

**Auslegung, Simulation und Validierung einer Apparatur zur Aufbringung hoher
Scherbelastungen auf Zellen in Suspension**

Dissertation

zur

Erlangung des akademischen Grades

Doktor-Ingenieur (Dr.-Ing.)

der Fakultät für Maschinenbau und Schiffstechnik

der Universität Rostock

vorgelegt von

Christoph Drobek aus Rostock,

geb. am 30.08.1984 in Rostock

Gutachter:

1. Gutachter: Prof. Dr.-Ing. Hermann Seitz
Universität Rostock, Lehrstuhl für Mikrofluidik
2. Gutachter: Prof. Dr. Dipl.-Ing. Rainer Bader
Universitätsmedizin Rostock, Orthopädische Klinik und Poliklinik,
Forschungslabor für Biomechanik und Implantattechnologie

Datum der Einreichung: 05.12.2018

Datum der Verteidigung: 01.02.2019

Inhalt

1	Einleitung	1
1.1	Motivation	1
1.2	Aufbau der Arbeit	2
2	Stand von Forschung und Technik	3
2.1	Versuchsaufbauten und Studien zur Scherung von Zellen	3
2.2	Taylor-Couette-Strömung	5
2.3	Laminar-turbulenter Umschlag (Transition)	10
2.4	Numerische Strömungssimulation	13
3	Methodik	16
3.1	Einleitung	16
3.2	Konstruktiver Aufbau und Auslegung eines Scherapparats	16
3.2.1	Anforderungen an eine Apparatur zur Scherbelastung von Zellen	16
3.2.2	Entwurf der Scherapparatur	17
3.3	Bestimmung der Massendichte mesenchymaler Stammzellen zum Anmischen passender Trägerflüssigkeiten	20
3.4	Bestimmung des laminar-turbulenten Umschlags mit Hilfe der Strömungssichtbarmachung und der Drehmomentmessung	22
3.4.1	Strömungssichtbarmachung	23
3.4.2	Bestimmung des Drehmomentes über die Messung der Motorstromaufnahme.....	26
3.5	Bestimmung des laminar-turbulenten Umschlags sowie der Geschwindigkeits- und Scherratenprofile mit Hilfe von CFD-Simulationen	30
3.5.1	Rechenmodell des kompletten Taylor-Couette-Spalts (360°-Vollmodell)	30
3.5.2	Rechenmodell eines 5°-Ausschnitts des Taylor-Couette-Spalts	34
3.5.3	Bewertungskriterien für die Strömungssimulationen	39
3.6	Bestimmung der Probenerwärmung aufgrund und während der Scherung.....	40
3.7	Bestimmung der Scherbelastbarkeit mesenchymaler Stammzellen im Scherapparat	41
4	Ergebnisse und Diskussion	45
4.1	Scherapparat.....	45
4.1.1	Konstruktive Umsetzung.....	45
4.1.2	Betrieb der Scherapparatur	48
4.1.3	Bewertung des Scherapparats.....	53

4.2	Ergebnisse zur Bestimmung der Massendichte mesenchymaler Stammzellen zum Anmischen passender Trägerflüssigkeiten	55
4.3	Ergebnisse zur Bestimmung des laminar-turbulenten Umschlags mit Hilfe der Strömungssichtbarmachung und der Drehmomentmessung	56
	4.3.1 Ergebnisse zur Strömungssichtbarmachung.....	56
	4.3.2 Ergebnisse zur Bestimmung des Drehmoments über die Messung der Motorstromaufnahme	59
4.4	Ergebnisse zur Bestimmung des laminar-turbulenten Umschlags mit Hilfe der CFD-Simulationen.....	69
	4.4.1 Ungestörte Strömung	70
	4.4.2 Stimulation der Transition bei geringen Drehzahlen: Aufprägen von Störungen in der Simulation	77
4.5	Ergebnisse zur Bestimmung der Geschwindigkeits- und Scherratenprofile mit Hilfe der CFD-Simulationen	78
4.6	Bestimmung der Probenerwärmung aufgrund und während der Scherung.....	88
4.7	Bestimmung der Scherbelastbarkeit mesenchymaler Stammzellen im Scherapparat	89
4.8	Abschließende Betrachtung der Ergebnisse.....	99
5	Zusammenfassung und Ausblick.....	101
6	Literaturverzeichnis.....	104
7	Anhang	109
	7.1 Bedienungsanleitung	109
	7.2 Quellcode des MATLAB-Skripts zur Steuerung des Scherapparats und zur Live-Auswertung der Messdaten	110
	7.3 Technische Zeichnungen.....	115
8	Lebenslauf	132

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Abmessungen der beiden Entwürfe des Scherapparats	19
Tabelle 2: Drehwinkel während der Verschlusszeit $t_{\text{Verschluss}}$ der OM-D EM5 Mark II	25
Tabelle 3: Übersicht über die Drehzahlprofile der Versuche zu Strömungssichtbarmachung und Drehmoment mit Scherapparat Entwurf 2.....	26
Tabelle 4: Randbedingungen für das 360°-Vollmodell.....	33
Tabelle 5: Mit dem 360°-Vollmodell zu untersuchende Drehzahlen und wichtige Größen	33
Tabelle 6: Randbedingungen für das 5°-Modell.....	37
Tabelle 7: Mit dem 5°-Schnittmodell zu untersuchende Drehzahlen sowie weitere wichtige Größen.....	37
Tabelle 8: Übersicht über die Zellversuche im Scherapparat.....	44
Tabelle 9: Geeignete Reglerparameter für den Antriebsmotor mit geringer Drehzahlschwankung und ruhigem Lauf bei niedriger Motorstromaufnahme	53
Tabelle 10: Experimentell ermittelte Massendichte mesenchymaler Stammzellen (adMSC).....	55
Tabelle 11: Trägerflüssigkeiten/Medien für adMSC mit angepasster Dichte	56
Tabelle 12: Laminar-turbulenter Umschlag bei sichtbargemachter Strömung in verschiedenen mit Mica-Pulver versetzten Fluiden	59
Tabelle 13: Zusammenfassung der Anstiege des Drehmoments in den Läufen PBS-LSM-1 bis PBS-LSM-5	64
Tabelle 14: Laminar-turbulenter Umschlag bei der ungestörten Strömung.....	73
Tabelle 15: Zellvitalität (normalisiert) errechnet mit Hilfe der vier Varianten aus Abschnitt 3.7 aus Zellzahl, Viabilität und Durchmesservertelung. Alle Werte wurden dabei gemessen mit dem ChemoMetec NucleoCounter NC-200. Der größte Wert für eine Messung ist jeweils rot, der kleinste Wert blau markiert. Weiterhin ist das arithmetische Mittel über alle vier Methoden und das α -getrimmte Mittel (mit $\alpha=50\%$ Trimmung, sodass der kleinste und größte Wert entfallen; siehe auch Henze, 2013) angegeben.	89

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Erythrozyten bei verschiedenen Scherraten (a) im Ruhezustand, (b) 11,5 1/s, (c) 46 1/s und (d) 230 1/s. From Schmid-Schönbein & Wells (1969). Reprinted with permission from AAAS.....	4
Abbildung 2: Versuchsaufbau von Wendt (1933). Reprinted by permission from Springer Nature Customer Service Centre GmbH: Springer Nature, Ingenieur-Archiv, Turbulente Strömungen zwischen zwei rotierenden konaxialen Zylindern, F. Wendt, Copyright 1933	7
Abbildung 3: Versuchsaufbau von Burin & Czarnocki (2012) zum Taylor-Couette-Spalt. Burin MJ, Czarnocki CJ (2012) Subcritical transition and spiral turbulence in circular Couette flow. J. Fluid Mech 709:106-122.....	8
Abbildung 4: Reynolds-Zahl Re der Transition über $\Delta r/r_o=1-\eta$ ab Mallock (1896). Konstruiert nach Burin & Czarnocki (2012) und erweitert um Schultz-Grunow (1959) und Coles (1965)	9
Abbildung 5: Skizze zur Wirkungsweise unterkritische Transition. Mit steigender Reynolds-Zahl Re können die finiten Störungsamplituden A , die einen plötzlichen Umschlag erwirken, immer kleiner werden. Skizze nach Grossmann (2000) bzw. Oertel jr. H (2012).....	12
Abbildung 6: Messspalt und Kegel-Platte-Bereich zwischen Innenzylinder, Außenzylinder und Deckel ...	18
Abbildung 7: Messprinzip des Anton Paar DSA 5000 M: Das oszillierende U-Rohr ist gefüllt mit der Zellsuspension bestehend aus kontinuierlicher Phase (Medium) und disperser Phase (Zellen). Die Zellphase besteht aus n Zellen Zellen, wobei jede Zelle ein Volumen $V_{Zelle} = 16\pi d_{Zellen}^3$ hat und entsprechend Medium verdrängt.....	20
Abbildung 8: Versuchsaufbau für die Strömungssichtbarmachung; Kamera: Olympus OM-D EM5 Mark II, Objektiv: M. Zuiko Digital ED 60mm 1:2.8 Macro; Beleuchtung mit diffusum Licht des Lichtzertes HPB-60D, zusätzlich durch Labor-Doppelschwannenhalslampe OZB-A4515	23
Abbildung 9: Oben: Rechengitter (zur Darstellung hier in der Mitte durchgeschnitten) des 360°-Modells; unten: Detailansicht des Netzes am Übergang vom Kegel-Platte-Bereich zum Messspalt	32
Abbildung 10: Geometrie des 5°-Tortenstücks für Scherapparat Entwurf 2 (0,5mm Spalt) mit Randbedingungen. Die außenliegenden Flächen stellen die Innenwand des angetriebenen Außenzylinders dar und sind deshalb vom Typ „Moving Wall“, die innenliegenden Flächen stellen die Außenwände des feststehenden Innenzylinders dar und sind deshalb vom Typ „Stationary Wall“. An den Schnittflächen sind die Randbedingungen „Periodic“. Dabei wird das Strömungsfeld von der hinteren Schnittfläche auf die vordere Schnittfläche gemappt und kann sich dann im Bereich des 5°-Ausschnitts weiterentwickeln, um dann wieder von der hinteren Schnittfläche auf die vordere gemappt zu werden.	35
Abbildung 11: Detailansicht des Netzes des 5°-Modells am Übergang vom Kegel-Platte-Bereich (oben links) zum Messspalt (unten rechts)	36

Abbildung 12: CAD-Modell der Couette-Baugruppe mit Außenzylinder aus Acrylglas, Innenzylinder aus PEEK und Deckel aus Acrylglas. Messspalt und Kegel-Platte-Bereich können durch die sechs 0,8 mm-Bohrungen mit M3-Verschluss direkt durch 0,4 mm x 20mm-Kanülen (B.Braun) befüllt werden.....	46
Abbildung 13: Scherapparat Entwurf 2 mit der in Abbildung 12 bereits abgebildeten Couette-Baugruppe sowie der Linearführung mit Handklemmung und Ausleger und den Anschlüssen. Die Apparatur passt bequem in eine Sterilbank (Laminar Flow Box) und wird per PC gesteuert. Die Apparatur ist in der Abbildung in Betrieb, sodass die Bohrungen zur Befüllung und zur Befestigung des Deckels nicht erkennbar sind.	47
Abbildung 14: Faulhaber-Steuerungssoftware; im linken Teil des Programms sind die für die Versuche vorher abgespeicherten Fahrprofile aufgelistet, die mit einem Klick gestartet werden können. Unten ist das Terminal, also die Konsole zur Steuerung der Drehzahl mit Textkommandos. Rechts befindet sich die grafische Analyse mit den Rohdaten von Ist-Motordrehzahl (rot) und Motorstromaufnahme (grün).....	51
Abbildung 15: Grafische Benutzeroberfläche des MATLAB-Skripts zur Steuerung des Scherapparats und zur Live-Auswertung der Messdaten. Insbesondere die beiden Plots oben rechts und unten rechts sollen es ermöglichen, festzustellen, ob die Strömung im Scherapparat gerade laminar oder turbulent ist.....	52
Abbildung 16: Fotoaufnahmen der Messung Aqua-Dest-1 bei 1500 U/min; links vor laminar-turbulentem Umschlag; rechts nach laminar-turbulentem Umschlag; Der laminar-turbulente Umschlag erfolgt bei diesem Messlauf direkt nach Erreichen der Zieldrehzahl von 1500 U/min.	57
Abbildung 17: Fotoaufnahmen der Messung PBS-LSM-5 mit zwei laminar-turbulenten Umschlägen; 2700 U/min laminar (oben links); 2700 U/min nach spontanem Umschlag zu turbulenter Strömung (oben rechts); 2700 U/min nach spontaner Relaminarisierung (Mitte); nach Erhöhung der Drehzahl auf 3000 U/min (unten links); 3000 U/min nach spontanem Umschlag zu laminar-turbulenter Strömung (unten rechts); Blendenzahl F/8; Belichtungszeit 1/6000 s; Empfindlichkeit ISO-12800.....	58
Abbildung 18: Typische Anstiege des Drehmoments am Antriebsmotor für die Messläufe Aqua-Dest-1 bis Aqua-Dest-4.....	60
Abbildung 19: Typische Anstiege des Drehmoments am Antriebsmotor für die Messläufe PBS-LSM-1 bis PBS-LSM-4; Der Verlauf von PBS-LSM-5 ist einzeln und vergrößert in Abbildung 20 zusammen mit den entsprechenden Fotografien dargestellt.	62
Abbildung 20: Messlauf PBS-LSM-5 mit den Fotoaufnahmen der Strömung vor und nach den beiden laminar-turbulenten Umschlägen aus Abbildung 17.....	63
Abbildung 21: Entwicklung des Drehmoments über der Reynolds-Zahl Re für die drei untersuchten Flüssigkeiten destilliertes Wasser (Aqua Dest), PBS-LSM und PBS-Ficoll. Das maximale Drehmoment des Antriebsmotors beträgt 17 mNm und wird mit den Flüssigkeiten unterschiedlicher Viskosität unterschiedlich schnell erreicht.	66

