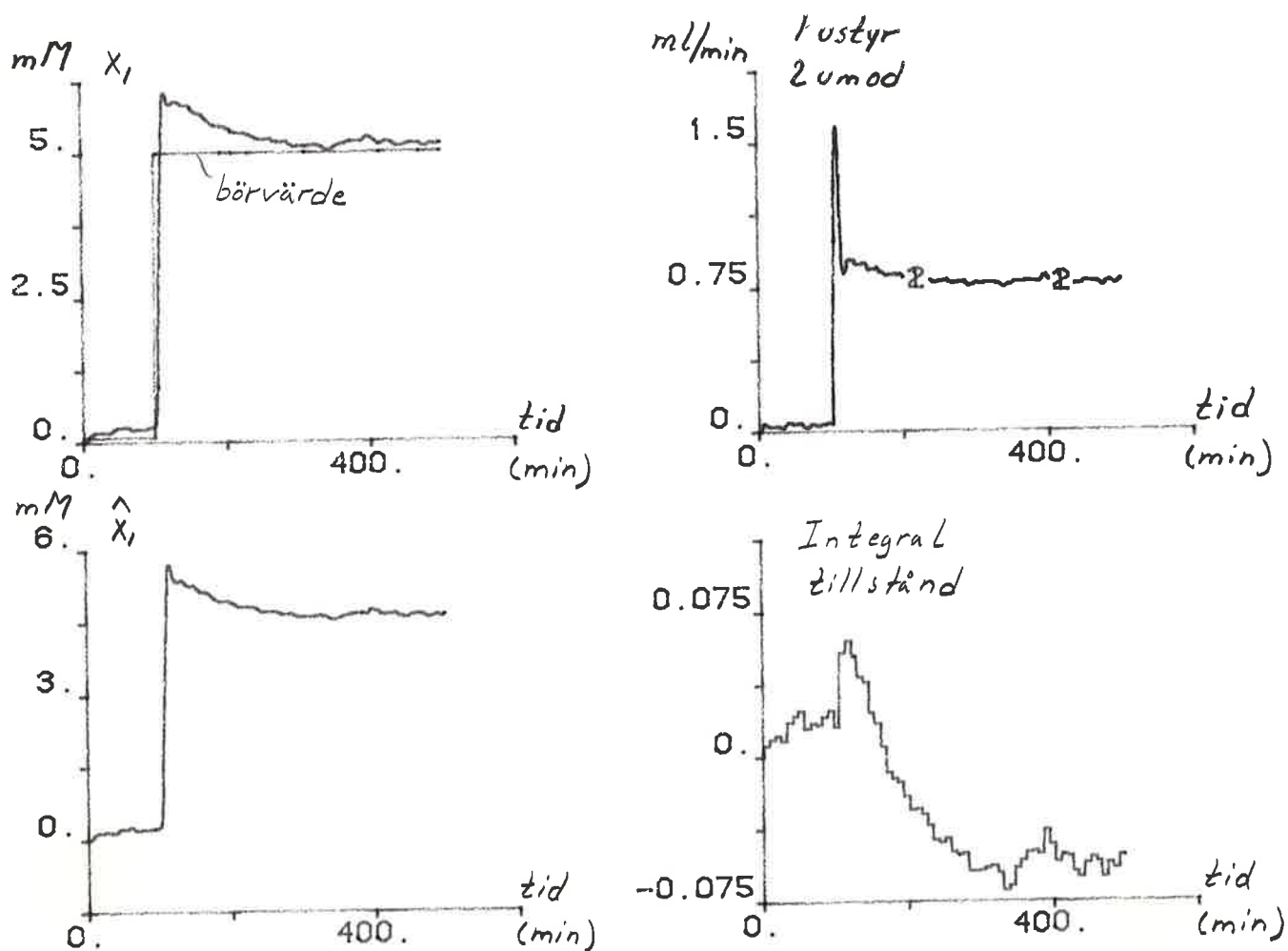


Fig 4.5
 Integration till både modell och
 process.
 $T_i=850$ min. \hat{x}_1 följer i stort sett
 x_1 , men det finns en stationär
 skillnad.

82.11.19 - 15:05:30
 HCOPI



Resultat Brus elimineras i viss mån med denna polplacering. Man kan observera hur x_1 påverkas av integraltillståndet.

Kommentar till program

Detta program är nästan likadant som det föregående. Skillnaden är att beräkningen av K ändrats i KALABC80 (motsv KNOV). RK betyder nu λ enl. (13)

```

DISCRETE SYSTEM KNOV
INPUT YBOER Y
OUTPUT USTYR H TS UHIGH ULOW
TIME T
STATE X1 X2 X3 X4 XI TAL
NEW NX1 NX2 NX3 NX4 NXI NTAL
TSAMP TSS
TSS=T+H
TS=TSS
H=SAMP/8
GAMMA=K*TKONST*(1-FI)
FI=EXP(-H/TKONST)
VILL=IF ABS(INT(TAL/8)-TAL/8)<0.01 THEN 1 ELSE VIL
NTAL=TAL+1
GO=K*TKONST
UREF=YBOER/GO
EAL=EXP(-AL)
E2AL=EXP(-2*AL)
EBL=EXP(-BL)
E2BL=EXP(-2*BL)
CAL=COS(AL)
CBL=COS(BL)
AL=H*RL/2
BL=AL*SQRT(3)
B1=E2AL*E2BL
B2=-2*(EAL*CBL*E2BL+EBL*CAL*E2AL)
B3=E2BL+E2AL+4*EAL*EBL*CBL*CAL
B4=-2*(EAL*CBL+EBL*CAL)
X1BOER=YBOER
X2BOER=YBOER
X3BOER=YBOER
X4BOER=YBOER
U=UREF-(L1*(X1-X1BOER)+L2*(X2-X2BOER)+L3*(X3-X3BOER)+L4*(X4-X4BOER)+L5*XI*INTEG
USTYR=IF U<ULOW THEN ULOW ELSE IF U>UHIGH THEN UHIGH ELSE U
UMOD=USTYR+L5*XI*INTEG*PH
L1=(B4+FI)/GAMMA
L2=B3/GAMMA
L3=B2/GAMMA
L4=B1/GAMMA
L5=-(1/(GAMMA*10))*TI*SKAL
K4=(5/8)*K1
K3=(6/8)*K1
K2=(7/8)*K1
K1=(FI4-RK/FI4)/(GAMMA0*FI+GAMMA1)
FI4=FI*FI*FI*FI
NX1=FI*X1+K1*VILL*FEL+GAMMA*UMOD
NX2=X1+K2*VILL*FEL
NX3=X2+K3*VILL*FEL
NX4=X3+K4*VILL*FEL
NXI=XI+VILL*(YBOER-Y)*VILLI/SKAL
VILLI=IF U<UHIGH AND U>ULOW THEN 1 ELSE 0
FEL=Y-YBOER-GAMMA0*(X3-X3BOER)-GAMMA1*(X4-X4BOER)
GAMMA0=(3*H-TAU)/H
GAMMA1=(TAU-2*H)/H
GDIV=GAMMA0/GAMMA1
UHIGH=UH
ULOW=UL
SKAL:100
PH:1
INTEG:1
UH:2
UL:0
VIL:0
TAU:2.75
SAMP:8.05
K:0.667
TKONST:10
TI:0.02
RK:10
RL:0.4
END

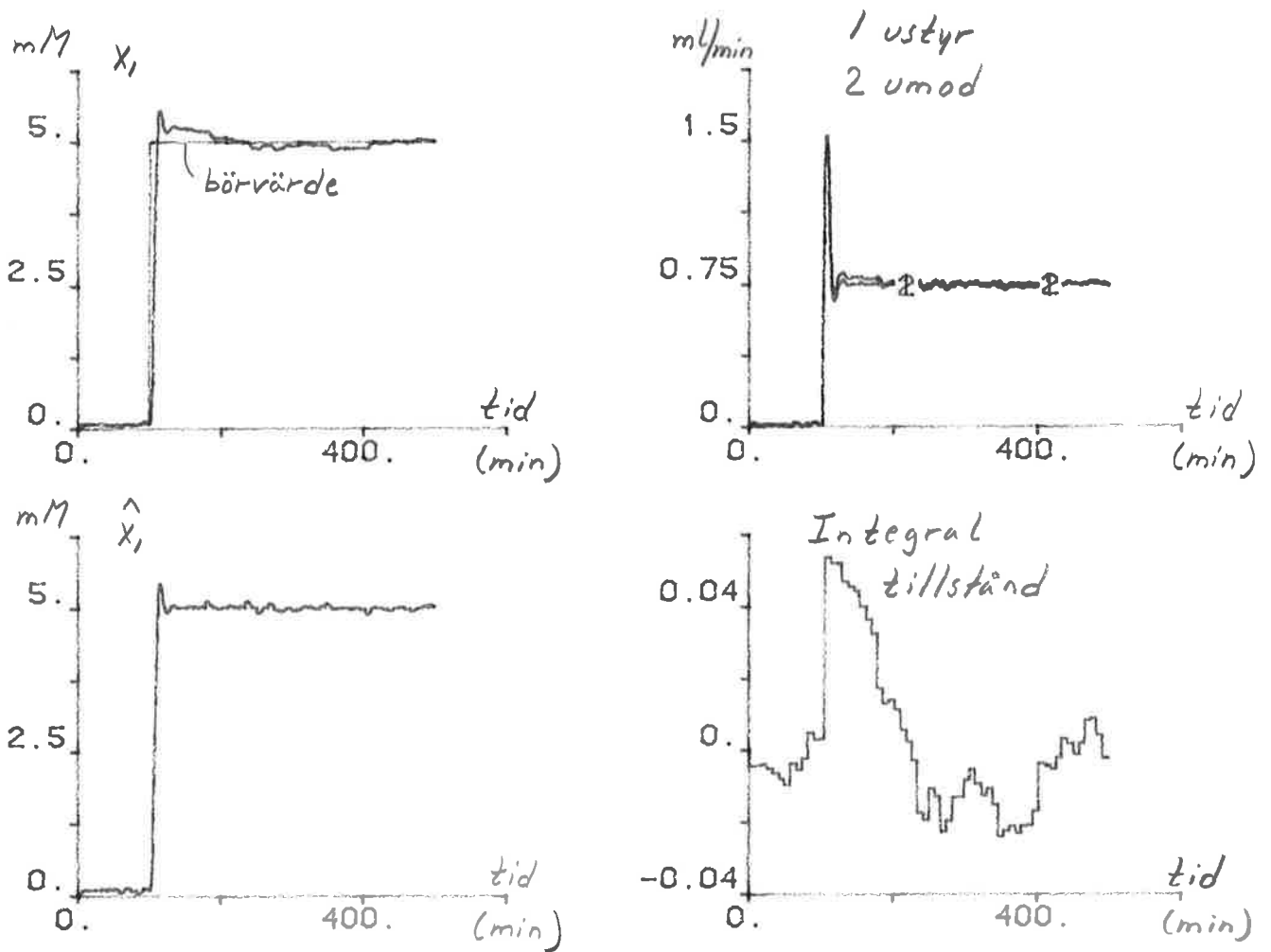
```

```
CONTINUOUS SYSTEM PROCESS
INPUT IN
OUTPUT UT
STATE X
DER DX
DX=-X/T2+KP*IN
UT=X
KP=.667
T2=10
END
```

```
CONNECTING SYSTEM KNOV
TIME T
TD1[DELAY]=T-D
U1[DELAY]=UT[PROCESS]
Y[KNOV]=Y1[DELAY]+E1[NOISE1]
IN[PROCESS]=USTYR[KNOV]
YBDER[KNOV]=IF T<100 THEN A1 ELSE A2
A1:0.1
A2:5
D:2.75
END
```

Fig 4.6
 Samma simulering som i fig 4.4 men
 här har vi inget modellfel.

82.11.19 - 16:17:25
 HCOFY



SLUTSATSER OM KALMANFILTREERING

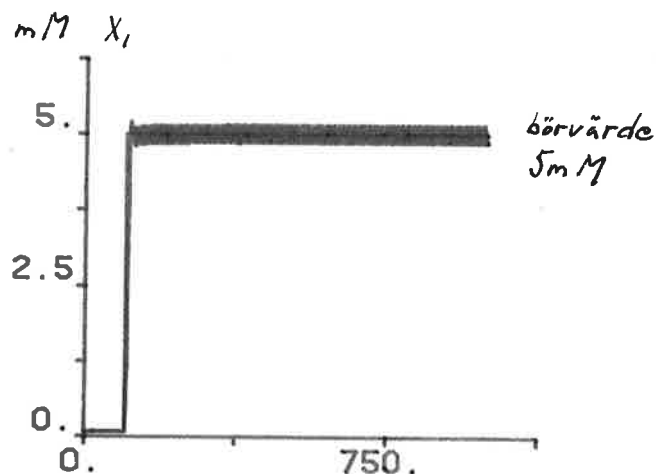
Kalmanfilter med integrator kan ge rätt värde på processvariablerna trots modellfel. Simuleringsresultaten kan lätt användas till KALREG - ABC 80 programmet. Vi byter ut beräkningen av K och L matris mot tilldelning av här bestämda bra värde på K och L och integrator återkoppling. Man bör dock observera att vårt problem dvs att T ökar kontinuerligt är svårare och man bör använda så mycket integratoråterkoppling man vågar.

Inkoppling
av en
integrator

Vi har försökt koppla integratorn på två olika sätt (jmf fr fig 4.2 med fig 4.3 och fig 4.4 med fig 4.5). Det finns en viss skillnad. Bl.a. så har T_i betydelsen tidskonstant endast då man har integratoråterkoppling till processen endast och endast i detta fallet konvergerar modellvärdet mot det verkliga värdet. Om man simulerar systemen i detta kapitel med deadbeat och utan brus men med modellfel så finner man att styrsignal, processvärde (fig 4.7) och modellvärde blir mycket "taggiga" om man kopplar in integratorn till både modell och process, men alltså inte annars.

Fig 4.7
Simulering enl. ovanstående.

I KALREG Appendix A har jag därför valt integratoråterkoppling till process endast.



5. REGLERING, IMMOBILISERADE CELLER

I detta kapitel redovisas två försöksresultat samt en simulering av PI-reglering. I det första försöket har vi använt PI-reglering och i det andra Kalmanfiltrering. Båda försöken är batch-försök (dvs inget utflöde) med immobiliserade celler. Försöksuppställning se fig 1.2. Reglerprogram se Appendix A.

FÖRSÖK

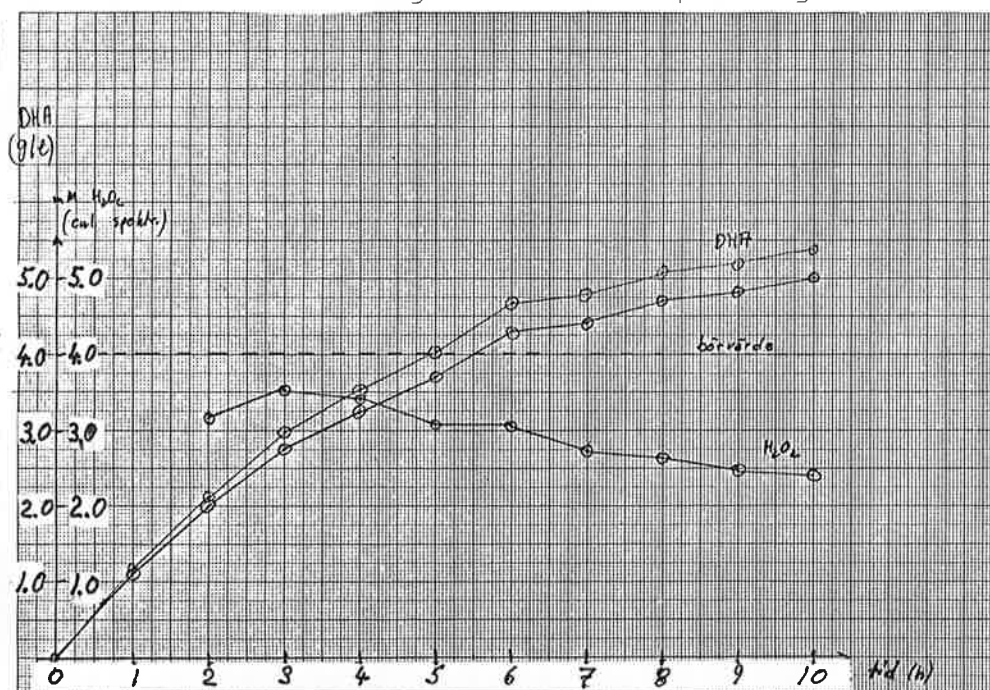
PI-REGLERING

Försöksresultatet finns i fig 5.1. En kontrollmätning av (H_2O_2) med enzymatisk metod visade att den verkliga (H_2O_2) ej överensstämde med enzymtermistor-signalen. Detta problem uppkom då vi använde immobiliserade celler men ej annars. En möjlig förklaring är därför att celler läcker ur alginatkulorna och börjar växa i enzymtermistorpatronen. Efter 10 timmar är $\mu_{cfu} = 46\%$ av det ursprungliga. Alla försöksparametrar kan avläsas i simuleringsprogrammet i detta kapitel. Tidskonstanten i simuleringsprogrammet är dock grovt approximativ.