Abbildung 22: Entwicklung des Drehmoments für PBS-LSM (links) im Vergleich zum theoretischen Verlauf nach Wendt (1933) und im Scherapparat (Wendt (1933) plus zweimal Drehmoment im Kegel-Platte-Bereich oben und unten). Ab $Re=1500$ (Drehzahl 2700U/min bis 3000U/min) schlägt die Strömung von laminar nach turbulent um. Dabei steigt das Drehmoment sprunghaft um bis zu 0,5 mNm an (siehe Abbildung rechts: vergrößerter Ausschnitt im Bereich $Re=1400...1700$), gleichzeitig steigt das Drehmoment mit weiterer Erhöhung der Dreh- bzw. Reynoldszahl schneller an. Ist der Anstieg vorher $m=2,4 \text{ mNm}/[Re]$, liegt er nach dem laminar-turbulenten Umschlag bei ca. $4,8 \text{ mNm}/[Re]$.	67
Abbildung 23: Torque Scaling – Experimentell ermittelte Drehmomente normiert auf laminares Drehoment nach Wendt (1933)	68
Abbildung 24: 2000 1/s^2 -Isofläche des Q-Kriteriums für 360° -Modell von Scherapparat Entwurf 1 (1,0 mm Spalt) mit variierter Drehzahl des Außenzylinders; 600 U/min (oben links), 1100 U/min (oben rechts), 1200 U/min (unten links) und 3000 U/min (unten rechts)....	71
Abbildung 25: Isofläche des Q-Kriteriums für 10^6 1/s^2 ; v.l.n.r.: Drehzahlen 2100 U/min (laminar), 2400 U/min (turbulent), 2400 U/min (relaminarisiert) und 3000 U/min (turbulent); Die einzelnen Abbildungen sind jeweils links zur Spitze hin abgeschnitten, da dort keine Q-Isofläche für 10^6 1/s^2 mehr auftritt.	72
Abbildung 26: Wandnahe Isofläche der Geschwindigkeit für $V=1 \text{ m/s}$ im Scherspalt. (liegend für bessere Ansicht) und in vergrößerter Ansicht (unten). „Streaks“ in Hauptströmungsrichtung.	74
Abbildung 27: Wandnahe Isofläche der Geschwindigkeit ($V=1 \text{ m/s}$) für 2400 U/min mit turbulenter Strömung (oben) und Relaminarisierung (unten)	75
Abbildung 28: Isoflächen der Geschwindigkeit im Messspalt in 0,5 m/s-Schritten: Oben: 2100 U/min mit glatten Isoflächen; Unten: 3000 U/min mit stark verwirbelten Isoflächen in der Mitte des Scherspalts und Streaks an den beiden wandnahen Isoflächen wie an der orangenen Isofläche in der Nähe des angetriebenen Innenzylinders.	76
Abbildung 29: Scherapparat-Vollmodell - Isofläche der Geschwindigkeit 1 m/s zeigt ebenfalls Streaks in Strömungsrichtung. Davor wurden Stromlinien gelegt, die am Innenzylinder gestartet sind. Diese vereinigen sich zu Bündeln, die sich wirbelartig umeinanderwickeln und die zusammen mit den Streaks auftreten stromabwärts gerichteten Wirbel andeuten.	77
Abbildung 30: Positionen der aufgenommenen Geschwindigkeits- und Scherratenverläufe aus Abbildung 31 bis Abbildung 34	78
Abbildung 31: Geschwindigkeitsprofil im Messspalt für die Drehzahlen 1500 U/min (oben links), 1800 U/min (oben rechts), 2100 U/min (unten links) und 2400 U/min (relaminarisiert, unten rechts)	79
Abbildung 32: Geschwindigkeitsprofil im Messspalt für die Drehzahlen 2400 U/min (turbulent, oben links und relaminarisiert, oben rechts), sowie 2700 U/min (unten links) und 3000 U/min (unten rechts)	80
Abbildung 33: Verteilung der Scherrate im Messspalt für die Drehzahlen 1500 U/min (oben links), 1800 U/min (oben rechts), 2100 U/min (unten links) und 2400 U/min (relaminarisiert, unten rechts)	81

Abbildung 34: Profil der Scherrate im Messspalt für die Drehzahlen 2400 U/min (turbulent, oben links und relaminarisiert, oben rechts), sowie 2700 U/min (unten links) und 3000 U/min (unten rechts)	82
Abbildung 35: Histogramme zur Verteilung der Scherrate im Messvolumen: 1500 U/min (oben links); 1800 U/min (oben rechts); 2100 U/min (unten links); 2400 U/min relaminarisiert (unten rechts); globale Scherrate mit Kreuzen markiert	83
Abbildung 36: Histogramme zur Verteilung der Scherrate im Messvolumen: 2400 U/min turbulent (oben links); 2400 U/min relaminarisiert (oben rechts); 2700 U/min (unten links); 3000 U/min (unten rechts); globale Scherrate mit Kreuzen markiert	85
Abbildung 37: Contourplots der Scherrate für 1500 U/min (oben links), 2400 U/min turbulent (oben rechts), 2400 U/min relaminarisiert (unten links) und 3000 U/min (unten rechts), jeweils hinterlegt mit der Isofläche des Q-Kriteriums	86
Abbildung 38: Histogramme zur Verteilung der Scherrate im Messvolumen; PBS-LSM 1800 U/min (oben links); PBS-LSM 2100 U/min (oben rechts); PBS-Ficoll 1800 U/min (unten links); PBS-Ficoll 2100 U/min (unten rechts); globale Scherrate mit Kreuzen markiert	87
Abbildung 39: Erwärmung der Probe bei 2700 U/min nach 30 Minuten mit zwei unterschiedlichen Temperatursensoren (Typ-K-Thermoelemente) für PBS-LSM (rot, blau) und PBS-Ficoll (lila, grün). Für PBS-Ficoll wurde zusätzlich mit beiden Sensoren nach Öffnen des Deckels (2 min) eine Zeitreihe der Temperatur aufgenommen und jeweils exponentiell zurück auf das Versuchsende (0 min) extrapoliert	88
Abbildung 40: Vitalität mesenchymaler Stammzellen in Prozent (%) zur nicht-gescherten Probe, berechnet mit vier verschiedenen Methoden, über Drehzahl und Zeit in Scherapparat Entwurf 2 mit 0,5 mm Spalt und in PBS-LSM 1,05/2,1 und FicollPM400 1,045/6,6 kombiniert; Messpunkte der Zellvitalität für V4 und V5 blau markiert; dazwischen stückweise linearer Fit; links oben: Vitalität basierend auf der Zahl viabler Zellen nach Gl. (48) bzw. Spalte 3 in Tabelle 15; rechts oben: Vitalität basierend auf der normierten Viabilität nach Gl. (49) bzw. Spalte 4 in Tabelle 15; links unten: Vitalität basierend auf der Zahl der Zelltrümmer von 0 bis 10 μm nach Gl. (50) bzw. Spalte 5 in Tabelle 15; rechts unten: Vitalität der Zellen in der gescherten Probe basierend auf der Zahl der Zellen mit Durchmesser von 14 bis 21 μm in der gescherten Probe im Verhältnis zur Zahl der Zellen mit Durchmesser von 14 bis 21 μm in der ungescherten Probe nach Gl. (51) bzw. Spalte 6 in Tabelle 15	92
Abbildung 41: Mittelwerte der Zellvitalität über der Drehzahl; Arithmetisches Mittel (links) und getrimmtes Mittel (rechts), bei dem der größte und kleinste Wert entfallen	93
Abbildung 42: Vitalität mesenchymaler Stammzellen in Prozent (%) zur nicht-gescherten Probe; über Schubspannung und Zeit in Scherapparat Entwurf 2 mit 0,5 mm Spalt und in PBS-LSM 1,05/2,1 und FicollPM400 1,045/6,6 kombiniert	94
Abbildung 43: Mittelwerte der Zellvitalität über der Schubspannung; Arithmetisches Mittel (links) und getrimmtes Mittel (rechts), bei dem der größte und kleinste Wert entfallen	95
Abbildung 44: Zellvitalität (getrimmtes Mittel) über Drehzahl und Einwirkdauer (links) bzw. Schubspannung und Einwirkdauer (rechts), Fit mit linearem Polynom über gesamten Messraum	96

Abbildung 45: Histogramme zur Verteilung der Scherrate (kumuliert) für PBS-LSM mit 1800 U/min (oben links), 2100U/min (oben rechts) und 2400 U/min (unten links), α -getrimmtes Mittel der Zellvitalität nach Tabelle 15 eingezeichnet 97

Abbildung 46: Histogramme zur Verteilung der Scherrate (kumuliert) für PBS-Ficoll mit 2100 U/min (links) und 3000U/min (rechts), getrimmtes Mittel der Zellvitalität eingezeichnet 98

Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere eidesstattlich durch eigenhändige Unterschrift, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus Veröffentlichungen entnommen sind, habe ich als solche kenntlich gemacht.

Rostock, 05.12.2018

.....

Unterschrift (Vor- und Zuname)

1 Einleitung

1.1 Motivation

Das Wissen über die Auswirkungen von Scherbelastungen auf menschliche Zellen während verschiedener Verfahrensschritte in der Biomedizintechnik und in der Medizin wird mit zunehmender Automatisierung und Leistungssteigerung der Systeme wichtiger denn je. Während früher die meisten Verfahrensschritte per Hand, z.B. durch Spritzen, relativ langsam und deshalb arm an großen Scherbelastungen durchgeführt wurden, werden viele dieser Schritte heute aus Gründen der Vereinfachung, der Sicherheit, der Wiederholgenauigkeit und der Geschwindigkeits- beziehungsweise Leistungssteigerung automatisiert.

So treten beispielsweise bei Mischvorgängen von Zellen zur Verhinderung von Sedimentation und Adhärenz hohe Scherraten auf, die die zu durchmischenden Zellen schädigen können. Um diesen Zielkonflikt von Durchmischung und Scherbelastbarkeit optimal zu lösen, reicht es nicht, lediglich mit Hilfe von numerischen Strömungssimulationen oder experimentellen Untersuchungen die Scherbelastungen in den zu entwickelnden oder zu optimierenden Systemen zu bestimmen, wie in Drobek & Seitz (2013). Es muss gleichzeitig auch das Wissen gewonnen werden, bei welchen Scherbelastungen die in Frage kommenden Zellen oder Zelllinien dauerhaft geschädigt beziehungsweise devitalisiert werden.

Eine weitere Anwendung ist die wasserstrahl-assistierte Liposuktion (WAL). Hier wird mit Hilfe einer Kanüle eine Tumescenzlösung in das menschliche Unterhautfettgewebe gespült (Meyer et al., 2015), um dort vorhandene Fett- und Stammzellen lokal zu betäuben und möglichst schonend für das umliegende Gewebe zu aspirieren. Um die abzusaugenden Fett- und Stammzellen selbst möglichst schonend zu prozessieren, ist auch bei der Absaugung während der WAL und dem Transport der Zellen ein detailliertes Wissen über die Strömungsverhältnisse und die Scherbelastung wesentlich.

Im Rahmen der Regenerativen Medizin und der vermehrten Wiederverwendung von z.B. mesenchymalen Stammzellen für dermatologische Zwecke und für die Wundheilung werden neue Verfahren zum Abtrennen der mesenchymalen Stammzellen aus dem Fettgewebe erforscht, die auf Eintrag von Enzymen wie Kollagenasen verzichten sollen (Busser et al., 2014). Unter anderem stehen mechanische Verfahren, die die Stammzellen durch Scherkräfte von den Fettzellen abtrennen sollen, im Fokus. Auch hierfür ist die Scherbelastbarkeit der abzutrennenden Zellen wesentlich, da ansonsten die Gefahr besteht, die Stammzellen zwar aus dem Fettgewebe herauslösen zu können, sie dabei aber dauerhaft zu schädigen.

In den drei vorgestellten Anwendungen treten hohe Scherraten auf, die die zu prozessierenden Zellen schädigen können. Um für diese Anwendungsgebiete in Zukunft neue leistungsfähige und gleichzeitig zellschonende Systeme entwickeln zu können, soll im Rahmen dieser Arbeit ein neuer Versuchsaufbau auf Basis eines Taylor-Couette-Apparats entwickelt werden. Bei dieser Apparatur soll die Zellsuspension in den Spalt zwischen zwei konzentrischen Zylindern, von denen der äußere von einem Elektromotor angetrieben wird, gefüllt werden und so die Scherbelastbarkeit von Zellen in Suspension bei geringen und hohen Scherraten experimentell ermittelt werden.

Im Gegensatz zu vorhandenen Aufbauten sollen bei der zu entwickelnden Versuchsapparatur durch den angetriebenen Außenzylinder hohe Scherraten auf die Zellen aufgeprägt werden, aber die Strömung gleichzeitig laminar bleiben. Um dies sicherzustellen, sollen intensive experimentelle und numerische Untersuchungen durchgeführt werden.

1.2 Aufbau der Arbeit

Die vorliegende Arbeit gliedert sich in 5 Kapitel.

Nach dem einleitenden Kapitel 1 soll in Kapitel 2 der aktuelle Forschungsstand beleuchtet werden. Zunächst soll vorgestellt werden, welche Versuchsaufbauten und Studien zur Scherung von Zellen in Suspension in der Literatur beschrieben sind. Im Anschluss wird ein kurzer Abriss des Forschungsstandes auf dem Gebiet der Taylor-Couette-Strömung gegeben, insbesondere zu der im Rahmen dieser Arbeit technisch umgesetzten Variante mit feststehendem Innenzylinder und angetriebenem Außenzylinder. Weiterhin soll der hier auftretende Übergang von laminarer zu turbulenter Strömung durch unterkritische Transition sowie der Stand der Technik auf dem Gebiet der numerischen Strömungssimulation beschrieben werden.

In Kapitel 3 wird die Methodik bzw. Herangehensweise dieser Arbeit vorgestellt. Zunächst werden die Anforderungen an die zu entwickelnde Apparatur zur Aufbringung von Scherkräften auf Zellen sowie die experimentellen und numerischen Untersuchungen erörtert: Der Bestimmung der Massendichte der untersuchten Stammzellen (Abschnitt 3.3) zum Anmischen zweier dichteangepasster Medien mit unterschiedlicher Viskosität folgt die experimentelle Ermittlung des laminar-turbulenten Umschlags (Abschnitt 3.4) mit Hilfe der Strömungssichtbarmachung und der Bestimmung des Drehmoments. Numerisch soll der laminar-turbulente Umschlag per Grobstruktursimulation simuliert werden (Abschnitt 3.5). Aus den Simulationen sollen weiterhin die Verläufe der Geschwindigkeit und der Scherrate im Scherspalt sowie Histogramme zur Häufigkeit der jeweiligen Scherraten im Schervolumen gewonnen werden. Die Erwärmung der Probe durch die Scherung wird in Abschnitt 3.6 thematisiert, während in Abschnitt 3.7 schließlich die Versuche zur Scherbelastbarkeit mesenchymaler Stammzellen vorgestellt werden.

In Kapitel 4 wird zunächst die realisierte Apparatur beschrieben und hinsichtlich der gestellten Anforderungen bewertet sowie die Bedienung der der Apparatur vorgestellt. Weiterhin werden die Ergebnisse zu den in Kapitel 3 vorgestellten Versuchen zur experimentellen und numerischen Ermittlung des laminar-turbulenten Umschlags sowie der numerischen Ermittlung zur Verteilung von Geschwindigkeit und Scherrate im Messvolumen, zur experimentellen Bestimmung der Schererwärmung und zu den Zellversuchen zur Scherbelastbarkeit in Kapitel 4 vorgestellt und diskutiert.

Abschließend erfolgt in Kapitel 5 eine Zusammenfassung der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen und ein Ausblick auf sinnvolle anschließende Untersuchungen.

2 Stand von Forschung und Technik

2.1 Versuchsaufbauten und Studien zur Scherung von Zellen

Die Scherung von Zellen war bisher hauptsächlich bei Blutströmungen von Interesse. Hohe Scherraten treten hier insbesondere an Gefäßverengungen oder bei der Prozessierung von Blut, beispielsweise in Blutpumpen (Zhang et al., 2011), auf. Es gibt diverse Veröffentlichungen zur Scherung mit verschiedenen Geometrien, z.B. im Rheometer mit konzentrischen Zylindern, also einem Couette-System, oder einem Platte-Platte-System oder umgebauten Blutpumpen. Hier ist die Auswertung über die Hämoglobinfreisetzung besonders einfach. Werte für die Scherbelastbarkeit für Blut liegen soweit vor.

Leverett et al. (1972) haben erstmals die Schädigung von roten Blutkörperchen (Erythrozyten) erfolgreich in einem Rotationsviskosimeter untersucht und mit früheren Arbeiten am turbulenten Strahl (Forstrom, 1969), nahe einem schwingenden Wolfram-Draht (Williams et al., 1970), nahe einer durch Ultraschall zur Schwingung angeregten Gasblase (Rooney, 1970) sowie in der Rohrströmung (Bacher & Williams, 1970) verglichen. Dabei haben sie selbst eine Grenzbelastung im Sinne einer Scherspannung von 150 Pa festgestellt, ab welcher die Erythrozyten verstärkt Hämoglobin freigeben. Die sich hiervon unterscheidenden Grenzbelastungen aus den früheren Arbeiten wurden, bezogen auf ihre jeweiligen Einwirkdauern, die in ihren Größenordnungen von Leverett et al. (1972) abgeschätzt wurden, grafisch aufgetragen und lieferten bereits ein konsistentes Bild der Scherbelastbarkeit von Blut.

Neben reinen Rheometer-Untersuchungen wurden auch rheoskopische Untersuchungen von Erythrozyten durchgeführt. Schmid-Schönbein & Wells (1969) untersuchten optisch die Deformierbarkeit von Erythrozyten sowie die Viskosität verschiedener Erythrozyten-Drextan-Suspensionen abhängig von der Scherrate (siehe Abbildung 1). Dabei zeigten sie die Änderung der Form der Erythrozyten von bikonkav hin zu immer länger gezogenen Ellipsoiden und die damit verbundene Abnahme der Viskosität der Suspension.

Bessis et al. (1980) haben die Ektazytometrie entwickelt, bei der die Erythrozyten während der Scherung von einer Laserquelle bestrahlt und die Beugungsmuster an den Erythrozyten analysiert werden, woraus die Deformation der Erythrozyten bei der jeweiligen Scherung ermittelt werden kann. In einer Weiterentwicklung haben Shin et al. (2004) mit Hilfe der Laserbeugung in einem „laser-diffraction slit rheometer“ (LDSR) parallel die Deformierbarkeit von Erythrozyten in Blut, die Scherspannung sowie die Viskosität des Blutes gemessen und damit gezeigt, dass die Viskosität des Blutes stark von der Deformierbarkeit der Erythrozyten abhängig ist. Die Zellprobe befindet sich im LDSR nicht in einer speziellen Messgeometrie, wie bei der Rheometrie, der Ektazytometrie oder der Rheoskopie, sondern in einem Mikrokanal in einer Einwegkassette, sodass das Verfahren für den klinischen Einsatz geeignet ist.

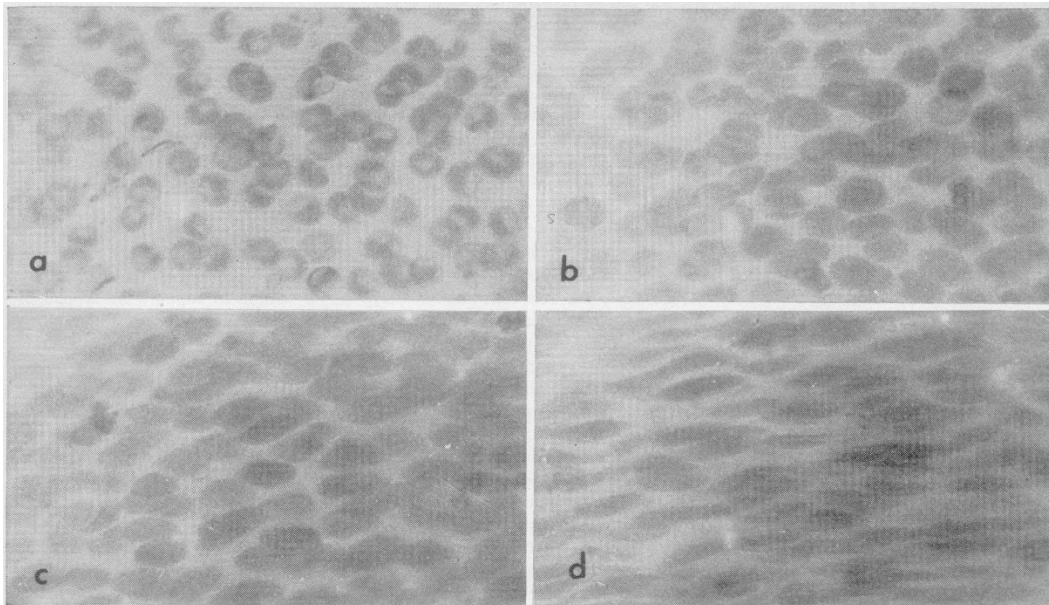


Abbildung 1: Erythrozyten bei verschiedenen Scherraten (a) im Ruhezustand, (b) 11,5 1/s, (c) 46 1/s und (d) 230 1/s. From Schmid-Schönbein & Wells (1969). Reprinted with permission from AAAS.

Um die Scherbelastbarkeit roter Blutkörperchen über die Hämolyse und die damit verbundene Hämoglobinfreisetzung in zwei durchströmten Geometrien und damit ohne Verschlussmechanismus zu bestimmen, haben Zhang et al. (2011) zwei Blutpumpen modifiziert. Bei beiden Blutpumpen wurde der Rotor mit seinen Blättern ausgewechselt und durch eine Rotorspindel ersetzt, sodass ein Couette-ähnliches Setup mit einem engen Spalt und einem angetriebenen Innenrotor entsteht. Die mit beiden entwickelten Aufbauten erzielten Ergebnisse unterschieden sich von vorherigen Untersuchungen, von u.a. Giersiepen et al. (1990) und Paul et al. (2003), ähnelten jedoch den Untersuchungen von Song et al. (2003).

Die Untersuchungen von Hentzler (1996, 2000) beschäftigen sich nicht mit der Belastbarkeit von Blutzellen, sondern mit Tierzellen bzw. Mikroorganismen. Hentzler (1996, 2000) hat verschiedene Modellreaktoren, unter anderem gerührte Tanks, Blasensäulen und auch ein Rheometer mit angetriebenem Innenzylinder mit Hilfe von Flocken-Modellpartikeln, die abhängig von der Scherbelastung Masse verlieren, sowie mit Mikroorganismen und Tierzellen untersucht. Der Fokus bei dieser Untersuchung lag dabei jedoch hauptsächlich auf technischen Reaktoren mit turbulenter Strömung, das untersuchte Rheometer diente nur zum Vergleich mit anderen Quellen, die Versuche, zum Beispiel mit Blut, am Rheometer durchgeführt haben.

Viele der oben beschriebenen Systeme, wie die Rührer und Blasensäulen, aber auch die Rheometer mit angetriebenem Innenzylinder oder mit Platte-Platte-Geometrie, haben die Einschränkung, dass keine hohen Scherraten bei gleichzeitig sichergestellter laminarer Strömung angefahren werden können. Stattdessen wird die Strömung turbulent und die Scherrate im Schervolumen wird heterogen und transient.

2.2 Taylor-Couette-Strömung

Da Zellen in einer Apparatur mit einstellbarer Intensität und Einwirkdauer beaufschlagt werden sollen, ist ein Aufbau mit kontinuierlichen Strömungsbedingungen bei gleichzeitig kompakten Abmessungen nötig. Es bietet sich deshalb ein Aufbau mit rotierender Geometrie an, der ein möglichst gleichmäßiges Scherprofil erzeugt. Dieses Kriterium erfüllt ein Aufbau, bei dem die Probe im Spalt zwischen zwei konzentrischen Zylindern, von denen mindestens einer angetrieben wird, strömt.

Als Taylor-Couette-Strömung wird die Strömung zwischen zwei konzentrischen Zylindern, also einem inneren Vollzylinder und einem äußeren Hohlzylinder, bezeichnet, siehe u.a. Donnelly (1991) oder Kuhlmann (2014), wobei mindestens einer dieser beiden Zylinder rotiert und damit die Strömung antreibt.

Unterteilen lässt sich die Taylor-Couette-Strömung in drei Fälle mit jeweils unterschiedlichen Strömungseigenschaften: So können der innere und äußere Zylinder sich in die gleiche Richtung drehen und dabei der innere Zylinder schneller rotieren als der äußere, mit dem Spezialfall, dass ausschließlich der innere Zylinder rotiert, während der äußere Zylinder stillsteht („Inner Cylinder Rotating“, ICR). Dieser Spezialfall ist in der Literatur aufgrund des vergleichsweise einfachen Setups und seiner vielen verschiedenen auftretenden Strömungsstrukturen der am häufigsten untersuchte Fall. Weiterhin ist es die bei Rheometern übliche Bauweise. Alternativ kann bei gleicher Rotationsrichtung der äußere Zylinder schneller rotieren als der Innere, wieder mit dem Spezialfall, dass nur der äußere Zylinder rotiert, während der innere Zylinder stillsteht („Outer Cylinder Rotating“, OCR). Dieser spezielle Fall ist in den letzten Jahren aufgrund der hier auftretenden und noch nicht völlig verstandenen subkritischen Transition vermehrt in den Focus gerückt, siehe Burin & Czarnocki (2012) für experimentelle Untersuchungen zum Umschlag oder Ostilla-Monico (2016) für numerische Strömungssimulationen. In dieser Arbeit soll dieser Fall näher untersucht und zur Scherbeaufschlagung von Zellen in Suspension genutzt werden, da der Umschlag zur turbulenten Strömung hier deutlich später erfolgt. Ferner können sowohl innerer als auch äußerer Zylinder angetrieben werden und dabei gegeneinander rotieren („Counter-Rotating“, CR). Dies ist manchmal gewünscht, um höhere Scherraten bei zwei Antrieben mit begrenzter Drehzahl zu erzeugen und manchmal, um eine Stagnationsebene zu erzeugen. In dieser Stagnationsebene können dann zum Beispiel Blasen oder auch Zellen ohne Geschwindigkeit, aber mit einer Geschwindigkeitsänderung, also Scherrate, gehalten und während der Scherung von einer Kamera beobachtet werden.