Fig 5.1

Försöksresultat

PI-reglering av immobiliserade celler. I figuren finns två st DHA-kurvor. Den undre är den uppmätta, medan den övre korrigerats för utspädning.



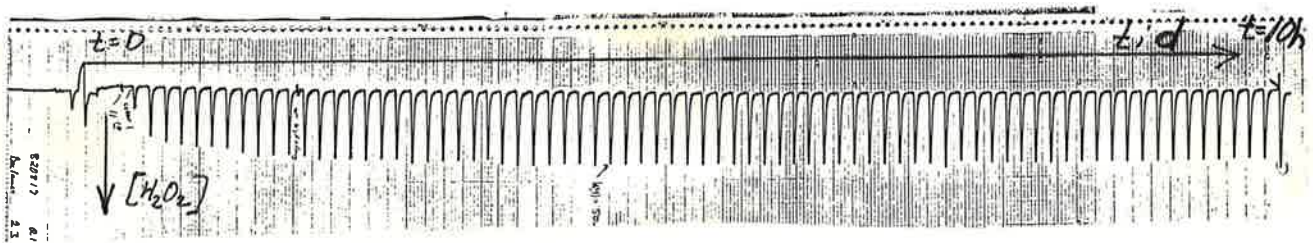
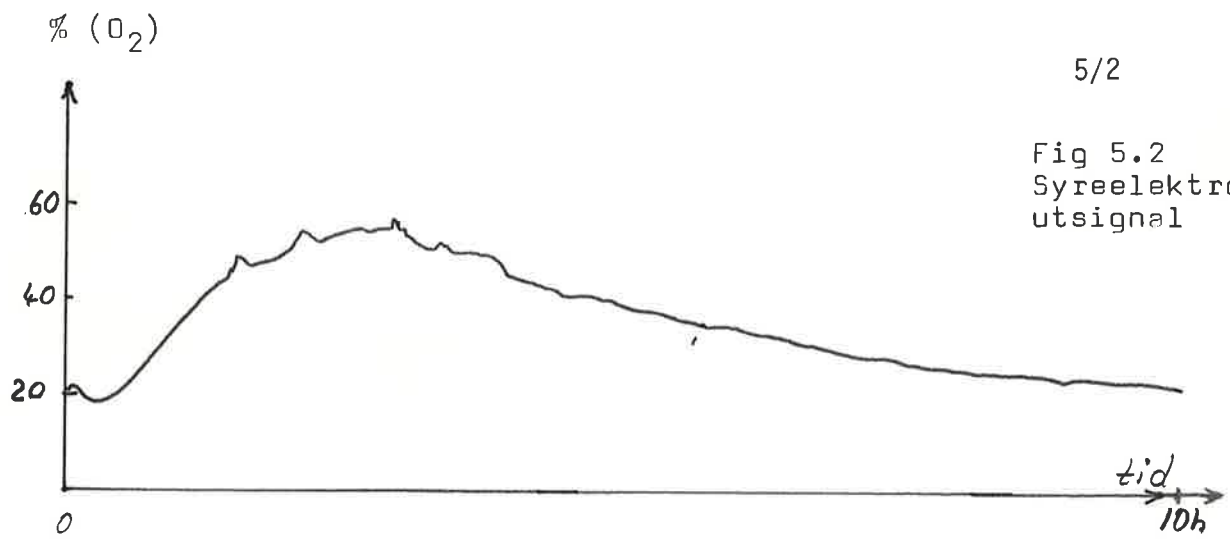


Fig 5.3
Enzymtermistorns utsignal

Fig 5.2 och 5.3 tillhör försöket enl. fig 5.1. Observera att tidskalan är lika och hur topparna från enzymtermistorn kommer var 8:e min. På samma sätt tillhör fig 5.5 och fig 5.6 försöket i fig 5.4.

KALMANFILTRERING

Detta försök gjordes som test på programmet KALREG i Appendix A.

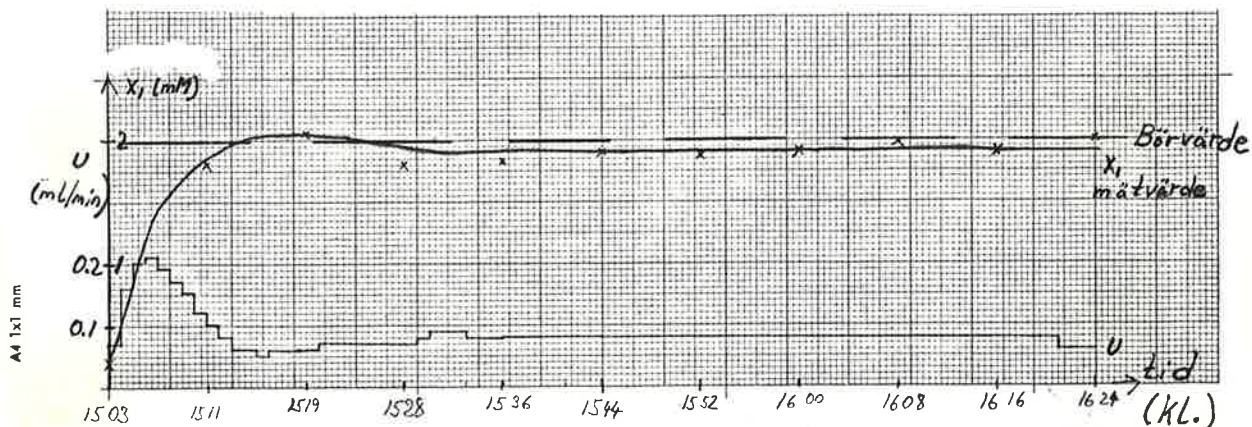


Fig 5.4
Försöksresultat kalmanfiltrering

Polplacering och integratoråterkoppling gjordes på samma sätt som i simuleringen enl. fig 4.2.

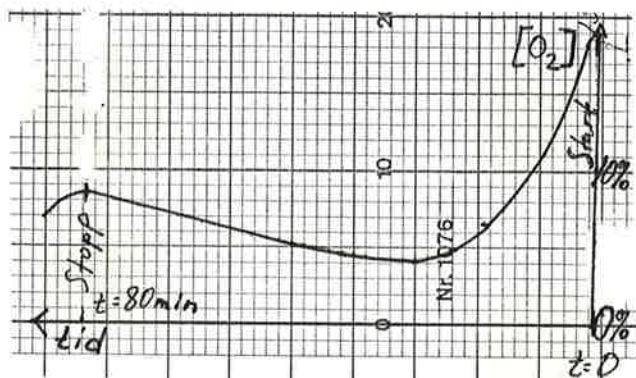


Fig 5.5
Syreelektrodens utsignal

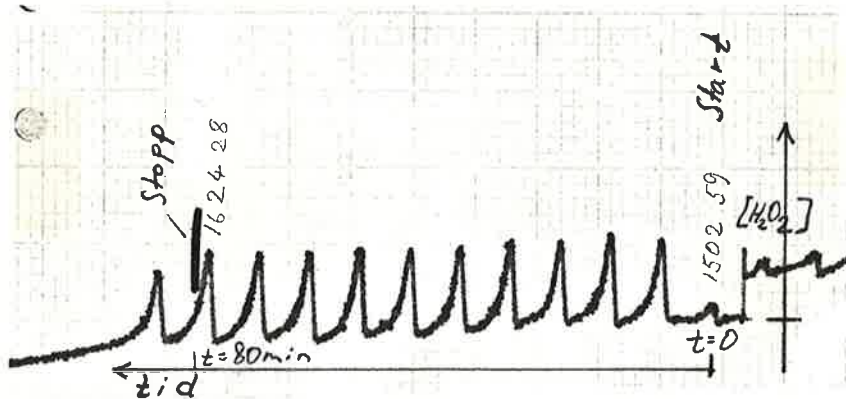


Fig 5.6
Enzymtermistorsignalen

SIMULERING MED PI-REGLERING

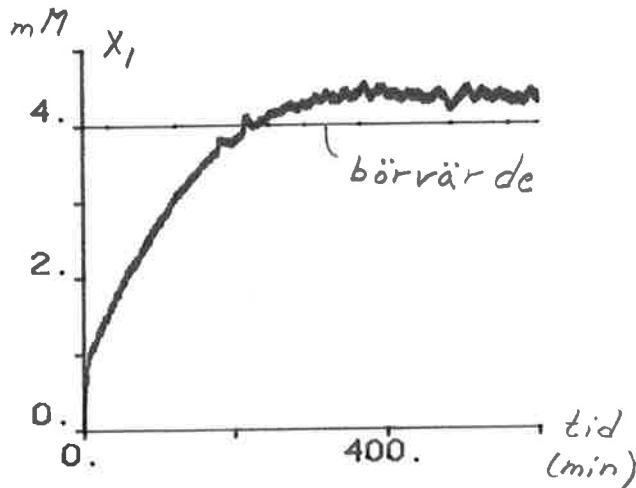
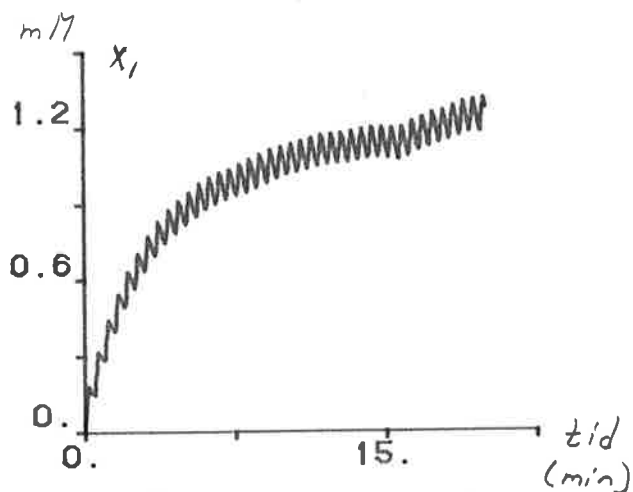
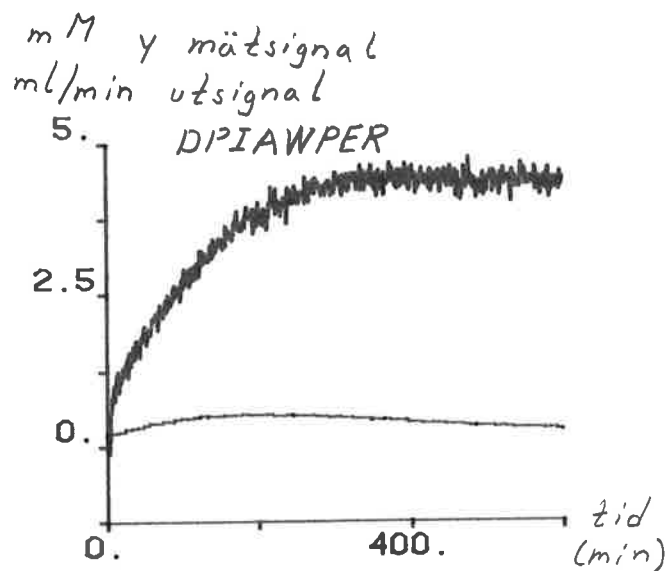
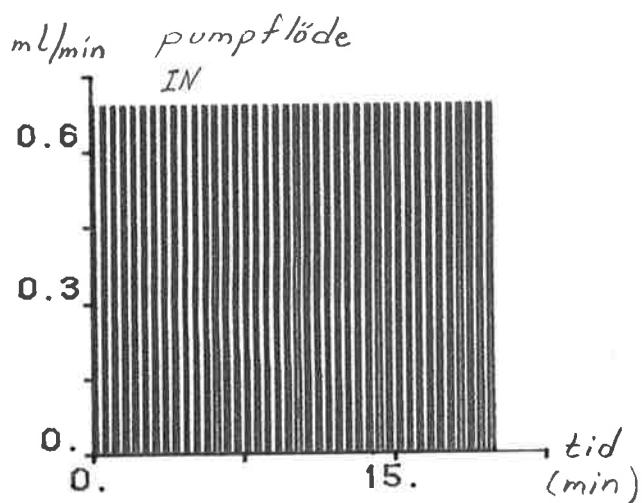
Vi simulerade en PI-reglering av vår process. Vi har använt samma värden som i detta kapitel's försök med PI-reglering. Dessutom har vi i modellen av processen försökt efterlikna verkligheten, genom att införa XCELL. Till volymökningen har ingen hänsyn tagits.

Brus

Mättsignalen är processtillstånd + ett brus med $\text{stdev}=0.1$.

Fig 5.7
Simulering av PI-reglering.
Lägg märke till hur x_1 beror av pumpflödets diskontinuitet.

83.01.15 - 13:30:14
HCOPIY



Resultat Regleringen är lite för långsam. Detta beror på att vi har haft för stor integrationstid i PI-regulatorn. Vi har medvetet valt den stor i försöket eftersom processens tidskonstant ändras och att vi inte känner den exakt innan försöket påbörjats.

KOMMENTARER TILL SIMNON-PROGRAM

ORDN1SYS XCELL är ett försök att efterlikna cellernas minskande H_2O_2 -
nedbrytningsförmåga.

PEROMV Detta program omvandlar en kontinuerlig insignal till en
signal som varierar mellan min och max i ett antal perioder.

```
CONTINUOUS SYSTEM ORDN1SYS
INPUT IN
OUTPUT UT
STATE X1 XCELL
DER DX1 DXCELL
DX1=-X1*XCELL/T2+(INKONCX/V)*IN
DXCELL=-XCELL/T3
UT=X1
INKONCX:500
T2:3
T3:500
XCELL:1
V:300
END
```

```
DISCRETE SYSTEM DPIAWPER
INPUT Y UC
OUTPUT U TSS ULOW UHIGH HSYS
STATE I
NEW NI
TIME T
TSAMP TS
E=UC-Y
I1=I+K*E*H/TID
V=K*E+I1
U=IF V<ULOW THEN ULOW ELSE IF V<UHIGH THEN V ELSE UHIGH
NI=I1+U-V
TS=T+H
TSS=TS
HSYS=H
ULOW=UL
UHIGH=UH
H:8.09 "SAMPLING PERIOD
K:0.042 "PROPORTIONAL GAIN
TID:25 "RESET TIME
UL:0 "LOW OUTPUT LIMIT
UH:0.69 "HIGH OUTPUT LIMIT
END
```

```
CONTINUOUS SYSTEM PEROMV
INPUT KONT HSYS UHIGH ULOW TSSYS
OUTPUT ONOFF
TIME T
TLOK=T-TSSYS+HSYS
PERNR=INT(TLOK/PERTID)
PERTID=HSYS/PERANT
TSTOPP=((KONT-ULOW)*HSYS/(UHIGH-ULOW))/PERANT
ONOFF=IF TLOK<TSTOPP+PERNR*PERTID THEN UHIGH ELSE ULOW
PERANT:16
END
```

```
CONNECTING SYSTEM PIREGPER
TIME T
IN[ORDN1SYS]=ONOFF[PEROMV]
KONT[PEROMV]=UC[DPIAWPER]
UC[DPIAWPER]=IF T<100 THEN A1 ELSE A2
A1:4
A2:4
HSYS[PEROMV]=HSYS[DPIAWPER]
TSSYS[PEROMV]=TSS[DPIAWPER]
ULOW[PEROMV]=ULOW[DPIAWPER]
UHIGH[PEROMV]=UHIGH[DPIAWPER]
TD1[DELAY]=T-2.75
U1[DELAY]=UT[ORDN1SYS]
Y[DPIAWPER]=Y1[DELAY]+E1[NOISE1]
END
```

6. REGLERING, FRIA CELLER

Två st försök med fria celler och försöksuppställning enl. fig 1.1. I detta kapitel finns de mest omfattande resultaten. Vi använde PI-regleringen från Appendix A. Börvärde för (H_2O_2) var i försök I 0.5 mM och i försök II 0.3 mM.