Stokes (1848) beschrieb bereits ein Gedankenexperiment zur Taylor-Couette-Strömung. Dabei leitete er auf Basis der an einem Fluidteilchen angreifenden Kräfte her, dass bei schnellerer Rotation des inneren Zylinders die Fluidteilchen durch die Zentrifugalkraft nach außen gedrückt werden und so Wirbel entstehen. Deshalb bleibt die Strömung beim außen-angetriebenen Zylinder bis zu deutlich höheren Drehzahlen stabil als beim rein innen-angetriebenen oder sich schneller drehenden inneren Zylinder.

In den letzten Jahrzehnten wurden die meisten experimentellen und numerischen Untersuchungen an Taylor-Couette-Systemen mit rotierendem Innenzylinder und feststehendem Außenzylinder durchgeführt, da die Strömung am rotierenden Innenzylinder instabil ist und sich so bereits bei geringen Drehzahlen mit den (laminaren) Taylorwirbeln erste kohärente Strömungsstrukturen (-zustände) entwickeln. Mit weiterer Erhöhung der Drehzahl entstehen aus den laminaren Taylor-Wirbeln zunächst wellige Taylorwirbel (Wavy Vortex Flow). Aus diesen können dann durch weitere Erhöhung der Drehzahl des Innenzylinders über

weitere Bifurkationen verschiedene weitere Strömungszustände, unter anderem Modulated Wavy Vortices, entstehen, siehe zum Beispiel Andereck et al. (1986).

Wesentliche experimentelle Arbeiten kamen dazu von Taylor (1923, 1936), Wendt (1933), Coles (1965), Andereck et al. (1986) und Lathrop et al. (1992). Die ersten drei Autoren haben jeweils Versuchsstände entwickelt, bei denen Innen- und Außenzylinder unabhängig voneinander angetrieben werden können. In ihren Arbeiten haben sie zwar hauptsächlich Untersuchungen mit innenangetriebenem Zylinder oder gegenläufiger Rotation durchgeführt, ein kleiner Teil der Arbeit bestand jeweils jedoch auch in der Untersuchung der Strömung mit rein außenangetriebenem Zylinder, so dass hier die ersten experimentellen Ergebnisse nach den frühen Arbeiten von Couette (1890) und Mallock (1895), die sich jedoch eher mit der Bestimmung der Viskosität beschäftigten, entstanden.

Taylor's Aufsatz von 1923 zählt laut Donnelly (1991) zu den wichtigsten Arbeiten in der Physik des 20. Jahrhunderts. In den 1920er-Jahren waren sowohl die Navier-Stokes-Gleichungen als auch die für ihre Gültigkeit nötige Wandhaftung (no-slip boundary condition) noch umstritten. Taylor (1923) berechnete in seinem Paper mit Hilfe der Linearen Stabilitätstheorie und unter Annahme der Wandhaftung für konzentrische Zylinder, bis zu welchen Drehzahlen die Strömungen stabil, also laminar, bleiben würden. Er ermittelte weiterhin mit seinem eigenen experimentellen Aufbau optisch, bis zu welchen Drehzahlen die Strömungen stabil bleiben. Die gute Übereinstimmung seiner theoretischen und experimentellen Ergebnisse bestätigte die Richtigkeit der Annahme der Wandhaftung endgültig und sorgte damit vor allem für die allgemeine Anerkennung der damals noch in Teilen der Wissenschaft ebenfalls umstrittenen Navier-Stokes-Gleichungen. Im Falle des schneller rotierenden äußeren Zylinders beziehungsweise des komplett feststehenden Innenzylinders konnte Taylor bis zur maximalen Drehzahl des Außenzylinders von 300 U/min keinen laminar-turbulenten Umschlag feststellen.

Um auch bei außen angetriebenem Zylinder den Umschlag bestimmen zu können, entwickelte Taylor (1936) eine neue Apparatur mit etwas anderen Abmessungen und mit einer erreichbaren Drehzahl von 1800 U/min am Außenzylinder. Hier wurde der Umschlag nicht optisch, sondern durch Drehmomentmessungen bestimmt. So stellte Taylor fest, dass sich bei angetriebenem Außenzylinder (OCR) ab bestimmten Reynolds-Zahlen die Messungen des Drehmomentes vom theoretisch vorhergesagten Drehmoment unterschied, also vermutlich ein laminar-turbulenter Umschlag stattgefunden haben muss.

Wendt (1933) verwendete bereits vor Taylor einen Aufbau zur Drehmomentmessung mit nichttransparentem Außenzylinder (Radius 147 mm) und auswechselbaren Innenzylindern mit den Radien 100 mm, 125 mm und 137,5 mm (siehe Abbildung 2). Dadurch erhielt er Spaltweiten von 47 mm, 22 mm und 9,5 mm sowie Radienverhältnisse von 0,68, 0,85 und 0,935. Er verwendete ein Pitotrohr zur Messung von statischem und dynamischem Druck und zum Errechnen der Geschwindigkeitsprofile im Spalt. Im Wesentlichen maß er aber, wie auch Taylor (1936), das Reibungsmoment, das über die Flüssigkeit vom einen auf den anderen Zylinder übertragen wird. In seiner umfangreichen Untersuchung befasste er sich gleichermaßen mit miteinander und gegeneinander rotierenden Zylindern und den beiden Grenzfällen, dem angetriebenen Innenzylinder bei gleichzeitig ruhendem Außenzylinder und dem angetriebenen Außenzylinder bei gleichzeitig ruhendem Innenzylinder. Für letzteren, hier interessanten Fall stellte er fest, dass der laminare Umschlag mit steigendem Verhältnis $\Delta r/r_o$, also Spalt/Außenradius, erst bei höheren

Reynolds-Zahlen stattfindet. Weiterhin stellte er fest, dass die Strömung bis zu höheren Reynolds-Zahlen stabil bleibt, wenn Deckel und Boden mit dem Außenzylinder mitrotieren.

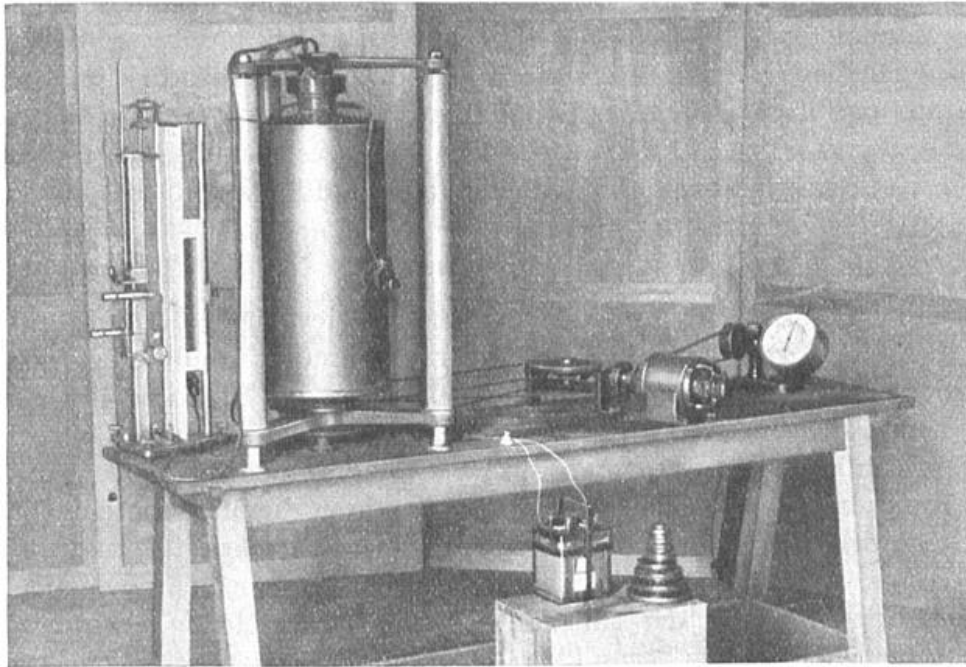


Abbildung 2: Versuchsaufbau von Wendt (1933). Reprinted by permission from Springer Nature Customer Service Centre GmbH: Springer Nature, Ingenieur-Archiv, Turbulente Strömungen zwischen zwei rotierenden konaxialen Zylindern, F. Wendt, Copyright 1933

Schultz-Grunow (1959) leitete die exakte Lösung der linearen Stabilitätstheorie für eine Couette-Strömung zwischen zylindrischen Wänden ohne die vorher, unter anderem bei Taylor (1923), verwendeten Vereinfachungen her und fand vollständige Stabilität. Jedoch widersprach dies den bisherigen experimentellen Ergebnissen von Couette (1890), Mallock (1896), Taylor (1923, 1936) und Wendt (1933). Deshalb entwickelte er eine eigene Apparatur mit festem Innenzylinder und angetriebenem Außenzylinder und untersuchte die Stabilität der Couette-Strömung durch Strömungssichtbarmachung mit Hilfe von Aluminiumfarbpigmenten. Er erreichte dabei stabile laminare Strömung bis $Re_o = 5 \cdot 10^5$ bei ruhendem Innenzylinder, also 5 bis 8-fach höhere Reynolds-Zahlen im Vergleich zu seinen Vorgängern, begrenzt lediglich durch die maximale Drehzahl seiner Apparatur. Er begründete dies mit konstruktiven Vorteilen, u.a. durch den Verzicht auf eine Drehmomenten-Messung, aber auch durch noch genauere Fertigung, u.a. durch statisches und dynamisches Auswuchten, durch maximalmöglichen Rundlauf und durch höhere Zentrität der Zylinder.

Coles (1965) wiederum nahm die Arbeit von Schultz-Grunow (1959) zum Anlass, baute ebenfalls eine Apparatur zur Strömungssichtbarmachung (Radius Außenzylinder 57,6 mm und Radius Innenzylinder 50,8 mm bei einem Spalt von 6,8 mm und einem Radiusverhältnis von 0,882) der Couette-Strömung und beschrieb das Transitionsverhalten in seiner Taylor-Couette-Anordnung mit außen- und innenangetriebenem Zylinder über weite Reynoldszahl-Bereiche. Er verwendete ein Silikonöl als Flüssigkeit. Zur Sichtbarmachung der Strömung dienten, wie auch bei Schultz-Grunow (1959), Aluminiumfarbpigmente. Dabei konnte er in gewissen Bereichen des Parameterraumes während der laminaren Strömung gleichzeitig intermittente turbulente Patches beobachten. Dies sind Bereiche mit

einer festen Grenzfläche und mit begrenzter Lebensdauer, in denen zeitlich und örtlich gleichzeitig zur laminaren Strömung Turbulenz vorherrscht. Am rein außen angetriebenen Zylinder mit ruhendem Innenzylinder bildete sich bei Coles Intermitenz im Fluid ab circa $Re_o > 37000$ aus, also bei Reynoldszahlen, die eine Größenordnung kleiner waren als bei Schultz-Grunow (1959) Weiterhin beobachtete Coles als erster die Spiral-Turbulenz, also sehr große zusammenhängende turbulente Patches.

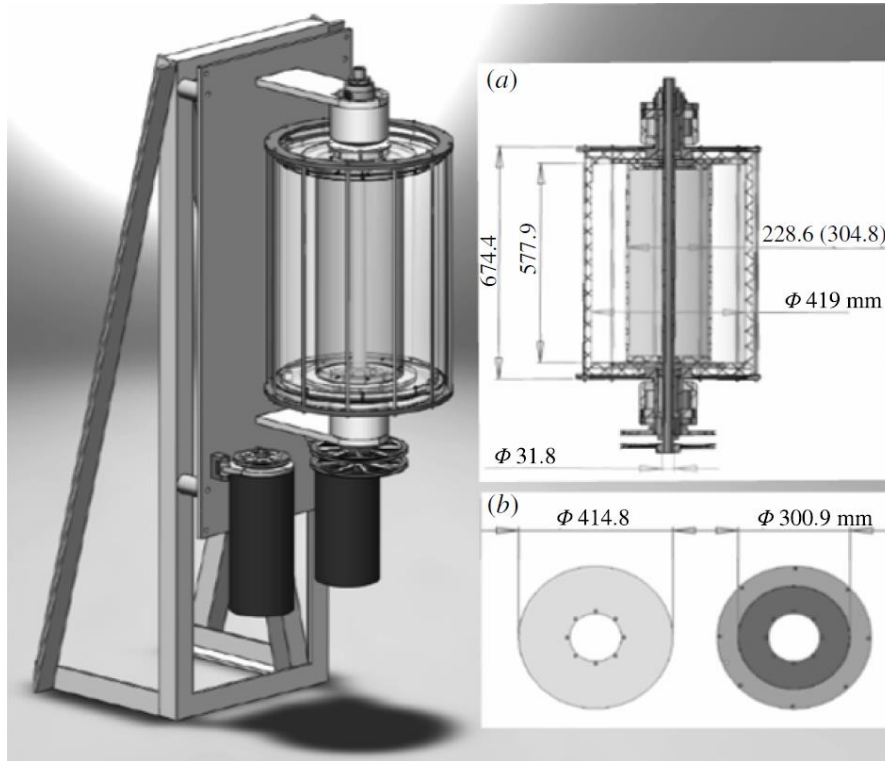


Abbildung 3: Versuchsaufbau von Burin & Czarnocki (2012) zum Taylor-Couette-Spalt. Burin MJ, Czarnocki CJ (2012) Subcritical transition and spiral turbulence in circular Couette flow. *J. Fluid Mech* 709:106-122

Leider liefert Coles für seine Untersuchungen mit angetriebenem Außenzylinder bei gleichzeitig ruhendem Innenzylinder nur Ergebnisse mit dem zuerst von ihm verwendeten rauhen Innen- und Außenzylinder, bei denen die Materialstärke im Prozentbereich variiert und der Rundlauf und die optische Beobachtbarkeit der Strömung entsprechend schlecht ist. Diese rauhen Zylinder wurden von ihm für die weiteren Untersuchungen durch präzisere polierte Zylinder ersetzt, aber Ergebnisse mit rein außenangetriebenem Zylinder wurden nicht mehr geliefert. Entsprechend ist die relativ niedrige kritische Reynolds-Zahl bei Transition von nur 37000 für ein Verhältnis $\Delta r/r_o=0,118$ einzuordnen.

Andereck (1986) beschreibt einige neue Strömungszustände, die bei Taylor (1923) und Coles (1965) zuvor noch nicht beobachtet wurden und beschreibt alle nun bekannten Strömungszustände und ihre Transition einheitlich.

Burin & Czarnocki (2012) fassen die bisherigen Ergebnisse zur Transition bei außen angetriebenem Zylinder mit feststehenden Innenzylinder seit Mallock (1896) zusammen und zeigen die Abhängigkeit der Reynolds-Zahl des laminar-turbulenten Umschlags vom Verhältnis der Spaltbreite zum Radius des angetriebenen Außenzylinders, siehe Abbildung 4, eine Abhängigkeit die aber bereits Wendt (1933) erkannte.

Interessant ist weiterhin, dass Burin & Czarnocki (2012) mit ihrem Aufbau (siehe Abbildung 3) nur bei engem Spalt ($\eta=0,97$) die bereits von Coles (1965) beschriebene Spiralturbulenz beobachten. Hier bilden sich, von Deckel und Boden ausgehend, angewinkelte turbulente Patches, die sich in weniger als 1 Minute zu Spiral Turbulence entwickeln. Bei breiteren Spalten ($\eta=0,73$ bzw. $\eta=0,55$) hingegen beobachten Burin & Czarnocki (2012) keinerlei Spiral Turbulence oder ähnlich räumlich abgegrenzte Zwischenzustände. Hier entwickelt sich die Turbulenz, auch mit subkritischer Transition, von der vertikalen Mittelebene ausgehend, an der sich die Ekman-Strömungen treffen und füllt nach kurzer Zeit den gesamten Spalt in vertikaler, nicht jedoch in radialer Richtung.

Hysterese hingegen, also ein Turbulentbleiben der Strömung beim Absenken der Reynoldszahl unter diejenige, bei der ursprünglich der laminar-turbulente Umschlag erfolgte, konnten Burin & Czarnocki (2012) sowohl bei engem Spalt ($\eta=0,97$) als auch breiteren Spalten ($\eta=0,73$ bzw. $\eta=0,55$) beobachten. Während bei den breiteren Spalten bei Unterschreiten der Transitions-Reynoldszahl von der vollturbulenten Strömung große intermittente Patches verblieben und sich gleichzeitig andere Bereiche relaminisierten, brach beim engen Spalt bei Unterschreiten der Transitions-Reynoldszahl jedoch das Spiralmuster auf, sodass sich kleinere turbulente Patches unterschiedlichen Winkels und unterschiedlicher Ausdehnung bilden konnten.

Vor allem aber zeigen Burin & Czarnocki (2012), dass lokal hohe Scherraten mit turbulenten Fluktuationen korrelieren. Gerade beim engen Spalt zeigen die Geschwindigkeitsprofile über den Spalt bei bereits turbulenter Strömung hohe Geschwindigkeitsgradienten und damit Scherraten nahe den Zylinderwänden.

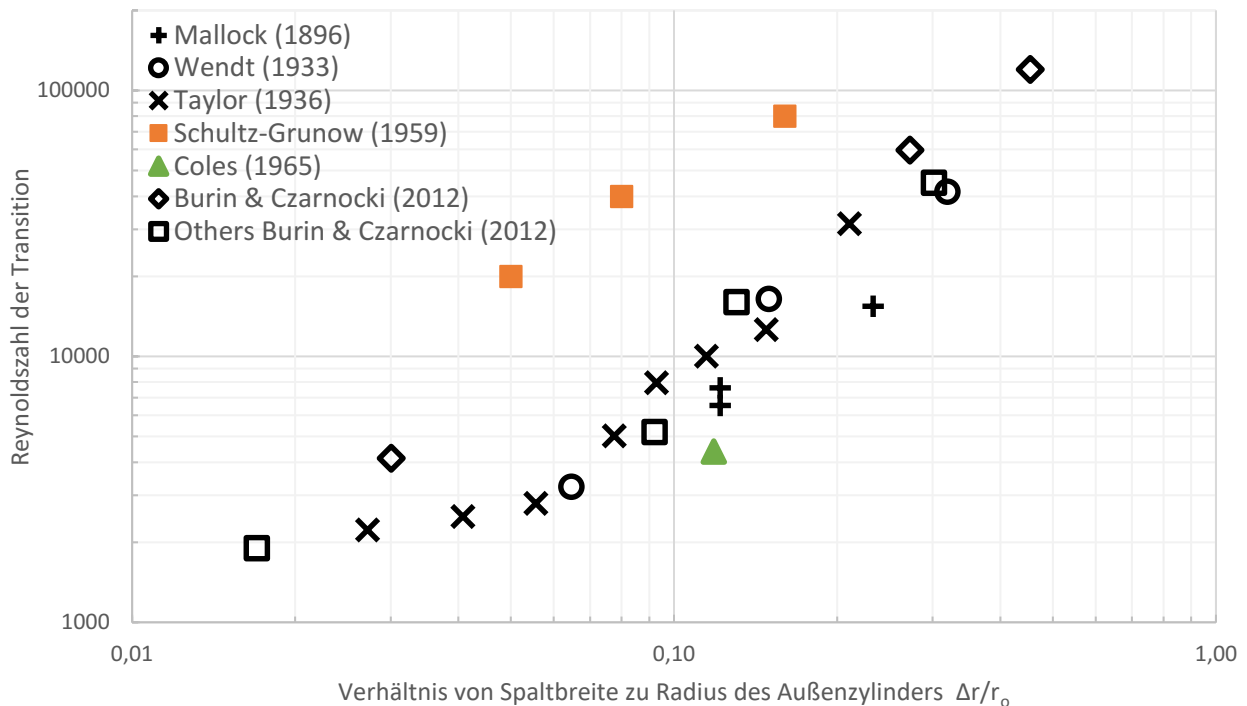


Abbildung 4: Reynolds-Zahl Re der Transition über $\Delta r/r_o=1-\eta$ ab Mallock (1896). Konstruiert nach Burin & Czarnocki (2012) und erweitert um Schultz-Grunow (1959) und Coles (1965)

Mit den Arbeiten von Deguchi et al. (2014) und Ostilla-Monico et al. (2016) wurde erste Versuche unternommen, den subkritischen laminar-turbulenten Umschlag in der Taylor-Couette-Strömung zu

simulieren. Ostillia-Monico et al. (2016) haben dafür Direkte Numerische Simulationen (DNS) durchgeführt und dabei den laminar-turbulenten Umschlag durch Aufprägen von weißem Rauschen als Störung erwirkt.

In den letzten Jahren gab es vermehrt Anstrengungen, die theoretische Basis einer ganzen Reihe ähnlicher Strömungen zu vereinheitlichen, wie z.B. der ebenen Couette-Strömung, der rotierenden ebenen Couette-Strömung und der Taylor-Couette-Strömung. Um Strömungen dieser unterschiedlichen Geometrien zu vergleichen, führen Dubrulle et al. (2005) neue Kontrollparameter ein, die nicht mehr auf geometrischen Größen basieren, wie Spaltbreite und Reynoldszahl, sondern auf dynamischen Größen der Strömung. Diese Kontrollparameter sind eine azimuthale Reynoldszahl Re , die den Einfluss der Scherung wiedergibt, eine Rotationszahl R_Ω , in die die Reynoldszahlen des Außen- und Innenzylinders eingehen und die den Einfluss der Rotation wiedergibt sowie eine Krümmungszahl R_C . Mit Hilfe dieser neuen Kontrollparameter sollen die bereits durchgeführten Experimente all der ähnlichen Strömungen miteinander vergleichbar gemacht werden, um die wesentlichen Mechanismen der Transition besser verstehen zu können.

Abschließend soll an dieser Stelle nochmals zusammengefasst werden, was in den Untersuchungen der letzten 140 Jahre zu Taylor-Couette-Strömungen allgemein und zu Taylor-Couette-Strömungen mit angetriebenem Außenzylinder und feststehenden Innenzylinder im Speziellen bereits erarbeitet wurde und somit bereits aus diesem Kapitel mitgenommen werden kann:

Bei unterkritischer Transition, die beim schneller rotierenden Außenzylinder auftritt, also auch beim angetriebenen Außenzylinder und gleichzeitig feststehenden Innenzylinder, bleibt die Strömung bis zu deutlich höheren Reynoldszahlen stabil, verglichen mit überkritischer Transition am innenangetriebenen Zylinder. Der Anstieg des Drehmoments beim Umschlag ist auch deutlich kleiner.

Bei unterkritischer Transition am Taylor-Couette-Spalt erfolgt der Umschlag etwas später bei größerer Spaltbreite und wenn Deckel und Boden mit dem Außenzylinder mitrotieren. Ein exakter Rundlauf führt ebenfalls zu einem späteren laminar-turbulenten Umschlag.

Bei unterkritischer Transition im Taylor-Couette-System können intermittente Patches auftreten, also Bereiche in der Strömung, die bereits turbulent sind und klar von der umgebenden laminaren Strömung abgegrenzt sind.

Bei unterkritischer Transition im Couette-Spalt tritt Hysterese auf, d.h. die Strömung relaminarisiert beim Absenken der Reynolds- bzw. Drehzahl bei niedrigeren Dreh-/Reynoldszahlen verglichen mit dem ursprünglichen Umschlag von laminar nach turbulent.

Unterkritische Transition am Taylor-Couette-Spalt ist phänomenologisch noch nicht verstanden und wird in den letzten 30 Jahren wieder intensiver erforscht. Wahrscheinlich gibt es deshalb bisher sehr wenige numerische Arbeiten zur Simulation des laminar-turbulenten Umschlags bei angetriebenem Außenzylinder.

2.3 Laminar-turbulenter Umschlag (Transition)

Um sicherzustellen, dass die Beaufschlagung der Zellen mit Scherung bei laminarer Strömung erfolgt und damit die Scherrate im Messvolumen möglichst homogen und zeitlich konstant ist, soll im Rahmen dieser

Arbeit der laminar-turbulente Umschlag im Taylor-Couette-Spalt mit angetriebenem Außenzylinder und feststehendem Innenzylinder untersucht werden.

Strömungen lassen sich hinsichtlich ihres Transitionsverhaltens von laminar nach turbulent in zwei Klassen einteilen: Bei der einen Klasse von Strömungen, den Strömungen mit überkritischer Transition, lässt sich das Transitionsverhalten sehr gut mit Hilfe der Linearen Stabilitätstheorie (LST) beschreiben. Mit ihr lässt sich eine kritische Reynoldszahl errechnen, bei der die Strömung von laminar nach turbulent umschlagen soll. Hier werden infinitesimal kleine Störungen auf die zu untersuchende Strömung aufgeprägt und es wird dann errechnet, ob diese infinitesimal kleinen Störungen gedämpft werden, die Strömung also laminar bleibt, oder ob sie verstärkt werden und die Strömung schließlich von laminar nach turbulent umschlagen wird, siehe Oertel jr. H (2012).

Von der überkritischen Transition, die bei der per linearer Stabilitätstheorie ermittelten kritischen Reynolds-Zahl einsetzt, lässt sich eine völlig andere Form der Transition abgrenzen, die unterkritische Transition, die in der zweiten Klasse von Strömungen auftritt.