FÖRSÖK, PI-REGLERING

UTFÖRANDE

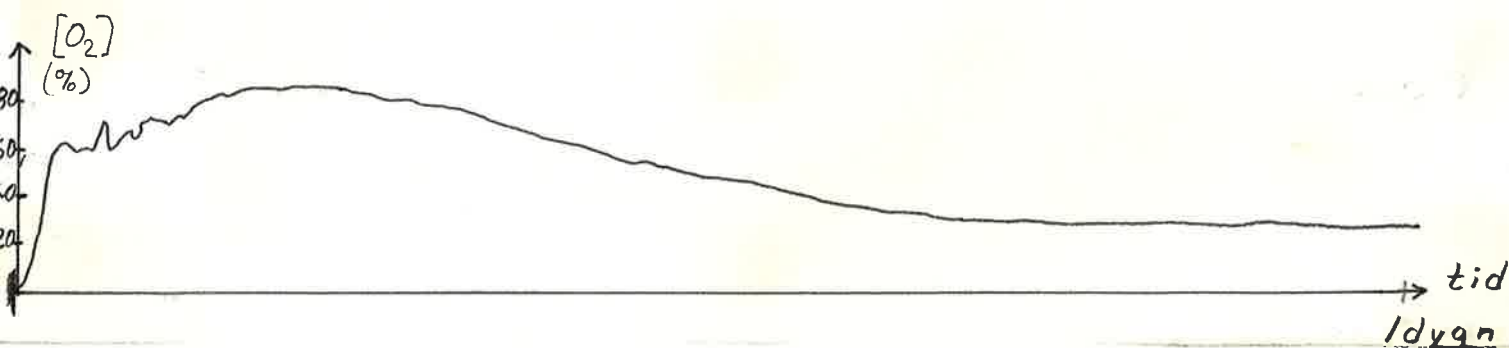
- Lagring av celler** Cellerna till försök I hade lagrats 8 dygn medan cellerna till försök II lagrats i 2 dygn.
- Uppstart** Försöken startade något olika. Cellerna fick cirkulera i systemet under 4 timmar innan försök I började. Men vid försök II började försöket omedelbart då cellerna tillsatts.
- Reglering** Vi använde oss av PIPERPER i bägge försöken. Tyvärr var regulatorn felaktigt justerad i början av försök II och vi fick en stor översläng. P.g.a. att den cellfria lösning ska passera njuren blir tidsfördröjningen för mätsignalen något större än vid immobiliserade celler.
- Mätmetoder** Mätningarna sker enl. de metoder som beskrivits i kap 2. (Glycerol) beräknas enkelt då man känner (DHA) samt in- och utflöden.

FÖRSÖKSRESULTAT

Fig 6.1 och 6.3 visar vad som händer under ca. 1 dygn. För försök I visar vi endast (O_2), men (H_2O_2) har följt börvärdet, (dvs 0.5 mM) hela tiden. I figurerna 6.2 och 6.4 har försökets start expanderats. Observera att koncentrationsskalorna är olika i de olika figurerna, speciellt gäller detta (O_2) i fig. 6.4 .

Fig 6.1 Försök I .

Försöksresultat jfr X_2 i fig 6.3.



Jonny Olsson
20-11-82

FÖRSÖK I Försöksresultat

Fig 6.2

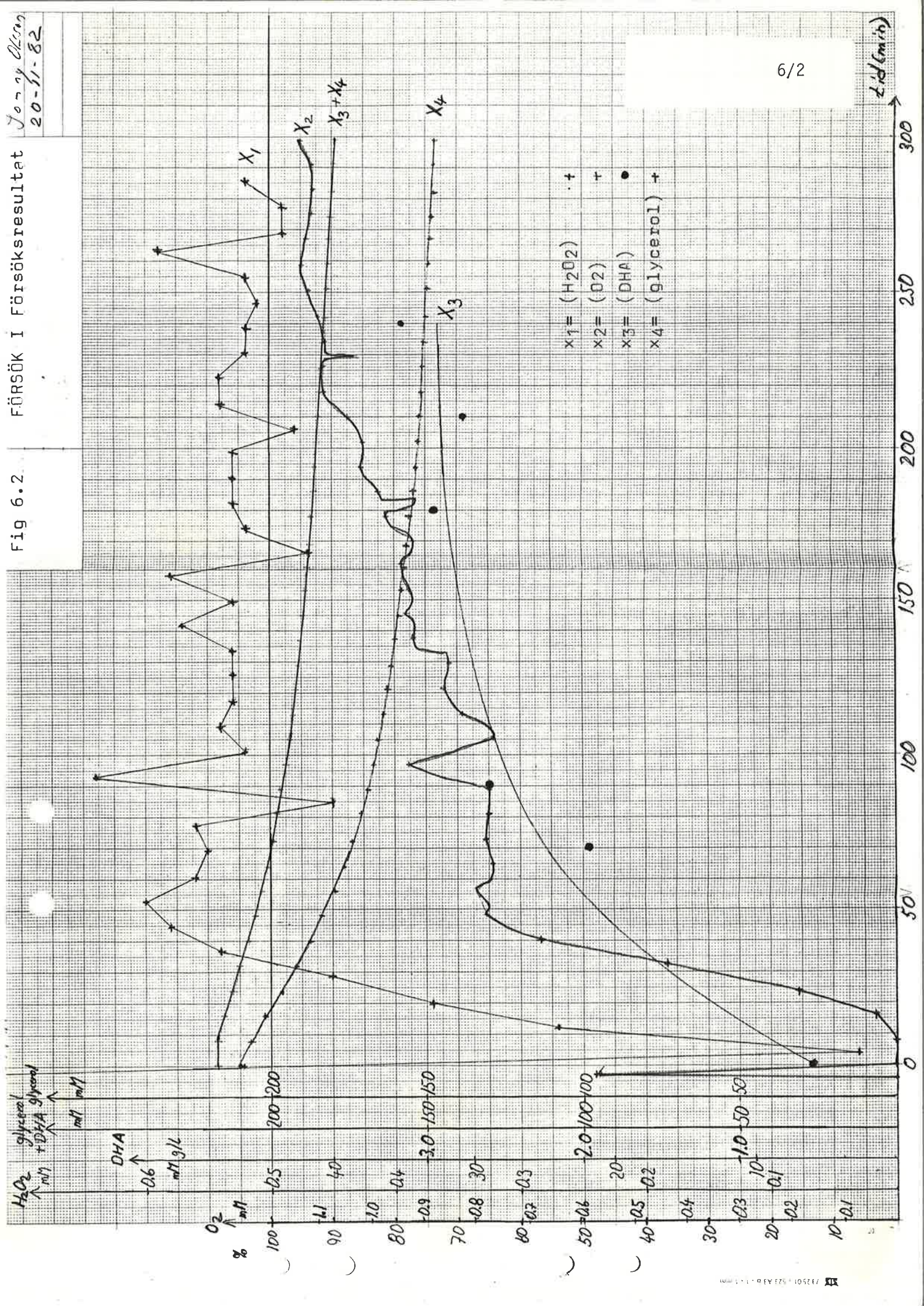


Fig 6.3

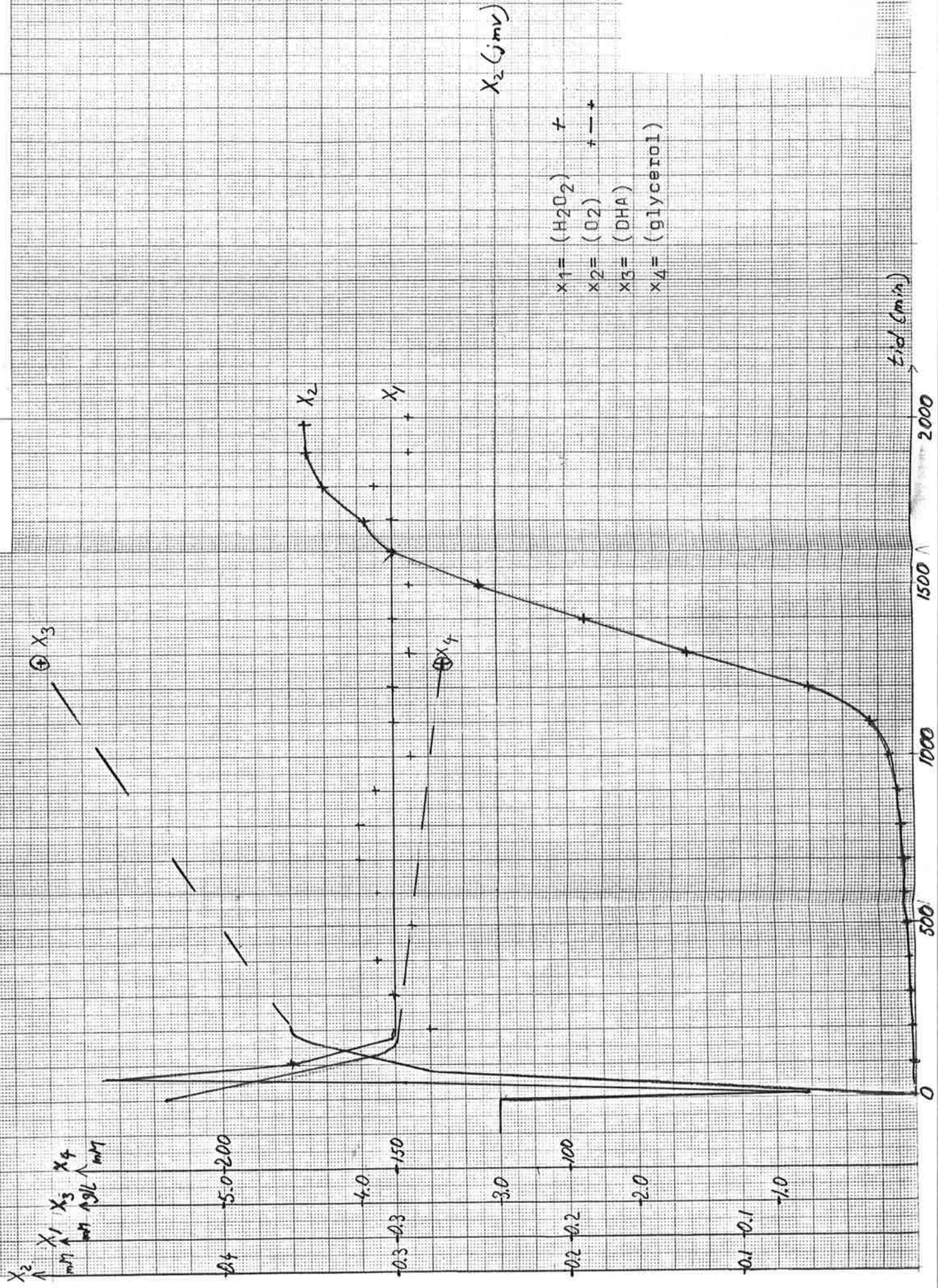
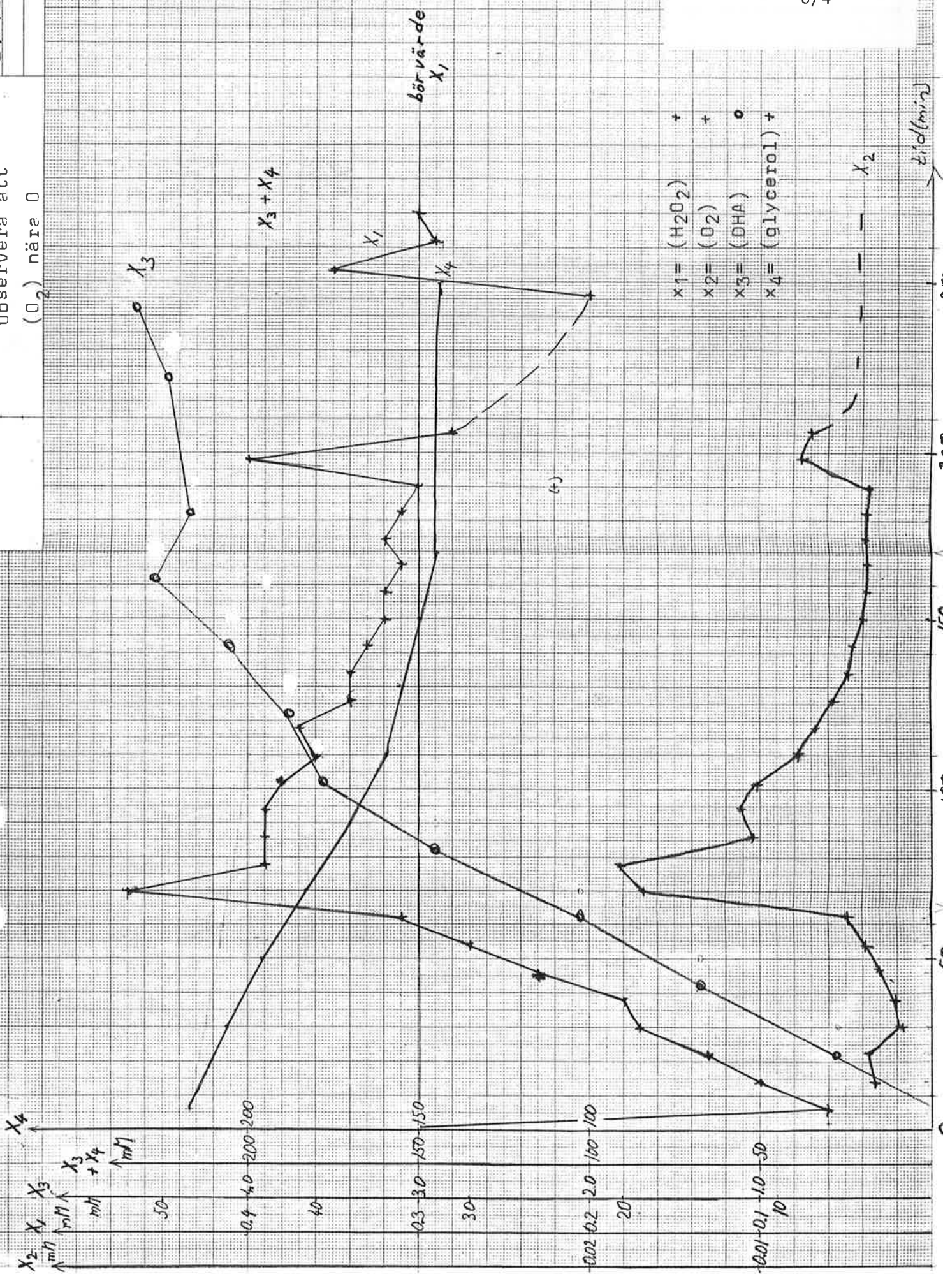


Fig 6.4



MODELL

Vi gissar en modell och ser efter om försöksresultaten överensstämmer. Vi gör en utvidgning av 4(1) och 4(2) genom att ta med x_2 , x_3 och x_4 .

$$\dot{x}_1 = -k_1 x_1 a_1 - \frac{ut}{V} x_1 + \frac{c_1}{V} u \quad (1)$$

$$\dot{x}_2 = \frac{1}{2} k_1 x_1 a_1 - \frac{ut}{V} (x_2 - x_2(jmv)) - g - \frac{1}{2} f a_2 \quad (2)$$

$$\dot{x}_3 = f a_2 - \frac{ut}{V} x_3 \quad (3)$$

$$\dot{x}_4 = -f a_2 - \frac{ut}{V} x_4 + \frac{c_4}{V} w \quad (4)$$

$$ut = u + w \quad (5)$$

$$y(t) = x_1(t - t_d) \quad (6)$$

där $x_1 = (H_2O_2)$ i fermentorn

$x_2 = (O_2)$ i fermentorn

$x_2(jmv) = (O_2)$ vid jämvikt med luft.

$x_3 = (DHA)$

$x_4 = (glycerol)$

$V =$ volym i systemet A, B, C och slangar

$y =$ vår mätsignal från enzymtermistorn.

$k_1 =$ hastighetskonstant för H_2O_2 -nedbrytning

$c_1 = (H_2O_2)$ i inpumpad lösning

$c_4 = (glycerol)$ i inpumpad lösning

$u =$ insignal till processen. Inflöde av H_2O_2 -lösning

$w =$ inflöde av glycerol-lösning

$ut =$ utflödet av produkt

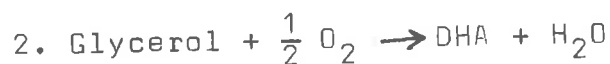
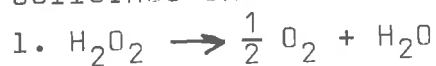
$g =$ transport av syre till eller från luften

$f =$ den nyttiga produktionen av DHA.

<u>Försöksdata</u>	<u>I</u>	<u>II</u>
V	1.14 l	1.4 l
TS-halt	0.91g/l	1.0g/l
förstärkning K	1	1 före 0.2 efter
tidskonstant Ti	5	5 justering 6 justering
tidsfördröjning av mätsignal	ca 4 min	ca 4 min
mätintervall enzymtermistor	8.10 min	8.10 min
max pumpflöde	7.4ml/min	6.52ml/min
konc. på ingående H ₂ O ₂ -lösning	483mM	524mM

Cell-aktivitet

Vi vet att nedbrytningen av H₂O₂ och produktionen av DHA minskar kraftigt då cellerna utsatts för H₂O₂. Det vore naturligtvis av stort intresse att veta exakt hur denna försämring av cellerna sker. Vi införde därför beteckningarna a₁ a₂ a₃ och kallar a_i cellernas aktivitet för reaktion i.



3. förökning av cellen (Mäts med cfu. se kap 1 Beteckningar).

Vi bestämmer oss för att aktiviteten=1 då försöket inleds dvs då t=0.

UTVÄRDERING

M h a modellen (1) - (6) kan vi utvärdera försöket. Då vi nu känner allt utom

$$z_1 = k_1 x_1 a_1 \quad (7)$$

$$z_2 = g \quad (8)$$

$$z_3 = f a_2 \quad (9)$$

kan vi beräkna dessa genom att använda oss av våra mätvärden vid varje sampling. Egentligen har vi färre antal mätningar än så, ty (DHA) är uppmätt ett betydligt färre antal tillfällen.