Unterkritische Transition

Bei dieser sogenannten unterkritischen Transition setzt laminar-turbulenter Umschlag deutlich unter der mit der laminaren Stabilitätstheorie errechneten kritischen Reynoldszahl ein, die laminare Stabilitätstheorie kann den laminar-turbulenten Umschlag also nicht korrekt vorhersagen. Für zahlreiche Strömungen, im Wesentlichen parallele Scherströmungen, ergibt die lineare Stabilitätstheorie sogar, dass diese über den gesamten Reynoldszahl-Bereich gegenüber infinitesimal kleinen Störungen stabil bleiben, so z.B. für die laminare Rohrströmung und für die ebene Couette-Strömung, vgl. Baggett et al. (1997), sowie für die Taylor-Couette-Strömung mit fest stehendem Innenzylinder und angetriebenem Außenzylinder, vgl. Schultz-Grunow (1959). In der Realität wird jedoch jede Strömung bei hoher Reynoldszahl Re von laminar nach turbulent umschlagen.

Der technisch wichtigste Vertreter der parallelen Scherströmungen ist die Rohrströmung, auch Hagen-Poiseuille-Strömung, die entsprechend der LST über alle Reynoldszahlen stabil bleibt, in der Praxis jedoch je nach experimentellem Aufwand ab Reynoldszahlen $Re=2000$ bis hinauf zu $Re=10^5$ von laminar nach turbulent umschlägt, siehe Avila et al. (2011).

Strömungen mit unterkritischer Transition sind zwar gegenüber infinitesimal kleinen Störungen stabil, jedoch nicht gegenüber Störungen mit finiter Amplitude. Im Gegensatz zur überkritischen Transition verläuft dieser Umschlag zur Turbulenz plötzlich und die turbulente Strömung besitzt auch keine großskaligen kohärenten Strömungsstrukturen. In Abbildung 5, die nach Baggett et al. (1997), Grossmann (2000) bzw. Oertel jr. H (2012) erstellt wurde, sind die Einflussparameter Reynoldszahl Re und finite Amplitude A der Störung und ihr Einfluss auf den Umschlag skizziert. Bei kleinen Reynoldszahlen werden große Amplituden benötigt, um einen Umschlag zu erwirken. Mit steigender Reynoldszahl Re der Strömung werden immer kleinere Störungsamplituden A nötig, um einen subkritischen Umschlag von laminarer zu turbulenter Strömung zu erwirken, sodass schließlich ein plötzlicher Umschlag erfolgen wird. Weiterhin gibt es einen Bereich links der Kurve, der unabhängig von Form und Größe der Störung immer laminar bleiben wird. Hier ist die Dämpfung höher als die Anfachung.

Bei sehr großen Beobachtungszeiten zerfallen jedoch sämtliche durch unterkritische Transition entstandenen turbulenten Strukturen und relaminarisieren, siehe Eckhardt (2018). Damit eine Strömung mit unterkritischer Transition turbulent bleibt, müssen entsprechend auch die Störungen von Dauer sein.

Unterkritische Transition ist jedoch noch nicht abschließend geklärt beziehungsweise verstanden, obwohl auf dem Gebiet in den letzten Jahren große Fortschritte gemacht wurden, siehe Eckhardt (2018).

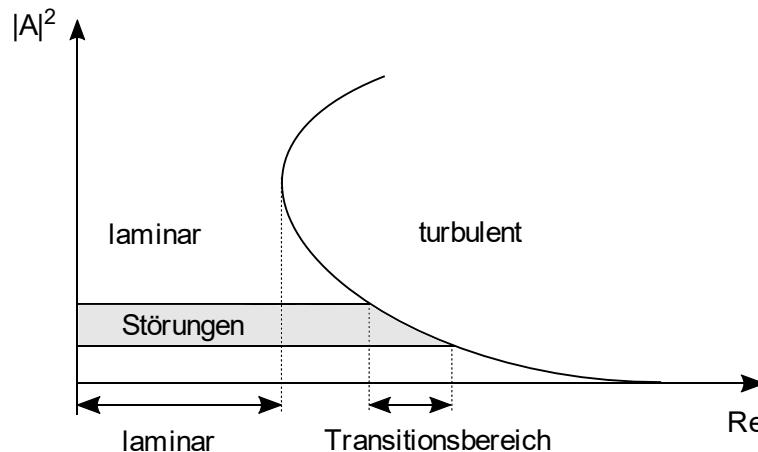


Abbildung 5: Skizze zur Wirkungsweise unterkritischer Transition. Mit steigender Reynolds-Zahl Re können die finiten Störungsamplituden A , die einen plötzlichen Umschlag bewirken, immer kleiner werden. Skizze nach Grossmann (2000) bzw. Oertel jr. H (2012).

In den letzten 30 Jahren gab es unterschiedliche Ansichten dazu, ob die in der Realität stark nichtlinearen Vorgänge bei subkritischer Transition durch linearisierte Ansätze, wie von Baggett et al. (1997) und Grossmann (2000) propagiert, abgebildet werden können. Dabei wird argumentiert, dass eine Nicht-Normalität des linearen Störoperators ein transientes Anwachsen der Störungen ermöglichen kann, indem die lineare Verstärkung einiger Störungen Nichtlinearitäten „triggern“ kann, welchen wiederum ein Zerfallen aufgrund der Reibung verhindern kann (Waleffe, 1995).

Waleffe (1995) hingegen argumentiert, dass der unterkritische Transitionsprozess in erster Linie keine Frage der Nicht-Normalität des linearen Störoperators der linearisierten Navier-Stokes-Gleichungen, sondern stattdessen der Nichtlinearität des konvektiven Terms der inkompressiblen Navier-Stokes-Gleichungen ist. Nicht-Normalität würde die Wichtigkeit der Nichtlinearität sogar auf einen Mischprozess reduzieren, bei dem die linear angefachten Störungen wieder als Ausgangsgröße des Prozesses wieder Eingang in ihn finden. Ein Modell auf dieser Basis würde die möglichen Vorhersagen auf Aussagen zu nötigen Reynoldszahlen bei gleichzeitig nötigen Amplituden der Störungen für Transition beschränken, was an sich aber schon eine wertvolle Aussage ist. Weiterhin verletzen die Modelle mit linearen „Transienten“ wesentliche Eigenschaften der Navier-Stokes-Gleichungen.

Stattdessen sollten laut Waleffe (1995) nichtlineare Lösungen gefunden und charakterisiert werden, die nicht die laminare Strömung selbst sind und um diese dann linearisiert werden könnten. Mit Hilfe der Linearisierung um diese nichtlinearen Lösungen soll eine schwach-nichtlineare Näherungslösung entwickelt werden, mit der Transition in Scherströmungen dann deutlich besser erklärt werden kann.

Ein Beispiel für eine nichtlineare Lösung sind sogenannte Streaks (Schlieren), modulierte Geschwindigkeitsänderungen quer zur Hauptströmung, die durch Wirbel in Hauptströmungsrichtung

induziert werden. Diese Streaks konnten in den numerischen Strömungssimulationen im Rahmen dieser Arbeit beobachtet werden und sind in Abschnitt 4.4 beschrieben.

2.4 Numerische Strömungssimulation

Numerische Strömungssimulationen haben sich zu einem wichtigen Werkzeug für Forschung und Entwicklung sowohl in der Wissenschaft als auch in der Industrie entwickelt. Mit Hilfe numerischer Strömungssimulationen können zahlreiche Erkenntnisse über Strömungen gewonnen werden, die experimentell nicht zugänglich sind sowie experimentelle Ergebnisse bestätigt oder in Frage gestellt werden.

Auch die Bestimmung des laminar-turbulenten Umschlags im Taylor-Couette-Spalt zählt zu den Fragestellungen, die mit Hilfe von Strömungssimulationen numerisch untersucht werden können. Den subkritischen laminar-turbulenten Umschlag bei angetriebenem Außenzylinder und feststehendem Innenzylinder haben bisher nur Ostilla-Monico et al. (2016) mit Hilfe von CFD-Simulationen untersucht. Dafür haben Ostilla-Monico et al. (2016) Direkte Numerische Simulationen (DNS) durchgeführt und dabei den laminar-turbulenten Umschlag durch Aufprägen von weißem Rauschen als Störung erwirkt.

Jedoch ist aufgrund des geringeren Rechenaufwandes, insbesondere durch die geringeren Anforderungen an das Rechengitter, das Lösen der zeitgemittelten Navier-Stokes-Gleichungen („Reynolds-Averaged Navier-Stokes“, RANS) Industriestandard. Allerdings sind durch das Lösen der Reynolds-gemittelten Erhaltungsgleichungen (RANS) instationäre Strömungsstrukturen nicht auflösbar. Für derartige Strömungsprobleme, bei denen die instationären Effekte wesentlich sind, wie beispielsweise turbulente Durchmischung, Ablösung oder der laminar-turbulenten Umschlag, werden komplexere Modelle der Navier-Stokes-Gleichungen, wie die sehr rechenaufwändige Direkte Numerische Simulation (DNS) oder die vom Rechenaufwand her zwischen RANS und DNS liegende Grobstruktursimulation („Large Eddy Simulation“, LES), genutzt.

Grundlagen der Grobstruktursimulation

Bei der Grobstruktursimulation wird eine örtliche Filterung statt einer zeitlichen Mittelung, wie bei RANS („Reynolds Averaged Navier-Stokes“), durchgeführt. Dadurch können instationäre Strömungen mit örtlich und zeitlich veränderlichen Strömungsstrukturen, wie beispielsweise große und mittelgroße turbulente Wirbel, betrachtet werden und nicht nur Strömungsstrukturen, die nach der zeitlichen Mittelung noch erhalten sind.

Die Massenbilanz in favre-gefilterter Form lautet

$$\frac{\partial \bar{\rho}}{\partial t} + \frac{\partial \bar{\rho} \tilde{u}_j}{\partial x_j} = 0 \quad (1)$$

während die Impulsbilanz in favre-gefilterter Form

$$\frac{\partial \bar{\rho} \tilde{u}_i}{\partial t} + \frac{\partial (\bar{\rho} \tilde{u}_i \tilde{u}_j)}{\partial x_j} = -\frac{\partial \bar{p}}{\partial x_i} + \frac{\partial}{\partial x_j} \left[\bar{\rho} \bar{v} \left(\frac{\partial \tilde{u}_i}{\partial x_j} + \frac{\partial \tilde{u}_j}{\partial x_i} \right) - \frac{2}{3} \bar{\rho} \bar{v} \frac{\partial \tilde{u}_k}{\partial x_k} \delta_{ij} - \bar{\rho} \tau_{ij}^{sgs} \right] + \bar{\rho} \tilde{f}_i \quad (2)$$

lautet.

Die Idee bei der Grobstruktursimulation ist, die großen („groben“) Strukturen (engl. Large Eddies) direkt auf dem Rechengitter zu simulieren, während die kleinen (feinen) Strukturen mit Hilfe eines dem Turbulenzmodell bei RANS-Simulationen ähnlichen, jedoch etwas einfacheren, Modellansatzes, dem Feinstrukturmodell (engl. Sub-Grid Scale Model), modelliert werden sollen. Die englische Bezeichnung Sub-Grid Scale Model deutet darauf hin, dass die Einteilung in grobe und zu simulierende Strukturen einerseits und feine und zu modellierende Strukturen andererseits meist mit Hilfe der Größe der Gitterzellen stattfindet. Die Filtergröße kann aber auch manuell und unabhängig vom Netz vorgegeben werden. Deshalb ist es bei Grobstruktursimulationen besonders wichtig, dass das Gitter fein genug ist, da sonst grobe Strukturen mit ihren speziellen Eigenschaften mit Hilfe des Feinstrukturmodells, das eigentlich nur zur Modellierung der feinen Strukturen mit ihren eigenen speziellen und komplett gegensätzlichen Eigenschaften gedacht ist, modelliert werden.

Wie eben bereits angedeutet, wird die Grobstruktursimulation erst dadurch sinnvoll, dass die groben und die feinen turbulenten Strukturen sehr gegensätzliche Eigenschaften haben. Laurien & Oertel jr. (2009) fassen diese wie folgt zusammen:

Die großen Strömungsstrukturen werden aus der mittleren Strömung erzeugt und diese wird meist dominiert durch die durchströmte Geometrie selbst, beispielsweise durch Ecken, Kanten, Kurven, Bögen, Verengungen, T-Kreuzungen mit ihren Ablöse- und Rezirkulationsgebieten. Dadurch sind die groben turbulenten Strukturen noch geordnet und müssen deterministisch beschrieben werden. Gleichzeitig sind sie aber auch noch inhomogen, also ungleichmäßig verteilt und anisotrop, also richtungsabhängig und sie sind außerdem relativ langlebig, bevor sie durch Diffusion zu immer kleineren Strukturen und bis hin zur Feinstruktur-Turbulenz zerfallen.

Die feinen turbulenten Strukturen hingegen entstehen aus der Grobstruktur-Turbulenz und sind daher nicht mehr abhängig von der Strömungsgeometrie. Sie sind ungeordnet bzw. stochastisch und können deshalb statistisch modelliert werden. Außerdem sind die feinen Strukturen bereits homogen und isotrop, also gleichverteilt und richtungsunabhängig. Sie zerfallen durch Diffusion relativ schnell weiter zu noch kleineren Strukturen, bis sie auf den kleinsten Skalen zu innerer Energie dissipieren.

Alle diese Eigenschaften wie Homogenität, Richtungsunabhängigkeit und Kurzlebigkeit machen die Feinstruktur-Turbulenz deutlich einfacher modellierbar und die Modelle gültig für verschiedenste Geometrien und Anwendungsfälle. Auch sind Feinstrukturmodelle, da sie nur die Feinstruktur abbilden müssen, deutlich simpler und allgemeingültiger als RANS-Turbulenzmodelle (Laurien & Oertel jr., 2009; Fröhlich, 2006).

Auf der anderen Seite wird der Rechenaufwand schnell sehr hoch, wenn die feinen Strukturen auch mitsimuliert werden sollen, denn es ist dann eine Gitterauflösung bis hinein in die feinsten Skalen bei der Kolmogorov-Länge, in denen die Strömungsstrukturen zu innerer Energie dissipieren, notwendig. Die Grobstruktursimulation verknüpft deshalb die einfache Modellierbarkeit kleiner turbulenter Skalen, der

Feinstrukturen, mit den moderaten Anforderungen an die Rechengitter-Elementgröße zur direkten Auflösung und Simulation der großen Skalen, den Grobstrukturen.

3 Methodik

3.1 Einleitung

Dieses Kapitel beschreibt in Abschnitt 3.2 zunächst die Auslegung und den konstruktiven Aufbau der zu entwickelnden Apparatur zur Beaufschlagung von Zellen mit Scherung, ausgehend vom Stand von Forschung und Technik und den Anforderungen an die Apparatur. Nachdem der Entwurf der Apparatur vorgestellt wurde, werden nacheinander die in dieser Arbeit durchgeführten experimentellen und numerischen Untersuchungen beschrieben.

Um die in der Apparatur zu untersuchenden Zellen homogen in Suspension zu halten und ein Absinken und Sedimentieren der Zellen zu verhindern, muss die Massendichte der Trägerflüssigkeiten (Zellmedien) der Massendichte der Zellen entsprechen. Um diese Medien für die weiteren Versuche anmischen zu können, muss zunächst die Massendichte der in dieser Arbeit untersuchten mesenchymalen Stammzellen bestimmt werden. Diese Versuche zur Ermittlung der Massendichte mit einer neuentwickelten Methodik sind in Abschnitt 3.3 beschrieben.

Um bei der Ermittlung der Scherbelastung eine laminare Strömung garantieren zu können und die unbekanntem Strömungsbedingungen bei turbulenter Strömung auszuschließen, werden Versuche zur Ermittlung des laminar-turbulenten Umschlags mit Hilfe der Strömungssichtbarmachung, der Bestimmung des Drehmoments über die Messung der Motorstromaufnahme und numerische Strömungssimulationen durchgeführt. Diese Versuche werden in Abschnitt 3.4 und 3.5 thematisiert.

Mit Hilfe der CFD-Simulationen werden ebenfalls die Verläufe der Geschwindigkeit und der Scherrate im Messspalt bestimmt sowie Histogramme erstellt, die den Volumenanteil der im Schervolumen auftretenden Scherraten am gesamten Schervolumen zeigen. Die für die Simulation der Verläufe wesentlichen Simulationsparameter sind ebenfalls in Abschnitt 3.5 beschrieben.

Um sicherzustellen, dass die untersuchten mesenchymalen Stammzellen nicht durch die übermäßige Erwärmung der Probe geschädigt werden, sondern rein durch die Scherung, wird eine Studie zur Messung der Schererwärmung durchgeführt. Diese Versuchsreihe ist in Abschnitt 3.6 beschrieben.

Schließlich werden in Abschnitt 3.7 die Versuche zur Ermittlung der Scherbelastbarkeit vorgestellt, die bei verschiedenen Drehzahlen und Einwirkdauern der Scherung und unter laminaren Strömungsbedingungen mit einer sich nicht auf mehr als 37°C erwärmenden Probe durchgeführt werden sollen.

3.2 Konstruktiver Aufbau und Auslegung eines Scherapparats

3.2.1 Anforderungen an eine Apparatur zur Scherbelastung von Zellen

Mit Hilfe der zu entwickelnden Apparatur sollen Scherbelastungen in Stärke und Einwirkdauer beliebig und unabhängig voneinander einstellbar sein. Um beliebig große Einwirkdauern zu ermöglichen, muss das System kontinuierlich betrieben werden können, also eine Strömung kontinuierlich über Zeitskalen von Minuten bis Stunden die gleichen Bedingungen bereitstellen. Da sich aufgrund der Anforderung an die

kontinuierliche Arbeitsweise ein rotierendes System anbietet, ist mindestens eine Drehzahl von 10000 U/min unter Last erforderlich, um hohe Scherraten von 30000 1/s zu erreichen. Um für alle Zellen möglichst gleiche Bedingungen zu schaffen, muss die Scherrate möglichst konstant über das Schervolumen sein. Damit eine hohe Wiederholgenauigkeit gegeben ist, soll der Rundlauf so gut sein, dass ein Schlingern des angetriebenen Außenzylinders nicht erkennbar ist.

Zellberührende Materialien dürfen nicht zytotoxisch, sondern müssen biokompatibel sein. Es sollen möglichst viele kommerziell verfügbare Standardbauteile zum Einsatz kommen, um eine aufwendige Fertigung durch zerspanende Bearbeitung vieler einzelner Bauteile und damit hohe Kosten und lange Fertigungszeiten zu vermeiden.

Aus Sicherheitsgründen ist eine Nutzung im Zelllabor unter der Sterilbank vorzuziehen. Es ist erforderlich, dass das System mobil und tragbar ist. Da zu untersuchendes Zellmaterial oft kostbar ist, darf das Fluidvolumen nicht zu groß sein. Es soll ein Probenvolumen von etwa 3 ml erreicht werden und ein Totvolumen möglichst vermieden werden.

Die Handhabung hinsichtlich Befüllung, Betrieb, Entleeren und Reinigung sollte möglichst einfach sein. Dafür ist es notwendig, dass alle zellberührenden Teile zum Einlegen in wenigen Minuten montierbar bzw. demontierbar oder zumindest einfach abwischbar sind.

Die Steuerung der Apparatur erfolgt idealerweise über einen PC oder Laptop unter MS Windows (Microsoft Corp., USA), der mit der Apparatur idealerweise per USB verbunden ist. Motordaten wie Drehzahl und Drehmoment der Versuche müssen von der Software protokolliert und auf dem PC abgelegt werden können.

3.2.2 Entwurf der Scherapparatur

Konstruktiver Aufbau

Mit der Entscheidung für ein rotierendes System kommt ein Taylor-Couette-Setup oder Rührersystem in Frage. Das Taylor-Couette-Setup bietet jedoch konstantere Scherraten im Messvolumen. Aufgrund der kleinen Abmessungen soll nur ein Antrieb verbaut werden, sodass entschieden werden muss, ob der äußere (Couette-System, entspricht Outer Cylinder Rotating (OCR)) oder innere Zylinder (Searle-System, entspricht Inner Cylinder Rotating (ICR)) angetrieben werden soll.

Da für das Couette-System mit außen angetriebenem Außenzylinder nach Stokes (1848) die Strömung bis zu höheren Reynoldszahlen laminar bleibt, soll dieser Aufbau umgesetzt werden.

Auslegung des Systems

Um sowohl im Messspalt zwischen angetriebenem Außenzylinder und feststehendem Innenzylinder als auch im Kegel-Platte-Bereich zwischen angetriebenem Boden bzw. Deckel und feststehendem Innenzylinder eine möglichst konstante Scherrate zu gewährleisten, soll der feststehende Innenzylinder oben und unten angewinkelt werden. Der so mit zunehmendem Radius immer breiter werdende Spalt soll die mit zunehmendem Radius zunehmende Geschwindigkeit genau ausgleichen, um die gleiche Scherrate in Messspalt und im Kegel-Platte-Bereich zu erhalten. Im folgenden Abschnitt soll dafür der Kegelwinkel entsprechend berechnet werden.

Die Scherrate im Messspalt

$$\gamma_{\text{Messspalt}} = \frac{\omega r_a}{\Delta r} \quad (3)$$

ergibt sich aus der Winkelgeschwindigkeit ω , dem Innenradius des angetriebenen Außenzylinders r_a und der Dicke des Messspalts Δr (siehe Abbildung 6).

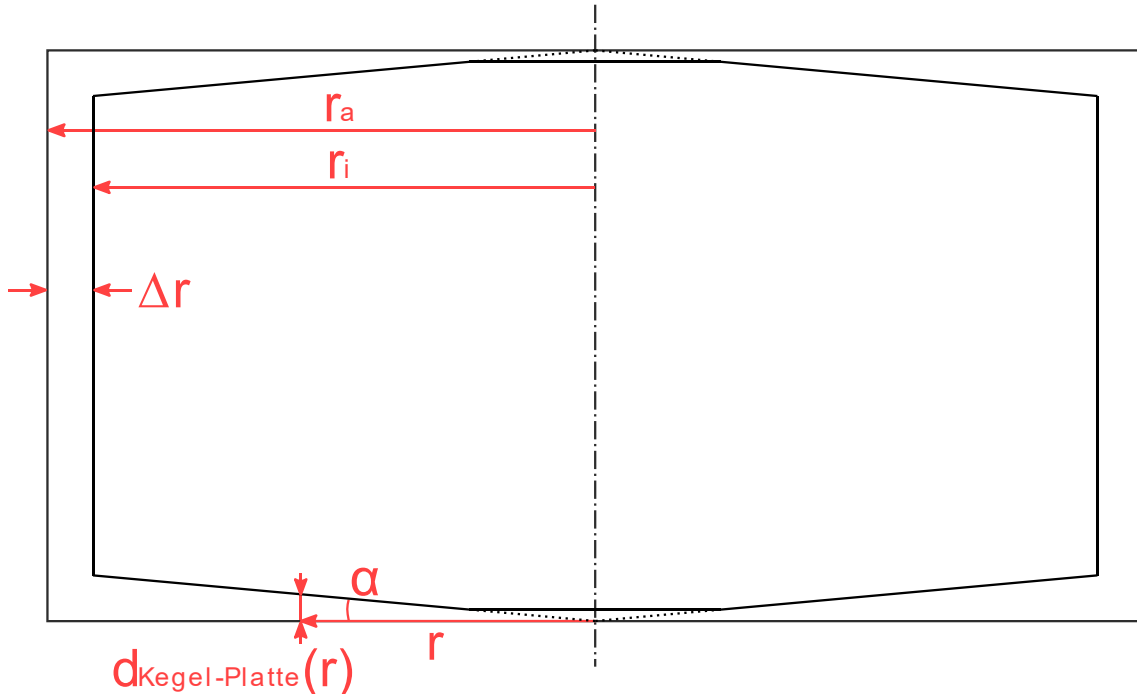


Abbildung 6: Messspalt und Kegel-Platte-Bereich zwischen Innenzylinder, Außenzylinder und Deckel

Die Scherrate im Kegel-Platte-Bereich zwischen dem Deckel und dem Innenzylinder und dem Boden des Außenzylinders und dem Innenzylinder

$$\gamma_{\text{Kegel-Platte}} = \frac{\omega r}{d_{\text{Kegel-Platte}}(r)} \quad (4)$$

ist ebenfalls abhängig von der Winkelgeschwindigkeit ω , aber von der Kegelspaltbreite $d_{\text{Kegel-Platte}}(r)$ am jeweiligen Radius r (siehe Abbildung 6). Aus den Winkelfunktionen

$$\tan \alpha = \frac{d_{\text{Kegel-Platte}}(r)}{r} \quad (5)$$

am rechtwinkligen Dreieck ergibt sich der Kegelwinkel

$$\alpha = \arctan\left(\frac{d_{\text{Kegel-Platte}}(r)}{r}\right). \quad (6)$$

Damit die Scherrate im Kegel-Platte-Bereich oben und unten der Scherrate im Messspalt entspricht, werden beide Formulierung gleichgesetzt

$$\gamma_{\text{Messspalt}} = \gamma_{\text{Kegel-Platte}} \quad (7)$$

und ergeben so

$$\frac{\omega r_a}{\Delta r} = \frac{\omega r}{d_{\text{Kegel-Platte}}(r)} \quad (8)$$

und deshalb

$$\frac{d_{\text{Kegel-Platte}}(r)}{r} = \frac{\Delta r}{r_a} \quad (9)$$

Setzt man nun Gleichung (7) in Gleichung (4) ein, ergibt sich

$$\alpha = \arctan\left(\frac{\Delta r}{r_a}\right) \quad (10)$$

Somit ist der Kegelwinkel nur von geometrischen Größen abhängig, im Speziellen dem Messspalt und dem Innenradius des angetriebenen Außenzylinders.

Für einen Messspalt von 1mm Dicke ergibt sich somit bei angetriebenem Außenzylinder mit 21mm Innenradius ein Kegelwinkel von 2,73°, bei einem Messspalt von 0,5mm Dicke ein Kegelwinkel von 1,36°.

Damit die Zellen an der Spitze zwischen Innenzylinder und Boden nicht zermahlen werden, wird der Innenzylinder dort soweit abgeflacht, dass ein konstanter Spalt von 0,2 mm entsteht.