Fig 6.3 Försök 1
 Z_1 Z_2 Z_3

26-11-82
 Jenny Olsson

6/8

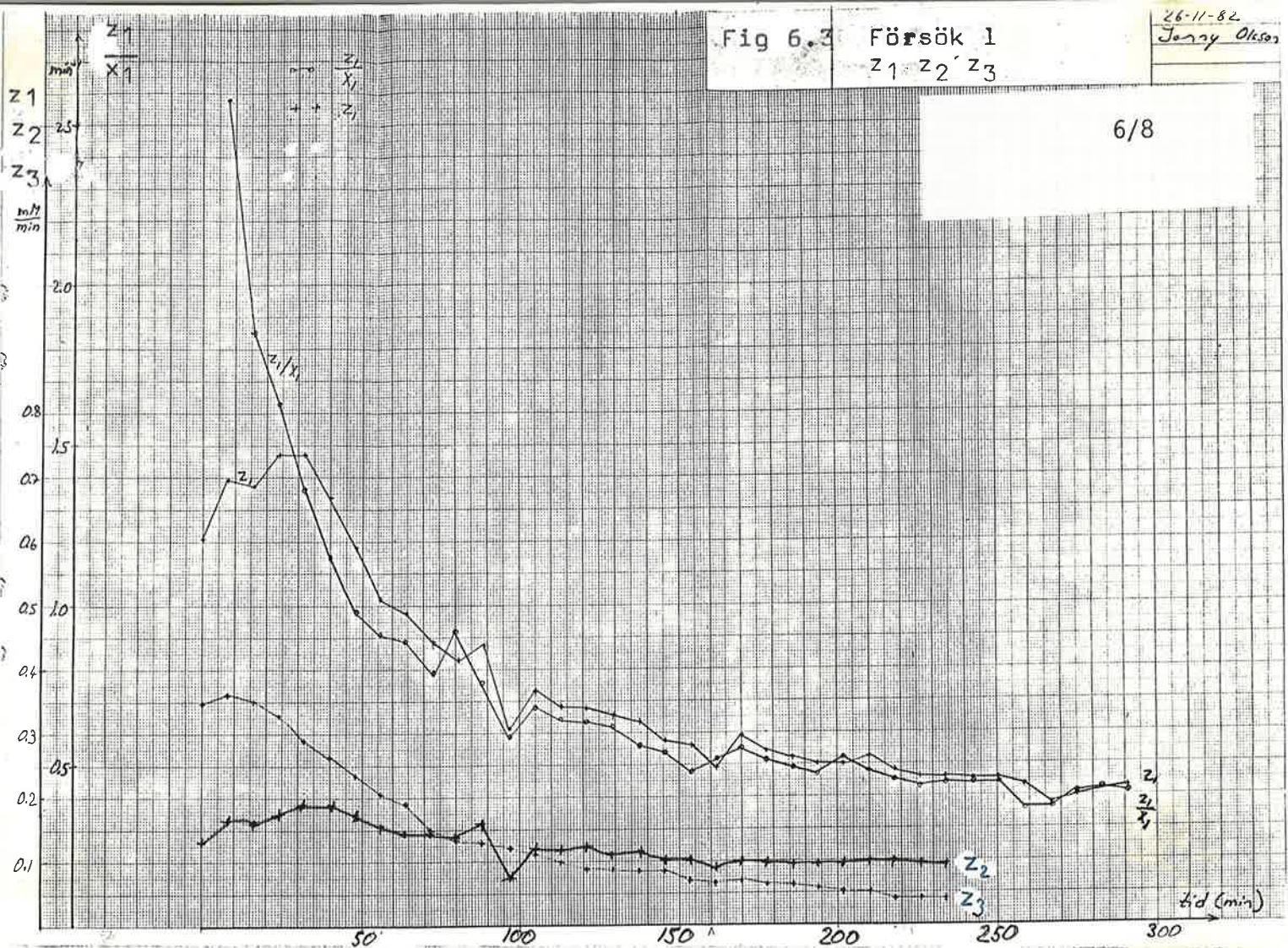
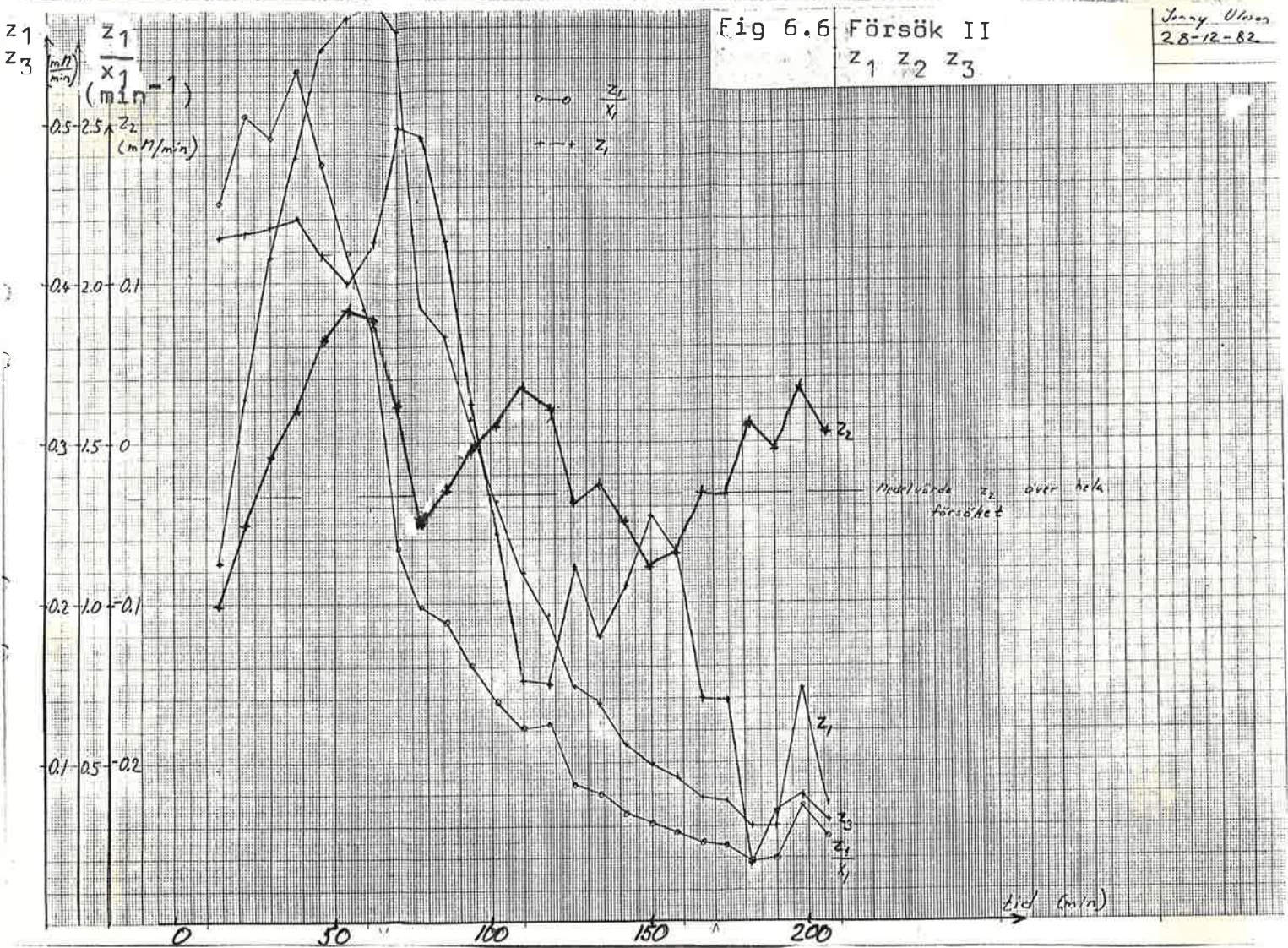


Fig 6.6 Försök II
 Z_1 Z_2 Z_3

Jenny Olsson
 28-12-82



Kommentar till fig 6.5 och 6.6

$$z_1 = k_1 a_1 x_1 \quad (7)$$

$$\Rightarrow \frac{z_1}{x_1} = k_1 a_1$$

z_2 uppför sig inte som den borde. Den måste bero av $x_2 - x_2(\text{jmv})$. I början av försök I borde den därför vara negativ, för att sedan öka. I försök II borde den vara negativ hela tiden och ungefär konstant, ty $x_2 \approx \text{konstant} = 0$. Avvikelserna kan bero på för få DHA mätningar (I försök I 6 st, i försök II 10 st). Det kan också vara så att modellen är otillfredställande.

Aktivitetens avtagande

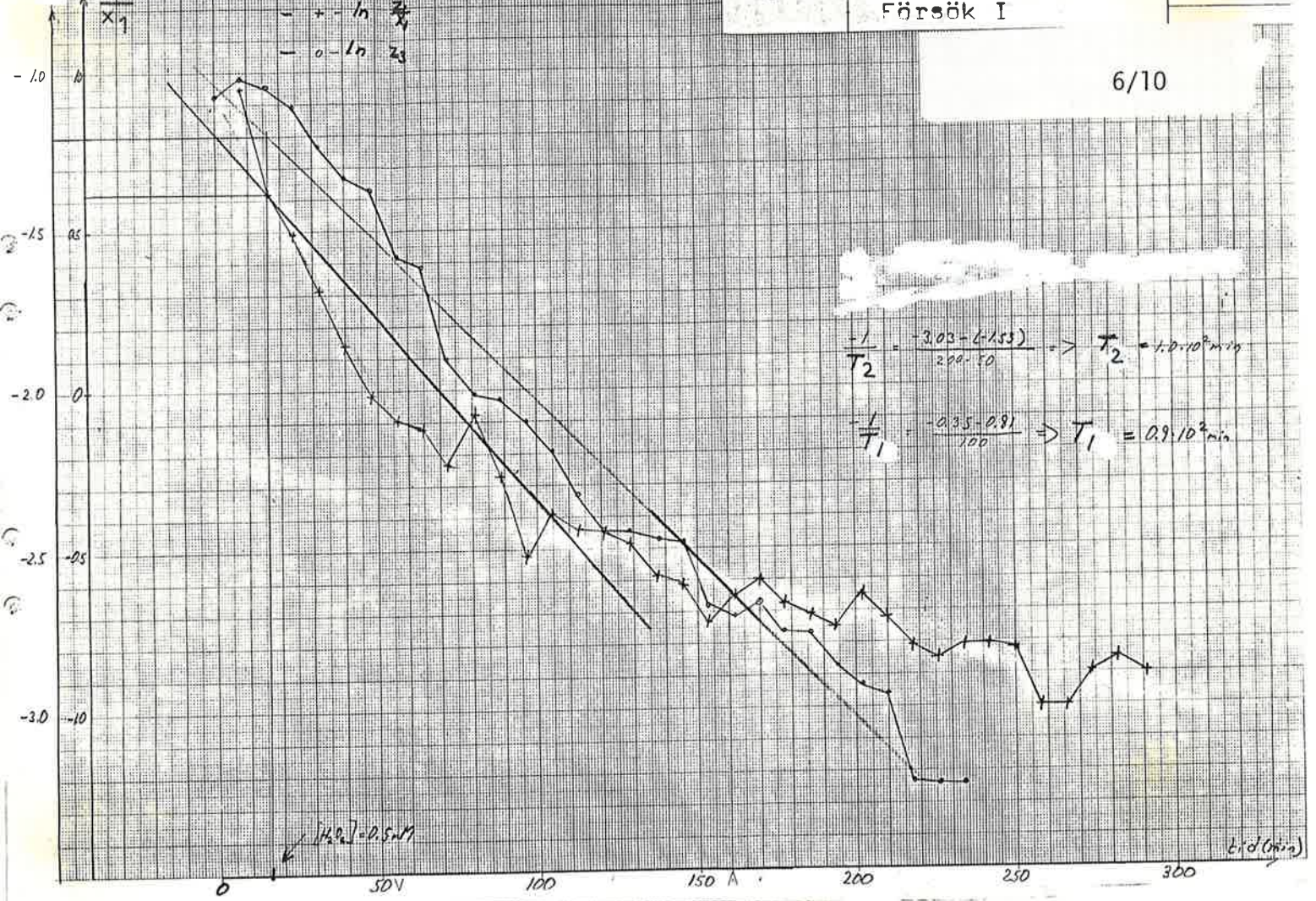
Då vi hållit (H_2O_2) konstant, (det är ju H_2O_2 som förstör cellerna), gör vi antagandet att $\dot{a}_i = -\frac{1}{T_i} a_i$ (10). Detta testar vi i fig 6.7 6.8 och 6.10. För att detta ska vara möjligt måste z_i vara en funktion av a_i endast (dvs i (9) $f = \text{konstant}$).

ln z₂

Fig 6.7 Test av (10) Försök I

Jenny Olsson 26-11-82

6/10



ln z₁ / x₁

Fig 6.8 Test av (10) Försök II

Jenny Olsson 28-12-82

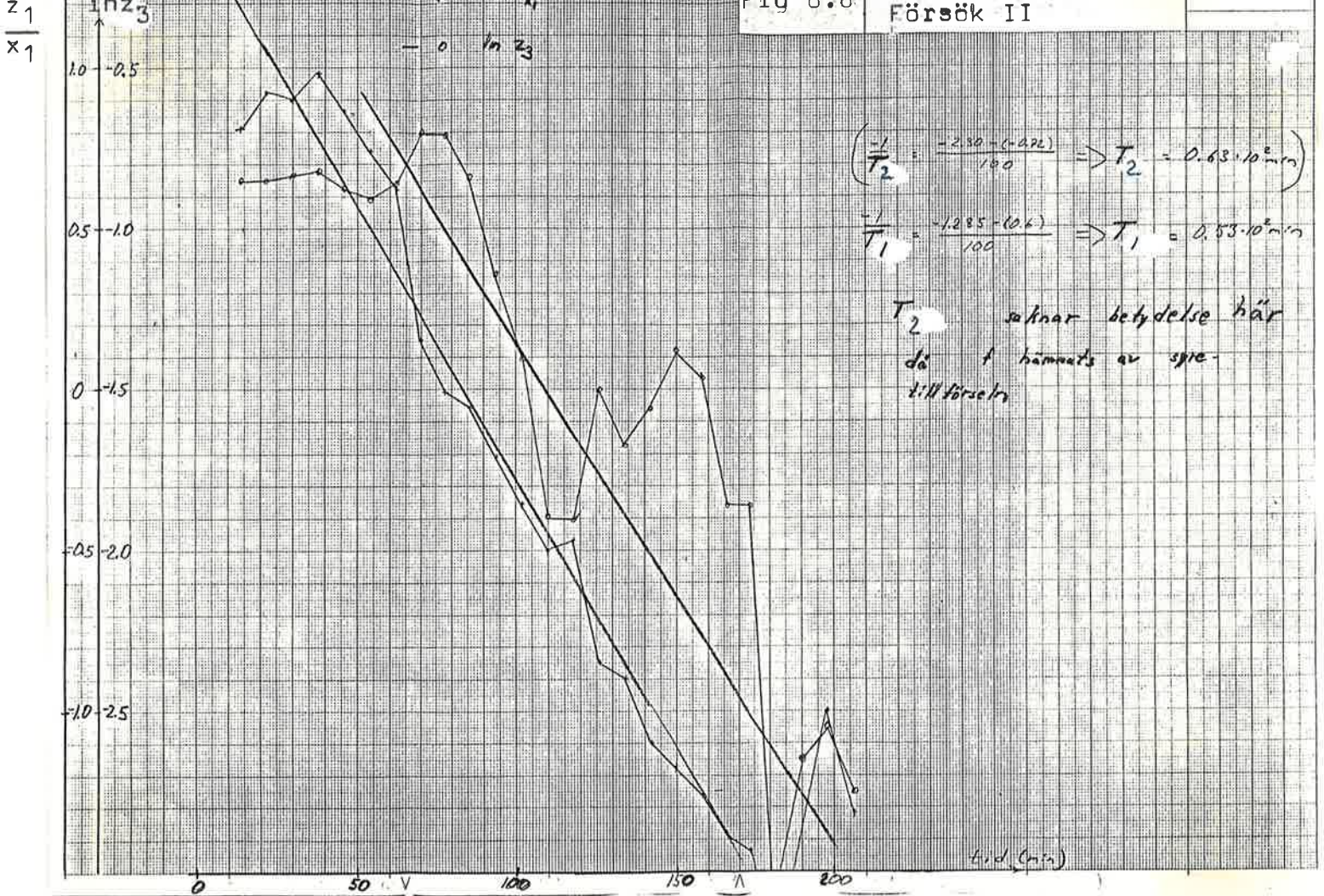


Fig 6.9: Försök I
Samma som fig 6.10
Linjär skala

N cfu

Linjär skala

600

500

400

300

200

100

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 Tid (tim)

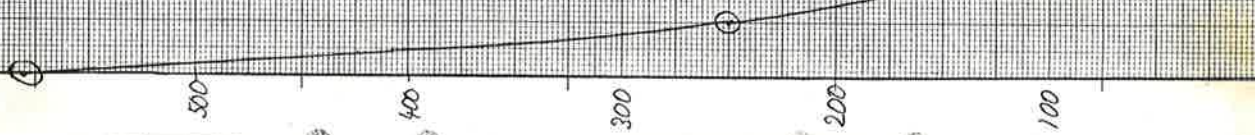


Fig 6.10 Försök I
Test av (10) $a_3 = \frac{1}{T_3} a_3$
Logaritmisk skala

lnN

200

15

10

5

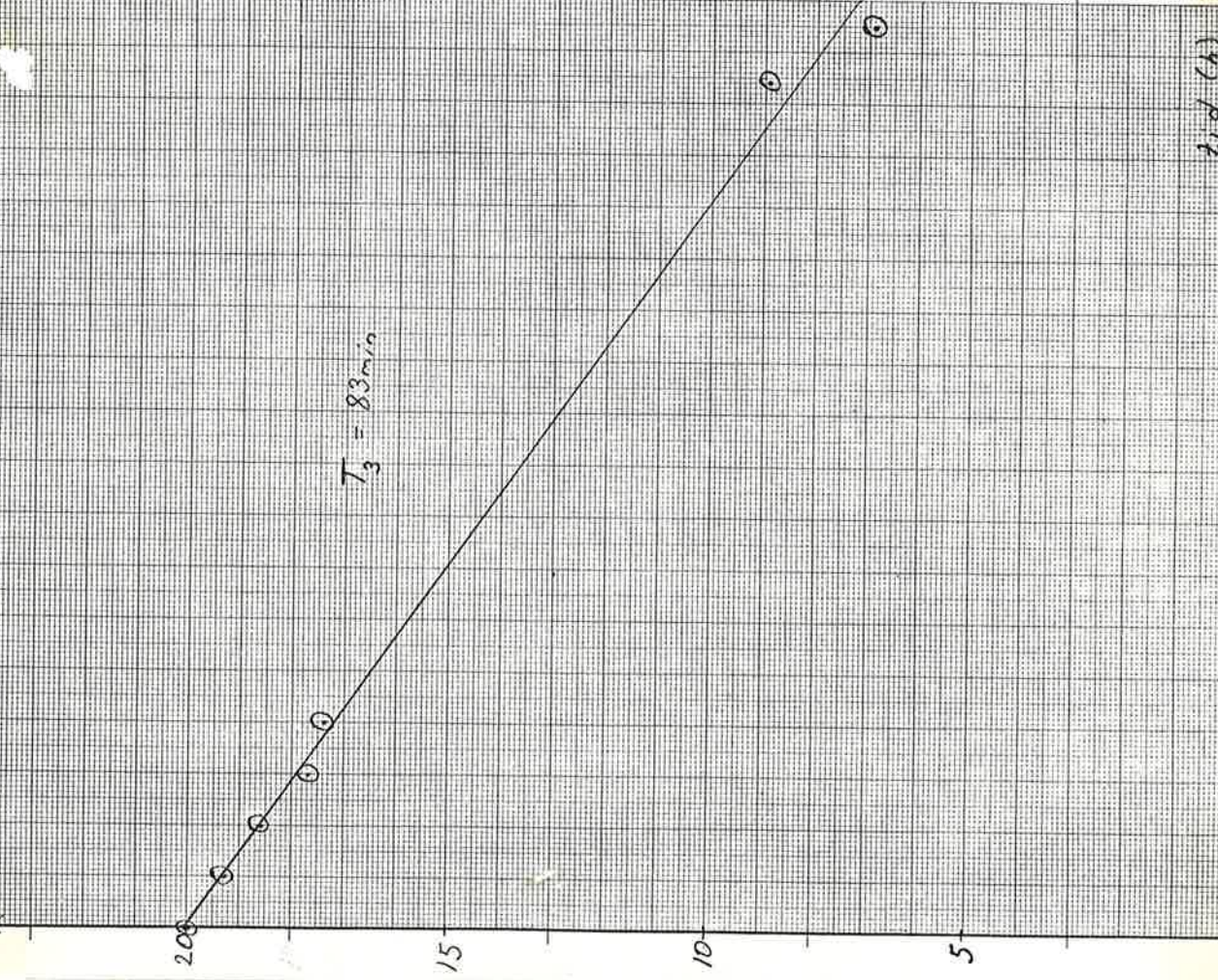
$T_3 = 83 \text{ min}$

Tid (h)

15

10

5



Resultat

	<u>Försök I (0.5mM)</u>	<u>Försök II (0.3mM)</u>
T ₁	0.9 · 10 ² min	0.5 · 10 ² min
T ₂	1.0 · 10 ² min	_____
T ₃	0.83 · 10 ² min	_____

Cfu-test utfördes endast för I. T₂ kan inte bestämmas i II då cellerna då var syrebegränsade.

Vi hade väntat oss att T i försök II > T i försök I (lägre (H₂O₂)), men så blev det inte. Eventuellt beror det på skillnader hos cellerna (se Utförande, lagring och uppstart).

Att T₁ ≈ T₂ ≈ T₃ gör att rekonditionering åtminstone vid dessa H₂O₂ koncentrationer och vid fria celler inte verkar lösnande.

(Den aktivitet som finns kvar är lika stor som andelen levande celler)

	<u>I</u>	<u>II</u>
f	0.30mM/min	1.1mM/min
f/TS	1.8gDHA h ⁻¹ (g celler) ⁻¹	5.9gDHA h ⁻¹ (g cell) ⁻¹
k	1.85 min ⁻¹	3.5 min ⁻¹
k/TS	2.05 min ⁻¹ (g celler/l) ⁻¹	3.5 min ⁻¹ ($\frac{g \text{ celler}}{I}$) ⁻¹

Observera att k och f är initialhastigheter

Anta att $g = c(X_2 - X_2(jmv))$. Vi kan nu beräkna c.

Approximativ bestämning av g

	<u>I</u>	<u>II</u>
c	0.2min ⁻¹	0.07min ⁻¹

Skillnaden kan tänkas bero på att i I har vi stort övertryck i lösningen. c beräknas genom att jämföra hur mycket DHA som bildats med den syremängd som krävs för detta, eller

$$c = \frac{z_2}{\text{medelvärde}(X_2 - X_2(jmv))}$$

Observera att c är starkt beroende av försöksuppställningen.

Jämför- Det är av intresse att konstatera att aktiviteten hos fria celler
else har försvunnit betydligt snabbare än vad den gjorde för de immobil-
mellan fria iserade i kap.5, detta trots att (H₂O₂) var betydligt högre för de
och immobiliserade cellerna.
immobiliserade celler

Fig 6.11 Försök I
 $a_1 = a_1(t)$ längre tidsperiod

6/13

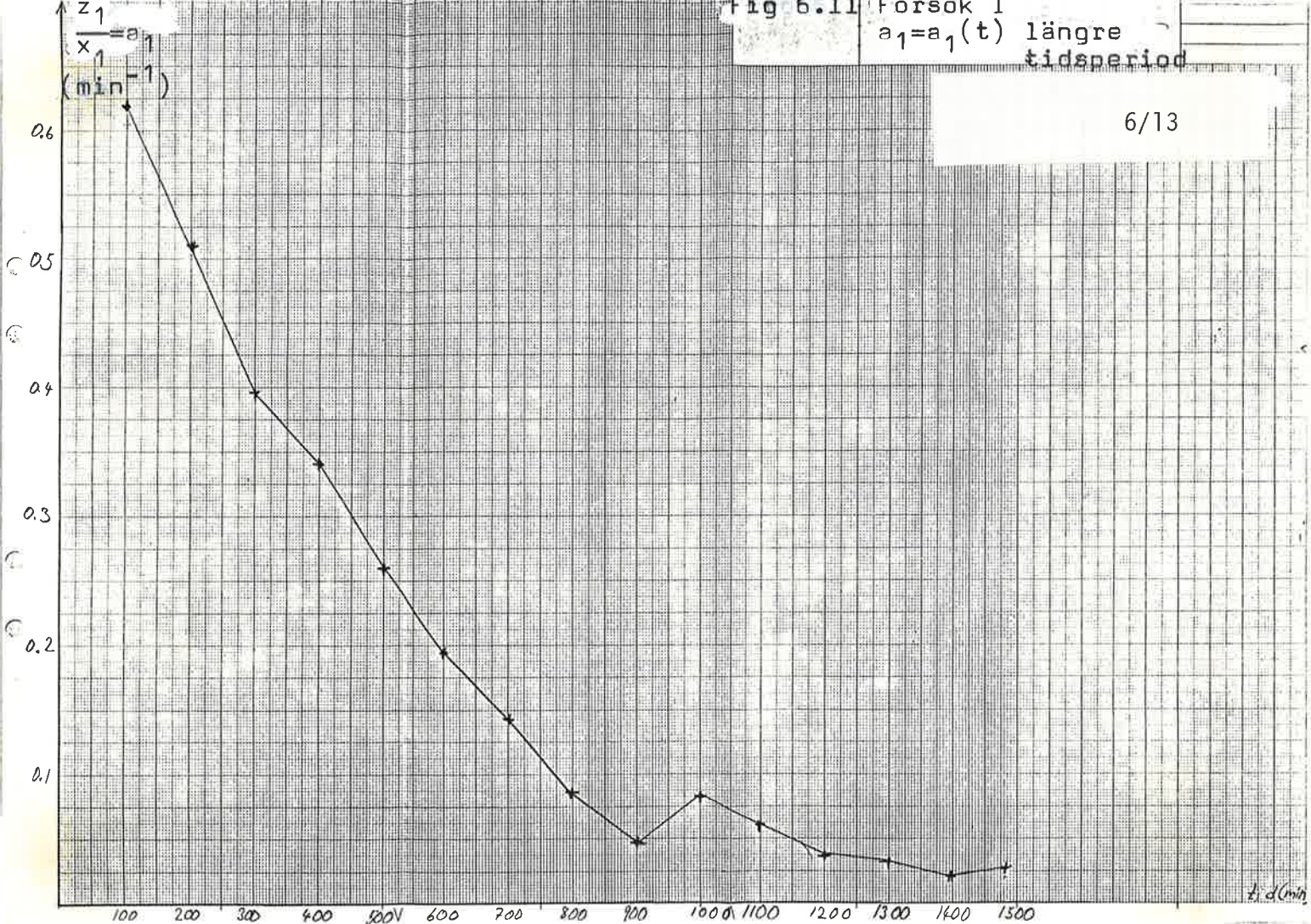
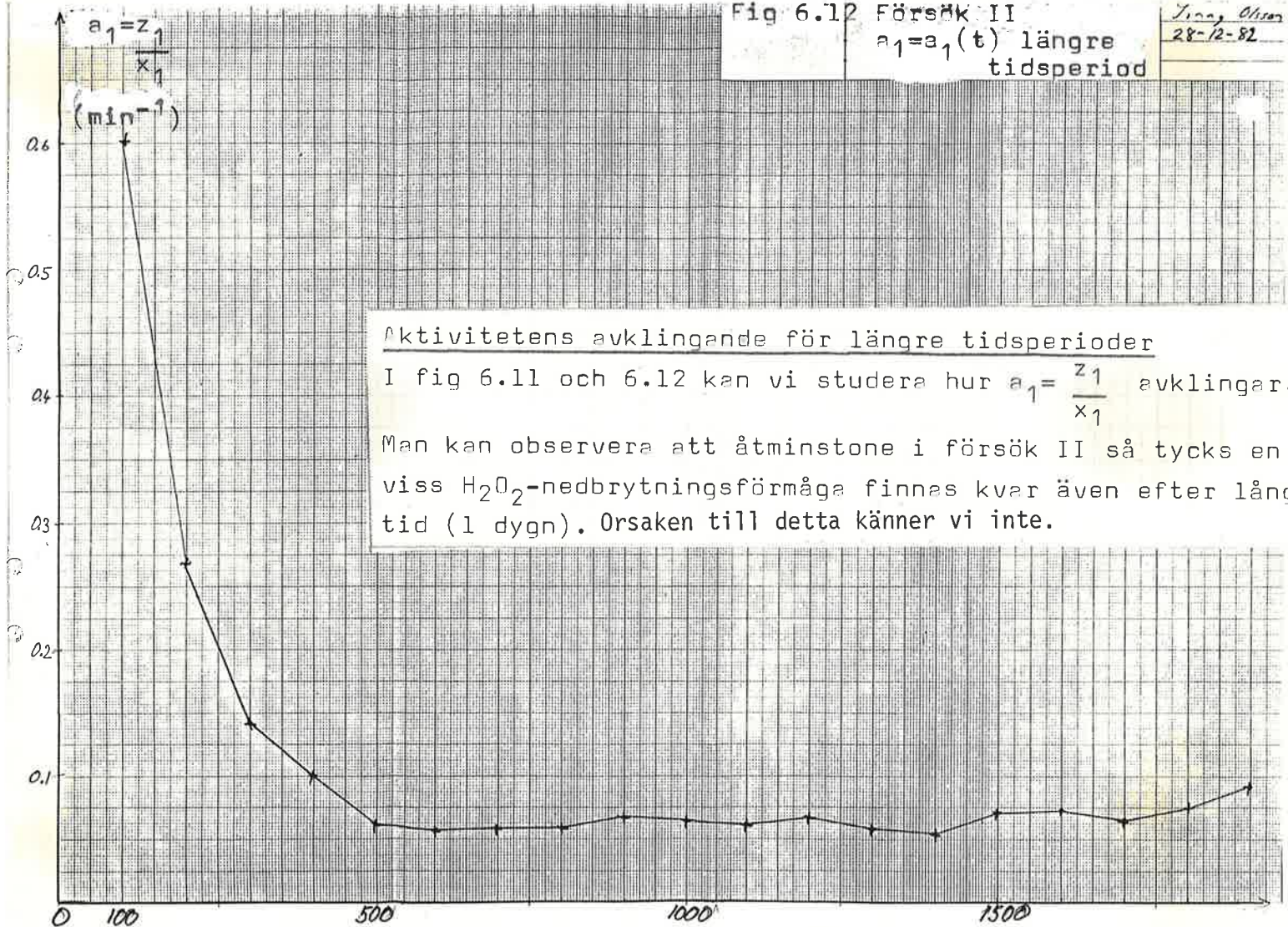


Fig 6.12 Försök II
 $a_1 = a_1(t)$ längre tidsperiod

Lena Olsson
 28-12-82



Aktivitetens avklingande för längre tidsperioder
 I fig 6.11 och 6.12 kan vi studera hur $a_1 = \frac{z_1}{x_1}$ avklingar.
 Man kan observera att åtminstone i försök II så tycks en viss H_2O_2 -nedbrytningsförmåga finnas kvar även efter lång tid (1 dygn). Orsaken till detta känner vi inte.

APPENDIX A

Här följer nu de två ABC 80-program som använts för att reglera processen och dessutom ett enkelt flödestestprogram för en pump.

Reglerprogram

(se kap 1 Implementerade regulatorer). Reglerprogram för PI-reglering kallas PIPERPER och programmet med kalmanfilter KALREG. Gemensamt för båda är att de behöver en fil där de loggar data och en där operatörens konstanter sparas. Dessutom behövs ett program för att skriva ut datafilen på printer.

Reglerprogram	Utskriftsprogram	konstantfil	datafil
PIPERPER	PIPERPER.RES	KONSTANT.DAT	PEROXDOS.DAT
KALREG	KALREG.RES	KONSTKAL.DAT	PEROXDOS.DAT

Användning av programmen

Start	Programmen börjar med inläsning av konstanter och enzymtermistorns kalibreringskurva. Man får välja om man vill läsa in från tangentbord eller från konstantfilen. Det är viktigt att start av programmet synkroniseras med topp från enzymtermistor. Programmet väntar därför på en ökning av enzymtermistorsignalen med 30 bitar (ca 0.2mM) (se rad 2070). Först därefter kommer reglering att utföras. Man kan dock passera detta programavsnitt genom att slå in ett utropstecken (INP(56) ← 33).
Operatörs-kommunikation	Om man vill ändra en konstant under körning så slår man in ett utropstecken.
Varning	Glöm inte att ta bort utropstecknena även de som inte syns.
Körning	Under tiden som reglering pågår sker utskrift av (H ₂ O ₂) (O ₂) och styrsignal på bildskärm vid varje topp från enzymtermistorn. KALREG ger dessutom utskrift vid varje samplingstillfälle.
Tidsaspekt	ABC 80:s interna klocka fungerar ca 1.8 dygn från kl 00.00 den dag som programmet startats. Man måste ställa klockan innan man kör programmet. Om man tänker köra flera dagar måste programmet stoppas och klockan ställas. Man kan då byta namn på sin gamla datafil, för att inte skriva över sina resultat.
Beskrivning av gemensamma delar i programmen.	En del programdelar är likadana i de två programmen och en del av dessa får en viss förklaring här.

Filter Signalerna från enzymtermistor och syreelektrod får passera var sitt digitalt filter i ABC 80.

$$Y = 0.8Y + 0.2 U$$

(se rad 4550 i båda och 8455 i KALREG)

Eftersom samplingsintervallet = 0.14 s så har filtret sin skärfrekvens vid 1.6 Hz.

Rad 4000

Mätvärdet från enzymtermistor ger (H_2O_2)

I vektorn A1(20) finns en kalibreringskurva för enzymtermistorn. Vi interpolerar linjärt mellan de närmaste mätvärdena.

Inparameter V1=mätvärdet i %

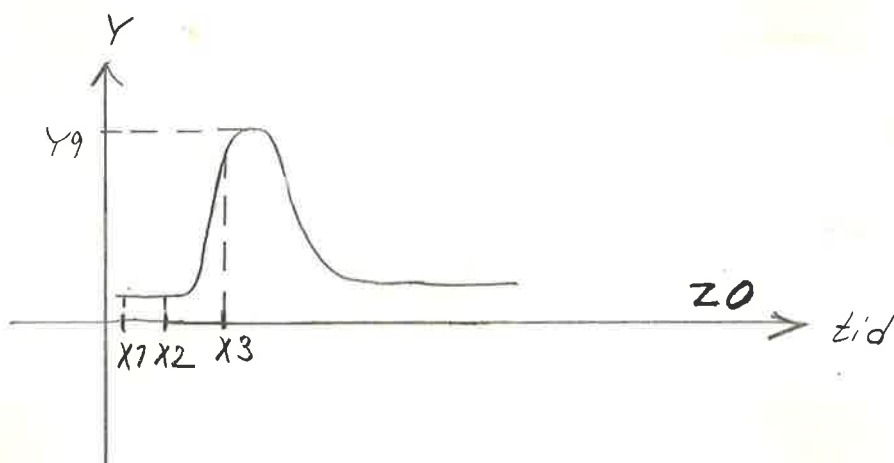
Utparameter V2=(H_2O_2) i mM

Rad 4500

Mätvärdesbehandling enzymtermistor

Två ggr avläser vi insignalen från enzymtermistorn. Medelvärdet filtreras in i Y som är den filtrerade insignalen.

Klockan avläses.



X1 X2 X3 har beräknats då förra toppen kom. Mellan X1 och X2 mäts baslinjens höjd (Y_1). Vid X3 måste derivatan vara > 0 . Topphöjden (Y_9) uppmäts vid tidpunkten T_9 . För att vara säkra på att vi hittat Y_9 väntar vi under 6 s. Om Y fortfarande mindre Y_9 så är Y_9 toppvärdet.

Synkroniseringen mellan pumpens (styrsignalens) perioder och toppen är kritisk men pumpen blir klar något snabbare än på ett samplingsintervall och kan därför köra ikapp.

Rad 8100

Tidsub

Vi hämtar systemtid och lägger den i Z0 som är tiden i 1/100 s
Z0= tid i s

Rad 8200

Pumpsu

Utför start och stopp av en pump.

Rad 8300

Enzymtermistormätning

M1% tilldelas enzymtermistor signalen.

Rad 8400

Syre-mätning

M3% tilldelas syresignalen. I KALREG är V5 den filtrerade syresignalen.

PROGRAMMET PIPERPER

Här följer nu en beskrivning av hur PIPERPER fungerar samt dess BASIC-kod.

Funktion Programmet har som mätsignal (H_2O_2) från enzymtermistorn. Med hjälp av PI-reglering (se rad 4800) till- och fränkopplas en pump. Pumpen pumpar in H_2O_2 -lsg i processen.

Viktiga variabler $K(9) = K(7) + K(8)$
 variablerna $K()$, betydelsen avläses i programmet.
 $V2 =$ mätvärde på (H_2O_2) i mM
 $V3 =$ utsignal från PI-regulatorn
 $T6 =$ den tid pumpen ska köra i varje period.

```

10 REM # RESET AV STATIVET (RESET) #
80 OUT 1%,2% : REM # KORTVAL
90 OUT 12%,15% : REM # ALLA BIT UT
100 OUT 0%,32%
110 OUT 0%,160% : REM # STATIV ADR. 0
120 OUT 0%,32%
130 OUT 0%,175% : REM # FRI. MODULERNA
140 OUT 0%,0%
1000 A%=2
1081 B%=3
1090 DIM A1(20)
1098 REM =====
1099 REM HÄR BÖRJAR INLÄSNING AV KONSTANTER
1100 ; "NYA KONSTANTER(N),SAMMA GAMLA(S),VISSA ÄNDRINGAR(V)"
1105 ; "VARNING OM DU INTE STOPPAR HÄR FÖRSTÖRS GAMLA VÄRDE PÅ PEROXDOS.DAT"
1110 GET A10
1120 IF A10="N" OR A10="n" THEN GOSUB 6000 ELSE GOSUB 7000
1130 IF A10="V" OR A10="v" THEN GOSUB 5000
1140 GOSUB 7100
1150 GOSUB 7200
1998 REM =====
1999 REM HÄR BÖRJAR STARTPROCEDUR
2000 Y1=47
2010 K(9)=K(7)+K(8)
2015 GOSUB 8100
2016 T0=20
2017 REM T0 ANVÄNDS FÖR INTEGRATION
2018 FOR T8%=1 TO 200
2020 GOSUB 4500
2025 NEXT T8%
2030 Y2=Y
2050 GOSUB 4500
2060 IF INP(56)=33 THEN GOTO 2100
2070 IF NOT Y-Y2>30 GOTO 2050
2100 REM X1=0 X2=0 X3=0
2110 Y9=Y-1000
2150 ; "TOPP ÄR PÅ VÄG"
2175 OPEN "PEROXDOS.DAT" ASFILE 1
2180 GOSUB 7300
2200 GOTO 3400
2998 REM =====

```

2999 REM HÄR BÖRJAR HUVUDPROGRAMMET

3000 V1=(Y9-Y1)*125/2048

3003 V5=0

A/5

3004 REM NU KOMMER SYREMÄTNING

3005 FOR T%=1 TO 50

3006 GOSUB 8400

3007 V5=V5+M3% : NEXT T%

3008 V5%=INT(2*V5/17.5+.5)

3010 GOSUB 4000

3015 V1%=INT(V1*100+.5)

3020 GOSUB 4500

3030 GOSUB 4800

3033 V2%=INT(V2*100+.5)

3035 V4=V3*K(9)

3037 V4%=INT(V4*100+.5)

3040 GOSUB 4500

3042 X1=VAL(T9\$)/100+K(9)*60-110

3043 X2=X1+5

3044 X3=X2+65

3048 IF COMP%(T9\$, '8640000')>0% THEN T9\$=SUB\$(T9\$, '8640000', 0%) : GOTO 3048

3050 GOSUB 4900

3051 GOSUB 4960

3060 GOSUB 4500

3080 T5=(V4/K(2))*60

3090 T6=T5/16 : T6=T6+.07 : T6=T6*100

3100 H5%=0

3140 GOSUB 4500

3150 S2=20

3200 GOSUB 4500

3210 S2=S2+60*K(9)/16

3220 H5%=H5%+1%

3230 P3\$=ADD\$(Z\$, NUM\$(T6), 0%)

3240 IF COMP\$(SUB\$(P3\$, '10', 0%), Z\$)=1 THEN GOSUB 8210

3250 GOSUB 4500

3260 IF COMP\$(P3\$, Z\$)=1 THEN GOTO 3250

3270 GOSUB 8215

3275 IF H5%>=16 THEN GOTO 3400

3280 GOSUB 4500

3285 IF INP(56)=33 THEN GOSUB 5000

3290 IF S2>20 THEN GOTO 3280

3300 GOTO 3200

3400 GOSUB 4500

3410 IF COMP\$(ADD\$(T9\$, '600', 0%), Z\$)=1 THEN GOTO 3400

3420 GOTO 3000

3500 END

4000 REM SUB =====

4001 REM MÄTVÄRDET BLIR KONC

4005 IF V1<=0 THEN V2=0 : GOTO 4060

4006 IF V1>=100 THEN V1=100

4010 FOR T%=1% TO 20%

4020 IF A1(T%)>.01 AND A1(T%)<V1 THEN L1=A1(T%) : L1%=T%

4030 IF A1(21%-T%)>.01 AND A1(21%-T%)>=V1 THEN L9=A1(21%-T%) : L9%=21%-T%

4040 NEXT T%

4050 V2=L1%+((L9%-L1%)/(L9-L1))*(V1-L1)

4055 L1%=0 : L9%=0 : L1=0 : L9=0

4060 RETURN

4500 REM SUB =====

4501 REM MÄTVÄRDESBEHANDLING

4505 M2%=0

4510 FOR T%=1 TO 2

4520 GOSUB 8300

4530 M2%=M2%+M1%

4540 NEXT T%

4550 Y=.8*Y+.2*M2%/2

4560 GOSUB 8100

4585 IF Z0<X3 THEN T9\$=Z\$

4590 IF Z0<X1 THEN GOTO 4700

4600 IF X2>20 THEN Y1=Y : Y9=Y

4620 IF Y>Y9 THEN Y9=Y : T9\$=Z\$

```
4800 REM SUB =====
4801 REM PIREG
4810 E=K(1)-V2
4820 I=I+K(3)*E*K(9)/K(4)
4830 V9=K(3)*E+I
4831 IF V9<0 THEN V3=0 : GOTO 4835
4832 IF V9>K(2) THEN V3=K(2) : GOTO 4835
4833 V3=V9
4835 I=I+V3-V9
4840 RETURN
4900 REM SUB =====
4901 REM UTSKRIFT VID TOPPREGISTRERING
4910 GOSUB 8150
4920 ; #1,H% : ; #1,M% : ; #1,S%
4930 ; #1,V1% : ; #1,V2%
4940 ; #1,V4% : ; #1,V5%
4950 RETURN
4960 REM SUB =====
4961 REM SAMMA SOM 4900 MEN PÅ TV:IN
4970 ; "TOPPEN KOM KL.":H%;M%;S%
4980 ; V1%/100;"% UTSLAG DVS KONC=";V2%/100
4990 ; V4%/100;"ML KOMMER ATT PUMPAS IN TILLS NASTA TOPP"
4992 ; V5%/100;"% SYRE"
4995 RETURN
5000 REM SUB =====
5001 REM ÄNDRINGAR AV VISSA KONSTANTER
5010 ; "KONSTANT SOM SKA ÄNDRAS?HR"
5020 INPUT C1%
5030 ON C1% GOSUB 6010,6020,6030,6040,6050,6060,6070,6080
5040 ; "ÄNDRA FLER KONSTANTER?J/N" : GET A10
5050 IF A10="J" OR A10="j" THEN GOTO 5000
5060 ; "ÄNDRA I TABELLEN?J/N" : GET A10
5070 IF A10="J" OR A10="j" THEN GOSUB 5100
5080 RETURN
5081 REM =====
5100 REM SUB =====
5101 REM TABELL
5110 ; "SKRIV IN TABELL KONC=UTSLAG I %"
5111 ; "OM DU VILL TA BORT ETT VÄRDE"
5112 ; "SÄTT UTSLAG=0"
5113 ; "KONC I mM=OBS HELTAL MAX 20"
5120 INPUT A1%
5130 ; "UTSLAG I %"
5140 INPUT A1(A1%)
5150 ; "ETT VÄRDE TILL I TABELLEN?J/N"
5151 GET A10
5160 IF A10="J" OR A10="j" THEN GOTO 5113
5170 RETURN
6000 REM SUB =====
6001 REM KONSTANTINLÄSNING
6005 GOSUB 6010 : GOSUB 6020 : GOSUB 6030
6006 GOSUB 6040 : GOSUB 6050 : GOSUB 6060
6007 GOSUB 6070 : GOSUB 6080 : GOSUB 5100
6008 RETURN
6009 REM =====
6010 REM SUB =====
6011 ; "BÄRVÄRDE H2O2 I mM K(1)"
6015 INPUT K(1)
6018 RETURN
6020 REM SUB =====
6021 ; "PUMPFLÖDE ml/min K(2)"
6025 INPUT K(2)
6028 RETURN
6030 REM SUB =====
6031 ; "FÖRSTÄRKNING K K(3)"
6035 INPUT K(3)
6038 RETURN
```

```
6040 REM SUB =====
6041 ; "INTEGRATIONSTID K(4)"
6045 INPUT K(4)
6048 RETURN
6050 REM SUB =====
6051 ; "FERMENTORVOLYM ml K(5)"
6055 INPUT K(5)
6058 RETURN
6060 REM SUB =====
6061 ; "H2O2-KONC I TILLFÖRD LSG mM K(6)"
6065 INPUT K(6)
6068 RETURN
6070 REM SUB =====
6071 ; "SKÖLJTID min K(7)"
6075 INPUT K(7)
6078 RETURN
6080 REM SUB =====
6081 ; "MÄTTID min K(8)"
6085 INPUT K(8)
6088 RETURN
6099 REM =====
7000 REM SUB =====
7001 REM INLÄSNING AV KONSTANTER FRÅN
7002 REM FLEXSKIVA
7010 OPEN "KONSTANT.DAT" ASFILE 2
7020 FOR T%=1 TO 8
7030 INPUT #2,K(T%)
7040 NEXT T%
7050 FOR T%=0 TO 20
7060 INPUT #2,A1(T%)
7070 NEXT T%
7080 CLOSE 2
7090 RETURN
7095 REM =====
7100 REM SUB =====
7101 REM LÄSNING AV KONSTANTER TILL FLEXSKIVA
7110 OPEN "KONSTANT.DAT" ASFILE 2
7120 FOR T%=1 TO 8
7130 ; #2,K(T%)
7140 NEXT T%
7150 FOR T%=0 TO 20
7160 ; #2,A1(T%)
7170 NEXT T%
7180 CLOSE 2
7190 RETURN
7195 REM =====
7200 REM SUB =====
7201 REM UTSKRIFT AV KONSTANTER PÅ PRINTER
7205 OPEN "PR:" ASFILE 1
7210 FOR T%=1 TO 8
7220 ; #1,"K(";T%;")=";K(T%)
7230 NEXT T%
7240 FOR T%=0 TO 20
7250 IF A1(T%)>.001 THEN ; #1,T%;"mM GER UTSLAG=";A1(T%);"%
7260 NEXT T%
7265 CLOSE 1
7270 RETURN
7280 REM =====
7300 REM SUB =====
7301 REM UTSKRIFT AV KONSTANTER PÅ PEROXDOS.DAT
7310 FOR T%=1 TO 9
7320 ; #1,K(T%)
7330 NEXT T%
7340 RETURN
```

```

7350 REM =====
8100 REM TIDSUB (SUB), MÄTER SYSTEMTID
8101 REM LOKALA VAR: Z,Z%,ZØ,Z%(Ø)-(2)
8103 REM timmar=H%, minuter=M%, sekunder=S%, da9ar=0%
8104 REM SYSTEMTID ZØ=TOT TID I S*100
8105 IF (PEEK(65008) AND 4%)=0% THEN 8105
8106 FOR I%=0% TO 2%
8107 Z%(I%)=255% XOR PEEK(65008+I%) : NEXT I%
8108 ZØ=ADDØ(MULØ(NUMØ(256%*Z%(2%)+Z%(1%)), '512', 0%), NUMØ(Z%(0%)*2%), 0%)
8110 ZØ=VAL(ZØ)/100
8115 RETURN
8150 REM SUB =====
8151 Z=INT(VAL(T9Ø)/100)
8152 H%=Z/3600 : Z=Z-3600*H%
8153 M%=Z/60 : S%=Z-60*M%
8160 RETURN
8170 REM =====
8200 REM # PUMPSUB (SUB)
8201 REM # SUBROUTINER FÖR START OCH STOPP AV PUMPAR
8204 REM # GLOBALA VAR: A%=MODULNUMMER F.N.V.=2
8205 REM # START = RAD 8210
8206 REM # STOPP = RAD 8215
8210 REM # PUMPSTART (SUBR)
8211 OUT 1,2 : OUT 128,15 : Z%=A%+160% : OUT 0%,Z% : Z%=A%+32% : OUT 0%,Z%
8212 OUT 0%,40 : OUT 0%,104% : OUT 0%,40%
8213 RETURN : REM _____END,PUMSTART_____
8215 REM # PUMPSTOPP (SUBR)
8216 OUT 1,2 : OUT 128,15 : Z%=A%+160% : OUT 0%,Z% : Z%=A%+32% : OUT 0%,Z%
8217 OUT 0%,32% : OUT 0%,96% : OUT 0%,32%
8218 RETURN : REM _____END,SUBR,PUMPSTOP_____
8219 REM _____END PUMPSUB_____
8300 REM SUB ENZYMTERMISTORMÄTN =====
8301 REM LOKALAVAR: Z2%,Z3%
8302 REM GLOBALA VAR:
8303 REM mätv= M1% HÖGST 4/5 AV 2048
8304 REM modulnummer =B%,F.N.V.=3
8305 OUT 1%,2%
8306 OUT 128%,15%
8307 Z%=B%+160%
8308 OUT 0,Z%
8309 REM ADOMV:
8310 OUT 1%,3%
8311 OUT 4%,0%
8312 OUT 2,0
8313 OUT 0,0
8314 Z3%=(INP(1%) AND 15%)
8315 Z2%=(INP(0%))
8316 M1%=(Z2%+Z3%*256%-2048%)
8318 RETURN : REM _____END SUBR MAT_____
8400 REM SUB =====
8401 REM SYREMÄTNING =====
8410 OUT 1,3,3,0,2,8
8420 OUT 0,0
8430 M2%=(INP(1%) AND 15%)
8440 M1%=INP(0%)
8450 M3%=M1%+M2%*256%-2048
8460 RETURN

```

PROGRAMMET KALREG

Här följer nu en beskrivning av KALREG:s funktion. Dessutom ett flödesschema för subrutinen som håller reda på pumpen, samt BASIC-koden. Mindre ändringar i koden har gjorts efter användning. En viss felrisk finns alltså.

Funktion

Mätsignal är (H_2O_2) från enzymtermistorn. Styrsignal är en till och från-reglering av en pump. Pumpen pumpar in H_2O_2 -lsg i processen. Regleringen sker med hjälp av ett kalmanfilter och tillståndsåterkoppling. Tillståndsåterkopplingen är 8 ggr snabbare än kalmanfiltret.

Z(1) och X(1) är nytt resp gammalt \hat{x}_1 ,

Z(2-4) och X(2-4) är fördröjda \hat{x}_1 ,

Z(5) och X(5) är integraldelen.

Styrsignalen U2 omvandlas till en periodtid för pumpen T6.

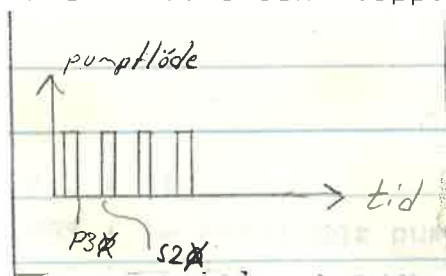
Modellen får insignalen U3 där integraldelen ej ingår.

Kalmanfiltrets tillstånd är lineariserade kring 0 något som dock saknar betydelse.

Rad 4200

Intervalluppdelning för pump

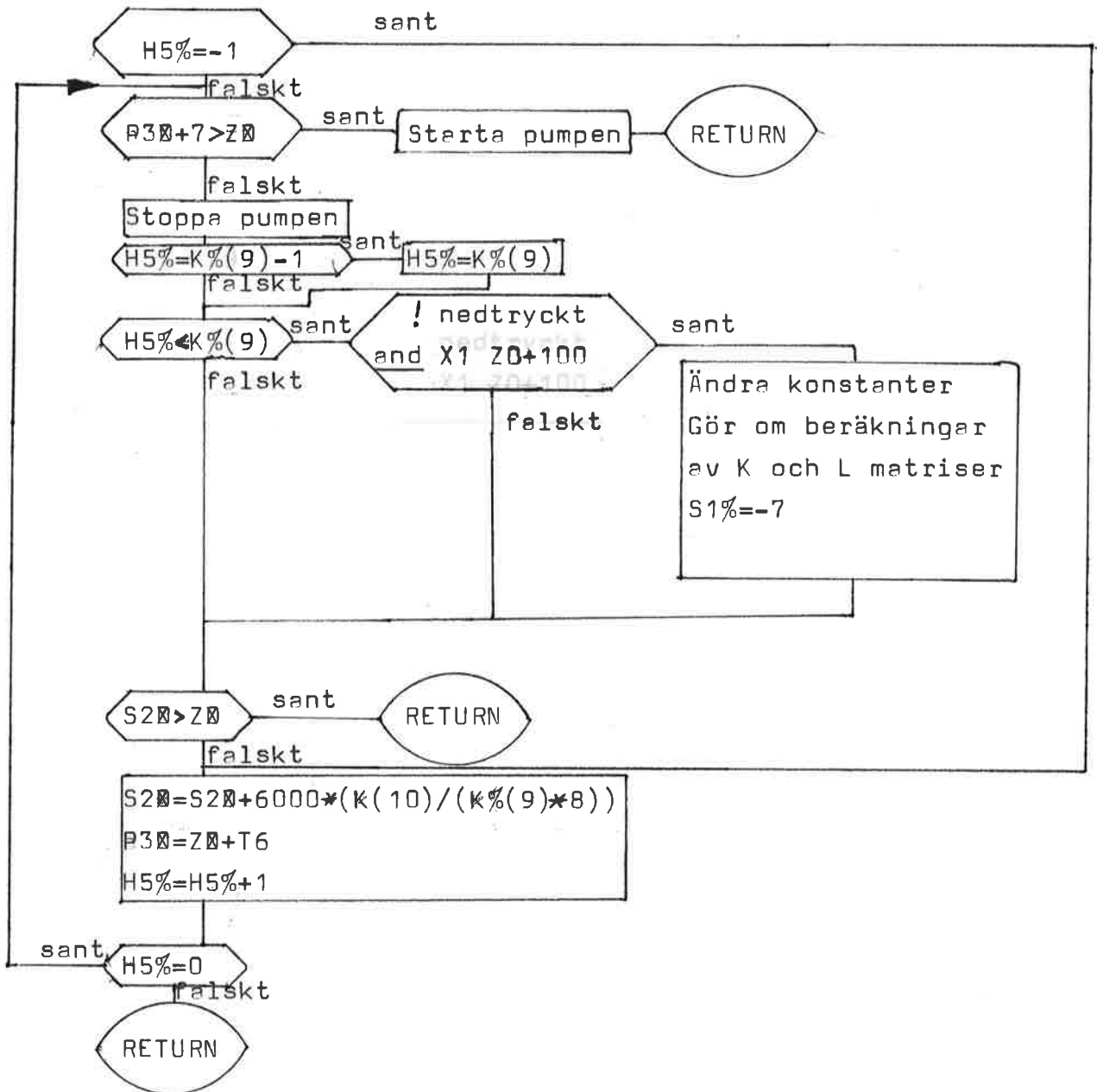
Här startar och stoppar vi pumpen.



Z % = tid

H5% = antal ggr pumpen varit på

K%(9) = antal ggr pumpen skall vara på




```

10 REM # RESET AV STATIVET (RESET) #
80 OUT 1%,2% : REM # KORTVAL
90 OUT 128%,15% : REM # ALLA BIT UT
100 OUT 0%,32%
110 OUT 0%,160% : REM # STATIV ADR. 0
120 OUT 0%,32%
130 OUT 0%,175% : REM # FRI. MODULERNA
140 OUT 0%,0%
1080 A%=2
1081 B%=3
1090 DIM A1(20) : DIM K(10)
1098 REM =====
1099 REM HÄR BÖRJAR INLÄSNING AV KONSTANTER
1100 ; "NYA KONSTANTER(N),SAMMA GAMLA(S),VISSA ÄNDRINGAR(V)"
1105 ; "PEROXDOS.DAT FÖRSVINNEN OM DU INTE STOPPAR HÄR"
1110 INPUT A1$
1120 IF A1$="N" OR A1$="n" THEN GOSUB 6000 ELSE GOSUB 7000
1130 IF A1$="V" OR A1$="v" THEN GOSUB 5000
1140 GOSUB 7100
1150 GOSUB 7200
1998 REM =====
1999 REM HÄR BÖRJAR STARTPROCEDUR
2000 Y1=47 : S1%=-10
2010 K(10)=K(7)+K(8) : K%(9)=INT(K(9)+.1)
2015 GOSUB 8100 : GOSUB 7500
2018 FOR T8%=1 TO 200
2020 GOSUB 4500 : GOSUB 8400
2025 NEXT T8%
2030 Y2=Y
2050 GOSUB 4500 : GOSUB 8400
2060 IF INP(56)=33 THEN GOTO 2100
2070 IF NOT Y-Y2>30 GOTO 2050
2100 REM X1=0 X2=0 X3=0
2110 Y9=Y-1000
2150 ; "TOPP ÄR PÅ VÄG"
2175 OPEN "PEROXDOS.DAT" ASFILE 1
2180 GOSUB 7300
2200 GOTO 3400
2998 REM =====
2999 REM HÄR BÖRJAR HUVUDPROGRAMMET
3000 V1=(Y9-Y1)*125/2048
3010 GOSUB 4000
3015 V1%=INT(V1*100+.5)
3033 V2%=INT(V2*100+.5)
3042 X1=VAL(T9$)/100+K(10)*60-110
3043 X2=X1+5
3044 X3=X2+65
3048 IF COMP%(T9$, '8640000')>0% THEN T9$=SUB$(T9$, '8640000', 0%) : GOTO 3048
3050 GOSUB 4900
3051 GOSUB 4960
3093 GOSUB 8100 : S2$=Z$
3100 FOR J%=0 TO 7
3110 GOSUB 4300
3120 T6=U2*(K(10)/K(2))*6000/(K%(9)*8)
3130 H5%=-1
3300 GOSUB 4500 : GOSUB 4200 : GOSUB 8400
3310 IF H5%<K%(9) THEN GOTO 3300
3315 GOSUB 4700 : GOSUB 4800 : REM FÖRRA SAMPLINGENS VARDE SKRIVS UT
3320 GOSUB 4500 : GOSUB 8400
3330 IF COMP%(S2$, Z$)=1 AND J%<7 THEN GOSUB 4500 : GOSUB 8400 : GOTO 3330
3350 NEXT J%
3400 GOSUB 4500 : GOSUB 8400
3410 IF COMP%(ADD$(T9$, '600', 0%), Z$)=1 THEN GOTO 3400
3420 GOTO 3000
3500 END

```

```

4000 REM SUB =====
4001 REM MÄTVÄRDET ENZYMTERMISTOR GER (H2O2)
4005 IF V1<=0 THEN V2=0 : GOTO 4060
4006 IF V1>=100 THEN V1=100
4010 FOR T%=1% TO 20%
4020 IF A1(T%)>.01 AND A1(T%)*V1 THEN L1=A1(T%) : L1%=T%
4030 IF A1(21%-T%)>.01 AND A1(21%-T%)=V1 THEN L9=A1(21%-T%) : L9%=21%-T%
4040 NEXT T%
4050 V2=L1%+((L9%-L1%)/(L9-L1))*V1-L1
4055 L1%=0 : L9%=0 : L1=0 : L9=0
4060 RETURN
4200 REM SUB =====
4201 REM INTERVALLUPPDELNING FÖR PUMP
4210 IF H5%=-1 THEN GOTO 4260
4230 IF COMPX(SUBX(P3X,'7',0),Z8)=1 THEN GOSUB 8210 : GOTO 4290
4240 GOSUB 8215
4245 IF H5%=K(9)-1 THEN H5%=K(9)
4247 IF H5%<K(9) THEN IF INP(56)=33 AND X1>20+100 THEN GOSUB 5000 : GOSUB 7500
: S1%=-10
4250 IF COMPX(S2X,Z8)=1 THEN GOTO 4290
4260 S2X=ADDX(S2X,NUMX(6000*K(10)/(K(9)*8),0)
4270 P3X=ADDX(Z8,NUMX(T6),0)
4280 H5%=H5%+1%
4285 IF H5%=0 THEN GOTO 4230
4290 RETURN
4300 REM SUB =====
4301 REM MODELL
4310 X(1)=Z(1) : X(2)=Z(2) : X(3)=Z(3) : X(4)=Z(4) : X(5)=Z(5)
4320 U1=U0-(J1*X(1)+J2*X(2)+J3*X(3)+J4*X(4)+J5*X(5))
4325 IF U1<0 THEN U2=0 ELSE IF U1>K(2) THEN U2=K(2) ELSE U2=U1
4330 U3=U2-U0+J5*X(5)
4335 Y8=V2-K(1)-G5*X(3)-G6*X(4)
4340 IF (U1<K(2) AND U1>0) AND NOT S1%<0 THEN I5=1 ELSE I5=0
4343 S1%=S1%+1
4345 IF J%=0 THEN I7=1 ELSE I7=0
4350 Z(1)=F*X(1)+I7*K1*Y8+G*U3
4351 Z(2)=X(1)+I7*K2*Y8
4352 Z(3)=X(2)+I7*K3*Y8
4353 Z(4)=X(3)+I7*K4*Y8
4354 Z(5)=X(5)+I7*(K(1)-V2)*I5
4355 V%(2)=INT(V5*100+.5)
4356 V%(1)=INT(X(1)*100+K(1)*100+.5)
4357 V%(4)=INT(U2*100+.5)
4358 V%(5)=INT(-J5*X(5)*1000+.5)
4390 RETURN
4500 REM SUB =====
4501 REM MÄTVÄRDESBEHANDLING ENZYMTERMISTOR
4505 M2%=0
4510 FOR T%=1 TO 2
4520 GOSUB 8300
4530 M2%=M2%+M1%
4540 NEXT T%
4550 Y=.8*Y+.2*M2%/2
4560 GOSUB 8100
4585 IF Z0<X3 THEN T9X=Z8
4590 IF Z0<X1 THEN GOTO 4690
4600 IF X2>Z0 THEN Y1=Y : Y9=Y
4620 IF Y>Y9 THEN Y9=Y : T9X=Z8
4690 RETURN
4700 REM SUB =====
4701 REM SKRIVER PÅ BILDSKÄRM VID VARJE SAMP
4710 : V%(1)/100,V%(2)/100,V%(3)/100,V%(4)/100,V%(5)/1000
4720 RETURN

```

```
4800 REM SUB =====
4801 REM SKRIVER PÅ FLEKSKIVA VID VARJE SAMP
4810 FOR K%=1 TO 5
4820 ; #1,V%(K%)
4830 NEXT K%
4840 RETURN
4900 REM SUB =====
4901 REM UTSKRIFT VID TOPPREGISTRERING
4910 GOSUB 8150
4920 ; #1,H% ; ; #1,M% ; ; #1,S%
4930 ; #1,V1% ; ; #1,V2%
4950 RETURN
4960 REM SUB =====
4961 REM SAMMA SOM 4900 MEN PÅ BILDSKÄRM
4970 ; "TOPPEN KOM KL.":H%;M%;S%
4980 ; V1%/100;"% UTSLAG DVS KONC=";V2%/100
4990 ; ; "MOD PER.MÄT O2,MOD O2,IN PROC,IN PGA INT.TILLST."
4995 RETURN
5000 REM SUB =====
5001 REM ÄNDRINGAR AV VISSA KONSTANTER
5010 ; "KONSTANT SOM SKA ÄNDRAS?NR"
5020 INPUT C1%
5030 ON C1% GOSUB 6010,6020,6030,6040,6050,6060,6070,6080,6090
5040 ; "ÄNDRÄ FLER KONSTANTER?J/N" : INPUT A10
5050 IF A10="J" OR A10="j" THEN GOTO 5000
5060 ; "ÄNDRÄ I TABELLEN?J/N" : INPUT A10
5070 IF A10="J" OR A10="j" THEN GOSUB 5100
5080 RETURN
5081 REM =====
5100 REM SUB =====
5101 REM TABELL
5110 ; "SKRIV IN TABELL KONC=UTSLAG I %"
5111 ; "OM DU VILL TA BORT ETT VÄRDE"
5112 ; "SÄTT UTSLAG=0"
5113 ; "KONC I mM=OBS HELTAL MAX 20"
5120 INPUT A1%
5130 ; "UTSLAG I %"
5140 INPUT A1(A1%)
5150 ; "ETT VÄRDE TILL I TABELLEN?J/N"
5151 INPUT A10
5160 IF A10="J" OR A10="j" THEN GOTO 5113
5170 RETURN
6000 REM SUB =====
6001 REM KONSTANTINLÄSNING
6005 GOSUB 6010 : GOSUB 6020 : GOSUB 6030
6006 GOSUB 6040 : GOSUB 6050 : GOSUB 6060
6007 GOSUB 6070 : GOSUB 6080 : GOSUB 6090 : GOSUB 5100
6008 RETURN
6010 REM SUB =====
6011 ; "BÖRVÄRDE H2O2 I mM K(1)"
6015 INPUT K(1)
6018 RETURN
6020 REM SUB =====
6021 ; "PUMPFLÖDE ml/min K(2)"
6025 INPUT K(2)
6028 RETURN
6030 REM SUB =====
6031 ; "TIDSKONSTANT K(3)"
6035 INPUT K(3)
6038 RETURN
6040 REM SUB =====
6041 ; "INTEGRATORÄTERKÖPPLING K(4)"
6045 INPUT K(4)
6048 RETURN
```

```
6050 REM SUB =====
6051 ; "POLPLACERING A-KC RK K(5)"
6055 INPUT K(5)
6058 RETURN
6060 REM SUB =====
6061 ; "H2O2-KONC I TILLFÖRD LSG mM/FERMENTORVOLYM ml K(6)"
6065 INPUT K(6)
6068 RETURN
6070 REM SUB =====
6071 ; "SKÖLJTID min K(7)"
6075 INPUT K(7)
6078 RETURN
6080 REM SUB =====
6081 ; "MÄTTID min K(8)"
6085 INPUT K(8)
6088 RETURN
6090 REM SUB =====
6091 ; "PUMPPERIODER/SAMPL.INTERVALL K(9)"
6095 INPUT K(9)
6098 RETURN
7000 REM SUB =====
7001 REM INLÄSNING AV KONSTANTER FRÅN
7002 REM FLEKSKIVA
7010 OPEN "KONSTKAL.DAT" ASFILE 2
7020 FOR T%=1 TO 9
7030 INPUT #2,K(T%)
7040 NEXT T%
7050 FOR T%=0 TO 20
7060 INPUT #2,A1(T%)
7070 NEXT T%
7080 CLOSE 2
7090 RETURN
7100 REM SUB =====
7101 REM LÄSNING AV KONSTANTER TILL FLEKSKIVA
7110 OPEN "KONSTKAL.DAT" ASFILE 2
7120 FOR T%=1 TO 9
7130 ; #2,K(T%)
7140 NEXT T%
7150 FOR T%=0 TO 20
7160 ; #2,A1(T%)
7170 NEXT T%
7180 CLOSE 2
7190 RETURN
7195 REM =====
7200 REM SUB =====
7201 REM UTSKRIFT AV KONSTANTER PÅ BILDSKÄRM
7210 FOR T%=1 TO 9
7220 ; "K(";T%;")=";K(T%)
7230 NEXT T%
7240 FOR T%=0 TO 20
7250 IF A1(T%)>.001 THEN ; T%;"mM GER UTSLAG=";A1(T%);"%
7260 NEXT T%
7270 RETURN
7280 REM =====
7300 REM SUB =====
7301 REM UTSKRIFT AV KONSTANTER PÅ PEROXDOS.DAT
7310 FOR T%=1 TO 10
7320 ; #1,K(T%)
7330 NEXT T%
7340 RETURN
```

```

7350 REM =====
7500 REM SUB =====
7501 REM BERÄKNING AV K OCH L MATRIS
7510 R1=.4 : R2=K(5) : H=K(10)/8
7515 T1=2.75 : F=EXP(-H/K(3)) : G=K(6)*K(3)*(1-F) : G0=K(6)*K(3)
7520 U0=K(1)/G0
7525 A=H*R2/2 : B=A*SQR(3)
7530 E1=EXP(-A)
7531 E2=EXP(-2*A)
7532 E3=EXP(-B)
7533 E4=EXP(-2*B)
7534 C1=COS(A) : C2=COS(B)
7540 A1=E2*E4
7541 A2=-2*(E1*C2*E4+E3*C1*E2)
7542 A3=E4+E2+4*E1*E3*C1*C2
7543 A4=-2*(E1*C2+E3*C1)
7550 G5=(3*H-T1)/H : G6=(T1-2*H)/H : G7=G5/G6
7560 K4=(F+A4-G7*(-G7*(-G7*A1+A2)+A3))/(G5*F+G6)
7561 K3=F*K4-G7*(-G7*A1+A2)/G6+A3/G6
7562 K2=F*K3-G7*A1/G6+A2/G6
7563 K1=F*K2+A1/G6
7570 R3=H*R1/SQR(2)
7571 J1=(F-2*EXP(-R3)*COS(R3))/G
7572 J2=(EXP(-2*R3))/G
7573 J3=0 : J4=0
7574 J5=-K(4)
7590 RETURN
8100 REM TIDSUB (SUB) , MÄTER SYSTEMTID
8101 REM LOKALA VAR: Z,Z%,Z0,Z%(0)-(2)
8103 REM timmar=H%, minuter=M%, sekunder=S%, dagar=D%
8104 REM SYSTEMTID Z0=TOT TID I S*100
8105 IF (PEEK(65008) AND 4%)=0% THEN 8105
8106 FOR I%=0% TO 2%
8107 Z%(I%)=255% XOR PEEK(65008%+I%) : NEXT I%
8108 Z0=ADD0(MUL0(NUM0(256%*Z%(2%)+Z%(1%)), '512', 0%), NUM0(Z%(0%)*2%), 0%)
8110 Z0=VAL(Z0)/100
8115 RETURN
8150 REM SUB =====
8151 Z=INT(VAL(T90)/100)
8152 H%=Z/3600 : Z=Z-3600*H%
8153 M%=Z/60 : S%=Z-60*M%
8160 RETURN
8170 REM =====
8200 REM # PUMPSUB (SUB)
8201 REM # SUBROUTINER FÖR START OCH STOPP AV PUMPAR
8204 REM # GLOBALA VAR: A%=MODULNUMMER F.N.V.=2
8205 REM # START = RAD 8210
8206 REM # STOPP = RAD 8215
8210 REM # PUMPSTART (SUBR)
8211 OUT 1,2 : OUT 128,15 : Z%=A%+160% : OUT 0%,Z% : Z%=A%+32% : OUT 0%,Z%
8212 OUT 0%,40 : OUT 0%,104% : OUT 0%,40%
8213 RETURN : REM _____END,PUMSTART_____
8215 REM # PUMPSTOPP (SUBR)
8216 OUT 1,2 : OUT 128,15 : Z%=A%+160% : OUT 0%,Z% : Z%=A%+32% : OUT 0%,Z%
8217 OUT 0%,32% : OUT 0%,96% : OUT 0%,32%
8218 RETURN : REM ____END.SUBR.PUMPSTOPP_____
8219 REM _____END PUMPSUB_____

```

```
8300 REM SUB ENZYMTERMISTORMÄTN =====
8301 REM LOKALAVAR: Z2%, Z3%
8302 REM GLOBALA VAR:
8303 REM mätv= M1% HÖGST 4/5 AV 2048
8304 REM modulnummer =B%,F.N.V.=3
8305 OUT 1%,2%
8306 OUT 128%,15%
8307 Z%=B%+160%
8308 OUT 0,Z%
8309 REM ADMV:
8310 OUT 1%,3%
8311 OUT 4%,0%
8312 OUT 2,0
8313 OUT 0,0
8314 Z3%=( INP(1%) AND 15%)
8315 Z2%=( INP(0%))
8316 M1%=( Z2%+Z3%*256%-2048%)
8318 RETURN : REM -----END SUBR MÄT-----
8400 REM SUB =====
8401 REM SYREMÄTNING =====
8410 OUT 1,3,3,0,2,8
8420 OUT 0,0
8430 M2%=( INP(1%) AND 15%)
8440 M1%=INP(0%)
8450 M3%=M1%+M2%*256%-2048
8455 V5=.8*V5+.2*(M3%/17.5)
8460 RETURN
```

UTSKRIFTSPROGRAM

Under körning av program BAC lagras mätvärde på flexskivan. Värdena kan efter avslutat försök skrivas ut på printer mha programnamn. RES. Utskriften är densamma som skrivs på bildskärm under själva försöket. Dessutom får man en utskrift av tidskonstanter för väteperoxid-nedbrytning och total mängd inpumpad lösning.

PIPERPER.RES.

```

1 ONERRORGOTO 100
2 D=2.75
3 DIM T(300)
4 OPEN "PR:" ASFILE 1
5 OPEN "PEROXDOS.DAT" ASFILE 2
6 FOR A0%=1 TO 9
7 INPUT #2,K(A0%)
8 INPUT #2,K(A0%)
9 NEXT A0%
10 INPUT #2,H%,M%,S%,V1%,V2%,V4%,V5%
12 B2=A2 : A2=V2% : C4=B4 : B4=A4 : A4=V4%
15 T=T+V4%
20 ; #1,"TOPP NR";I%;" KOM KL.";H%;M%;S%
22 IF I%=0 THEN GOTO 30
24 I=((K(9)-D)/K(9))*B4*K(6)/K(5)+(D/K(9))*C4*K(6)/K(5)
25 X1=(A2-B2-I)/K(9)
26 X=(B2+A2)/2
27 IF X1=0 THEN T(I%)=1E+6 ELSE T(I%)=-X/X1
30 ; #1,V1%/100;"% UTSLAG DVS KONC=";V2%/100
40 ; #1,V4%/100;"ML KOMMER ATT PUMPAS IN TILLS NÄSTA TOPP"
41 V9=V4%*K(6)/1000
42 ; #1,"UTTRYCKT I mmol =" ;V9/100
43 ; #1,V5%/100;"% SYRE" : ; #1
45 I%=I%+1
50 GOTO 10
100 ; #1,"TOTAL MÄNGD H2O2 LSG";T/100;"ML"
101 V9=T*K(6)/1000
105 ; #1,"UTTRYCKT I mmol =" ;V9/100
110 ; #1,"OBS GÄLLER T.O.M. SISTA TOPP +INTERVALLTID" : ; #1
150 I1%=I%-1%
155 IF I1%<1% THEN GOTO 200
160 FOR J%=1 TO I1%
165 J1%=J%-1
170 ; #1,"MELLAN TOPP";J1%;" OCH TOPP";J%;" ÄR TIDSKONSTANTEN=";T(J%) : ; #1
180 NEXT J%
200 CLOSE 1 : CLOSE 2
300 END

```

KALREG.RES:

```

1 ONERRORGOTO 100
2 ; "KONC HOS INPUMPAD PEROXID mM"
3 INPUT K
5 OPEN "PR:" ASFILE 1
6 OPEN "PEROXDOS.DAT" ASFILE 2
7 FOR A0%=1 TO 10
8 INPUT #2,K(A0%)
9 NEXT A0%
10 INPUT #2,H%,M%,S%,V1%,V2%
20 ; #1,"TOPP NR";I%;" KOM KL.";H%;M%;S%
25 ; #1,V1%/100;"% UTSLAG DVS KONC=";V2%/100;" mM"
30 ; #1,"          H2O2                      02          INSIGNAL PROC  INS
IGNAL PGA"
32 ; #1,"SAMP          MODELL          MATVARDE          MODELL          INT
EGR. LI*I"
34 ; #1,"          mM          %          %          ml/min          ml
/min"
35 FOR J%=0 TO 7
36 INPUT #2,V%(1),V%(2),V%(3),V%(4),V%(5)
38 A=V%(1)/100 : B=V%(2)/100 : C=V%(3)/100 : D=V%(4)/100 : E=V%(5)/1000
40 ; #1," ";J%;"          ";A;"          ";B,C,D;"          ";E
42 T=T+V%(4)
45 NEXT J%
46 T1=T*(K(10)/8) : T2=T1*K/1000
47 ; #1,"          INPUMPAT MELLAN TOPPAR=";T1/100;" ml";T
2/100;" mmol"
48 T3=T3+T : T=0
49 I%=I%+1
50 ; #1 : ; #1 : GOTO 10
100 T1=T3*(K(10)/8) : T2=T1*K/1000
105 ; #1
110 ; #1,"TOTALT INPUMPAD H2O2 =";T1/100;" ml DVS";T2/100;"mmol T.O.M. SISTA TOP
P"
150 ; #1
190 CLOSE 1 : CLOSE 2
200 END

```

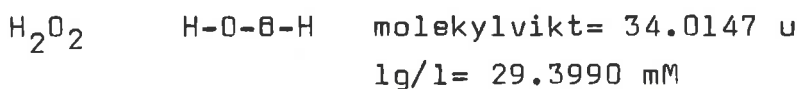
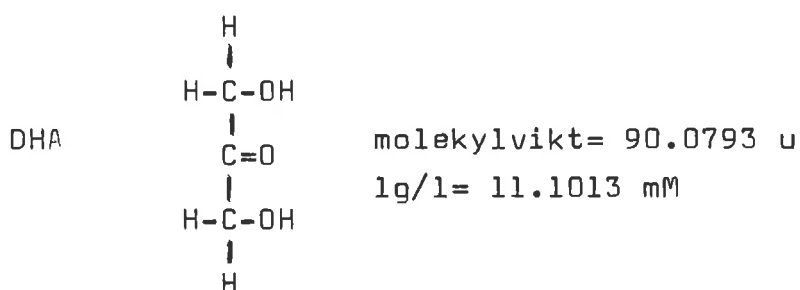
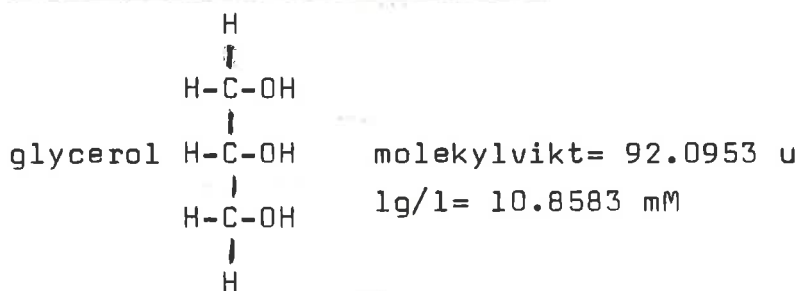

Detta är ett enkelt program, för att köra en pump mha fyrkantvåg.
I "körtid" sek får pumpen full insignal, varefter den står stilla
"ståtid" sek. Detta upprepas "körningarn" ggr. Utskrift sker på
printer "PR".

```

2 OPEN "PR:" ASFILE 1
5 A%=2
10 ; "KÖRNINGAR"
20 INPUT N%
22 OPEN "PR:" ASFILE 1
25 ; #1"KÖRNINGAR=";N%
30 ; "KÖRTID"
40 INPUT T1%
45 ; #1"KÖRTID=";VAL(T1%)
50 ; "STÅTID"
60 INPUT T2%
65 ; #1"STÅTID=";VAL(T2%)
80 GOSUB 8100
81 ; #1"STARTTID";H%;M%;S%
100 FOR I1%=1% TO N% STEP 1%
110 GOSUB 8100
120 T8=ADDX(Z8,MULX(T1%, '100', 0%), 0%)
125 GOSUB 8210
127 GOSUB 8100
130 IF COMPX(Z8, T8)=-1 THEN GOTO 125
140 T8=ADDX(T8, MULX(T2%, '100', 0%), 0%)
145 GOSUB 8215
147 GOSUB 8100
150 IF COMPX(Z8, T8)=-1 THEN GOTO 145
160 NEXT I1%
165 ; #1"STOPPTID";H%;M%;S%
166 ; CHR(7)
167 ; #1
170 END
200 CLOSE 1
8100 REM TIDSUB (SUB) , WATER SYSTEMTID
8101 REM LOKALA VAR: Z,Z%,Z8,Z%(0)-(?)
8102 REM GLOBALA VAR:
8103 REM timmar=H%, minuter=M%, sekunder=S% dagar=D%
8104 REM SYSTEMTID Z8=TID I S *100
8105 IF (PEEK(65000) AND 4%)=0% THEN 8105
8106 FOR I1%=0% TO 2%
8107 Z%(I1%)=255% XOR PEEK(65000%+I1%) : NEXT I1%
8108 Z8=ADDX(MULX(NUMX(256%*Z%(2%)+Z%(1%)), '512', 0%), NUMX(7%*0%*0%), 0%)
8109 IF COMPX(Z8, '8640000') > -1% THEN D%=D%+1% : GOTO 8109
8110 Z=TNT(VAL(Z8)/100)
8111 H%=Z/3600 : Z=Z-3600*H%
8112 M%=Z/60 : S%=Z-60*M%
8113 RETURN : REM _____END TIDSUB _____
8200 REM # PUMPSUB (SUB)
8201 REM # SUBROUTINER FÖR START OCH STOPP
8202 REM # AV PUMPAR
8203 REM # LOKALA VAR: Z%
8204 REM # GLOBALA VAR: A%=MODULNUMMER
8205 REM # START = RAD 8210
8206 REM # STOPP = RAD 8215
8210 REM # PUMPSTART (SUBR)
8211 OUT 1,2 : OUT 128,15 : Z%=A%+160% : OUT 0%,Z% : Z%=A%+32% : OUT A%,Z%
8212 OUT 0%,40 : OUT 0%,104% : OUT A%,40%
8213 RETURN : REM _____END.PUMPSTART_____
8215 REM # PUMPSTOPP (SUBR)
8216 OUT 1,2 : OUT 128,15 : Z%=A%+160% : OUT 0%,Z% : Z%=A%+32% : OUT A%,Z%
8217 OUT 0%,32% : OUT A%,96% : OUT 0%,32%
8218 RETURN : REM _____END.SUBR.PUMPSTOP_____
8219 REM _____END PUMPSUB_____

```

APPENDIX B KEMI

Omvandling mellan g/l och mMOmvandling mellan % och mM för O₂

Ett standardvärde på syrets löslighet i vatten har använts nämligen:

0.25mM O₂ löser sig vid 25°C.

Med x% O₂ menar vi den mängd syre som vid jämvikt **är löst** i vätskan om omgivande luft innehåller x% syre.

Vanlig luft innehåller 20.949% O₂. Alltså (O₂) = 1.19 · 10⁻² $\frac{\text{mM}}{\%}$.
Observera att detta inte har **kontrollerats**.

Syreelektroden ger koncentrationen i %.

APPENDIX CReferenser

1. Olle Holst, Sven-Olof Enfors, Bo Mattiasson
Oxygenation of Immobilized Cells Using Hydrogen-Peroxide;
A Model Study of Gluconobacter oxydans Converting Glycerol
to Dihydroxyacetone.
European J Appl Microbiol Biotechnol (1982) 14:64-68
2. Patrick Adlercreutz, Olle Holst, Bo Mattiasson
Oxygen supply to immobilized cells:
2. Studies on a coimmobilized algae-bacteria preparation
with in situ oxygen generation. Enzyme Microb. Technol.,
1982, Vol.4, November s 395
3. Mattiasson B Danielsson B Mandenius C-F Winquist F
Enzyme thermistors for process control Ann. N.Y. Acad Sci.
Volym 369 s 295 198
4. G.W.Claus, Barry L. Batzing, C.A.Buker E.M. Goebel
Intracytoplasmic Membrane Formation and Increased Oxidation
of Glycerol During Growth of Gluconobacter oxydans. Journal
of Bacteriology Sept. 1975 p 1169-1183 Vol. 123 no.3.
5. Yamada, S Nabe, K Izuo, N Wada, M Chibata, I
J. Ferment. Technol. vol. 57:3 s 215 1979
Fermentativ production of Dihydroxyacetone by Acetobacter
suboxydans ATCC 621.