Tabelle 1: Abmessungen der beiden Entwürfe des Scherapparats

Größe	Formelzeichen	Einheit	Entwurf 1	Entwurf 2
Radius Innenzylinder	r_i	[mm]	20,00	20,50
Radius Außenzylinder	r_a	[mm]	21,00	21,00
Spaltbreite	$\Delta r = r_a - r_i$	[mm]	1,00	0,5
Höhe Deckel-Boden	h_{DB}	[mm]	21,20	21,20
Kegelwinkel	α	[°]	2,73	1,36
Höhe Spalt	h_S	[mm]	18,35	20,23
Messvolumen	V	[ml]	5,5	3,0
Radienverhältnis	$\eta = r_i/r_a$	[]	0,952	0,976
Aspektverhältnis	$\Gamma = h_S/\Delta r$	[]	18,35	40,46

Entsprechend der Vorgaben werden zwei verschiedene Entwürfe des Scherapparats mit verschiedenen Spaltbreiten und entsprechenden Kegelwinkeln nach Gl. (10) entwickelt, deren Abmessungen in Tabelle 1 aufgelistet sind. Durch die geringere Spaltbreite von Entwurf 2 können bei gleicher Drehzahl doppelte so hohe Scherraten angefahren werden, während sich das Messvolumen leicht verringert. Während sich dabei ebenfalls das Radienverhältnis $\eta = r_i/r_a$ geringfügig erhöht und damit die Reynoldszahl des laminar-turbulenten Umschlags entsprechend Abbildung 4 etwas absinkt, verdoppelt sich das Aspektverhältnis $\Gamma = h_s/\Delta r$, wodurch der Einfluss von Deckel und Boden auf die Strömung in der Mitte des Spalts abnimmt, siehe Burin & Czarnocki (2012).

3.3 Bestimmung der Massendichte mesenchymaler Stammzellen zum Anmischen passender Trägerflüssigkeiten

Damit die Zellen in der Suspension im Scherapparat homogen verteilt bleiben und nicht sedimentieren oder aufschwimmen, muss ein Medium, also die die Zellen umgebende Trägerflüssigkeit, gefunden werden, dessen Massendichte der Massendichte der Zellen entspricht. In diesem Abschnitt soll die Methode zur Bestimmung der Massendichte der mesenchymalen Stammzellen vorgestellt werden. Weiterhin sollen durch die Anpassung der Massendichte des Mediums die bei der Rotation des Scherapparats radial wirkenden Kräfte verringert werden.

Versuchsaufbau

Im Rahmen dieser Arbeit wurde vom Autor zusammen mit dem Arbeitsbereich Zellbiologie der Universitätsmedizin Rostock eine neue Methode entwickelt, bei der die Massendichte von Zellen in Suspension über die Messung der Massendichte der Zellsuspension und die Messung der Massendichte des Mediums mit Hilfe des Dichte- und Schallgeschwindigkeitsmessgeräts DSA 5000 M (Anton Paar, Österreich) sowie mit Hilfe der Messung von Zellzahl und mittlerem Zelldurchmesser mit dem Zellzähler NucleoCounter NC-200 (ChemoMetec A/S, Dänemark) errechnet wird.

Die Messzelle des DSA 5000 M besteht aus einem oszillierenden U-Rohr aus Borosilikatglas, das mit der Flüssigkeit oder Dispersion befüllt wird (siehe Abbildung 7).

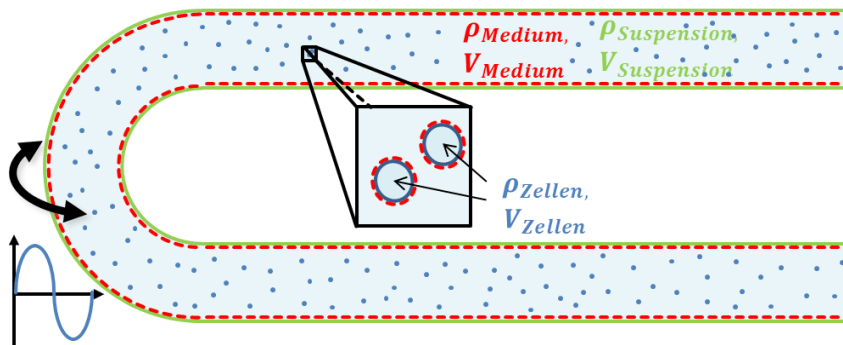


Abbildung 7: Messprinzip des Anton Paar DSA 5000 M: Das oszillierende U-Rohr ist gefüllt mit der Zellsuspension bestehend aus kontinuierlicher Phase (Medium) und disperser Phase (Zellen). Die Zellphase besteht aus n_{Zellen} Zellen, wobei jede Zelle ein Volumen $V_{Zelle} = \frac{1}{6}\pi d_{Zellen,\emptyset}^3$ hat und entsprechend Medium verdrängt.

Die Resonanzfrequenz des schwingenden U-Rohrs und damit die Schwingungsdauer T_U ist proportional zur Masse und damit Dichte des Fluids im U-Rohr (Anton Paar, 2017).

$$\rho_{Probe} = A \frac{T_U}{T_{ref}} f_1 - B * f_2 \quad (11)$$

Die entwickelte Methode basiert auf der Massenbilanz der Zellsuspension, die besagt, dass sich die Gesamtmasse einer Zellsuspension aus der Masse der kontinuierlichen Phase, also der des Mediums m_{medium} und der Masse der dispersen Phase m_{Zellen} zusammensetzen muss, siehe Gleichung (12) bzw. Abbildung 7:

$$m_{Suspension} = m_{Medium} + m_{Zellen} \quad (12)$$

Dabei sind

$$m_{Suspension} = \rho_{Suspension} * V_{Suspension} \quad (13)$$

$$m_{Medium} = \rho_{Medium} * V_{Medium} \quad (14)$$

und

$$m_{Zellen} = \rho_{Zellen} * V_{Zellen} \quad (15)$$

Ist man nun in der Lage, $\rho_{Suspension}$ und ρ_{Medium} zu messen und sind $V_{Suspension}$, V_{Zellen} und V_{Medium} bekannt, kann aus diesen Größen die Massendichte der Zellen

$$\rho_{Zellen} = \frac{\rho_{Suspension} * V_{Suspension} - \rho_{Medium} * V_{Medium}}{V_{Zellen}}, \quad (16)$$

während sie in der Suspension schwimmen, bestimmt werden. $V_{Suspension}$ entspricht dabei dem Probenvolumen, das Gesamtvolumen aller Zellen in der Suspension ergibt sich aus

$$V_{Zellen} = n_{Zellen} \frac{1}{6} \pi d_{Zellen,\emptyset}^3 \quad (17)$$

Dabei ist n_{Zellen} die Zellzahl und das Volumen einer einzelnen Zelle wird angenommen als Kugel mit dem Durchmesser

$$d_{Zellen,\emptyset} = \sqrt[3]{\frac{6}{\pi n} \sum_{d=10\mu m}^{41\mu m} \frac{1}{6} \pi d^3 n_d} \quad (18)$$

Dieser ist wiederum der volumengemittelte Durchmesser, der aus der Durchmesservertelung errechnet wurde, die zusammen mit der Zellzahl mit dem Zellzähler NucleoCounter NC-200 bestimmt wurde.

Zur Auswertung der Durchmesservertelung werden die vom NC-200 erstellten Messergebnisse in die Software des ChemoMetec NC-3000 geladen, von wo aus sie im FACS-Datenformat (fluorescence activated

cell sorting) *.fcs exportiert werden können. Mit Hilfe der FACS-Analysesoftware FlowJo v10 (Flowjo, LLC, USA) können die Daten im FACS-Format eingelesen werden, die Histogramme der Durchmesservertelung erstellt werden und diese über die Zwischenablage im ASCII-Format direkt in z.B. in eine Tabellenkalkulation wie Microsoft Excel (Microsoft Corporation, USA) exportiert werden.

Das Volumen des Mediums

$$V_{Medium} = V_{Suspension} - V_{Zellen} \quad (19)$$

ergibt sich entsprechend als Differenz von Suspensionsvolumen und Gesamtvolumen aller Zellen in der Suspension.

Die Dichte der Zellsuspension $\rho_{Suspension}$ und die Dichte des Mediums ρ_{Medium} werden, wie oben bereits erwähnt, mit dem Dichte- und Schallgeschwindigkeitsmessgerät DSA 5000 M gemessen. Als Medium wird für die Bestimmung der Massendichte der Zellen D-PBS (PAN-Biotech GmbH, Deutschland) verwendet.

Versuchsablauf

Die Massendichte menschlicher mesenchymaler Stammzellen der Passage 3 konfluent / Passage 4 wird mit der oben beschriebenen Methodik für 7 Individuen ermittelt. Die Ergebnisse der Versuche werden in Abschnitt 4.2 diskutiert.

Anmischen der Zellmedien

Mit Hilfe der ermittelten Massendichte der Zellen werden Zellmedien angemischt, deren Massendichte der Massendichte der Zellen entspricht. Die Dichte der Zellmedien wird mit dem Dichte- und Schallgeschwindigkeitsmessgerät DSA 5000 M (Anton Paar, Österreich), die Viskosität mit dem Rheometer Haake MARS II (Thermo Fisher Scientific, USA), die Osmolarität mit dem Osmomat 3000 (Gonotec GmbH, Deutschland) am Lehrstuhl für Tiergesundheit und Tierschutz und der pH-Wert mit dem pH-Meter Seven Compact (Mettler Toledo, Schweiz) am Arbeitsbereich Zellbiologie gemessen. Als Basis zum Anmischen wurden D-PBS, LSM 1.077 („Lymphocyte Separation Medium“, Lonza, Schweiz) sowie Ficoll PM 400 (GE Healthcare, USA) in Pulverform verwendet.

3.4 Bestimmung des laminar-turbulenten Umschlags mit Hilfe der Strömungssichtbarmachung und der Drehmomentmessung

Beim Betrieb des Scherapparats soll eine laminare Strömung garantiert werden, während die Scherbelastbarkeit der Zellen ermittelt wird, da ansonsten bei turbulenter Strömung das Geschwindigkeitsfeld und damit die Scherrate zeitlich und lokal schwankt und die genauen Strömungsbedingungen unbekannt sind.

Um zu ermitteln, bei welchen Drehzahlen der laminar-turbulente Umschlag bei den verschiedenen Trägerlösungen erfolgt, wird der Drehzahlbereich des Antriebsmotors ansteigend durchfahren. Dabei werden Fotoaufnahmen der sichtbargemachten Strömung und Messungen der Motorstromausnahme bzw. des Drehmoments gegenübergestellt. Darüber hinaus soll mit diesen kombinierten Untersuchungen

gezeigt werden, dass optisch eine Veränderung der Strömung hin zu mehr Unordnung mit einer Veränderung des Verhaltens von Motorstromaufnahme bzw. Drehmoment einhergeht.

Da der Verlauf der Motorstromaufnahme und damit des Drehmoments bei dem verwendeten Antriebsmotor für sämtliche Versuche live angezeigt und direkt mitgeloggt und abgespeichert werden kann, sollen Motorstromaufnahme bzw. Drehmoment bei erfolgreicher Übereinstimmung mit dem optisch beobachteten laminar-turbulenten Umschlag während der Zellversuche verfügbar gemacht und beobachtet werden, um eine laminare Strömung zu garantieren.

3.4.1 Strömungssichtbarmachung

Wie in Abschnitt 2.2 bereits erläutert, waren optische Untersuchungen des laminar-turbulenten Umschlags mit sichtbargemachter Strömung nicht nur Hilfsmittel in den frühen Arbeiten von Taylor (1923), Schultz-Grunow (1959a, b) und Coles (1965), sondern werden auch noch im Rahmen aktueller Untersuchungen angewendet, wie bei Burin & Czarnocki (2012).

Für die optischen Untersuchungen der Strömung in der neuentwickelten Apparatur wird der angetriebene Außenzylinder aus transparentem Acrylglas (Polymethylmethacrylat, PMMA) gefertigt. Dabei ist insbesondere die Qualität der Oberfläche der Zylindermantelfläche außen und innen wichtig, um das Bild nicht zu verzerren.

Versuchsaufbau

Da in derameratechnologie weiterhin große Fortschritte hinsichtlich Sensorauflösung, Quanteneffizienz und Verschlusszeiten gemacht werden und Burin & Czarnocki (2012) für die Aufnahmen ihres Taylor-Couette-Apparats eine handelsübliche Spiegelreflexkamera verwendet haben, wird für diese Untersuchung die Systemkamera *OM-D EM5 Mark II* (Olympus, Japan) mit dem Objektiv *M. Zuiko Digital ED 60mm 1:2.8 Macro* (Olympus, Japan) verwendet. Die Systemkamera besitzt einen hochauflösenden Sensor mit 16 Megapixeln und hat eine minimale Verschlusszeit (=Belichtungszeit) $t_{Verschluss}$ von $1/8000 \text{ s} = 0,000125 \text{ s}$ für den mechanischen Shutter und $t_{Verschluss}$ von $1/16000 \text{ s} = 0,0000625 \text{ s}$ für den elektronischen Shutter.



Abbildung 8: Versuchsaufbau für die Strömungssichtbarmachung; Kamera: Olympus OM-D EM5 Mark II, Objektiv: M. Zuiko Digital ED 60mm 1:2.8 Macro; Beleuchtung mit diffusem Licht des Lichtzeltes HPB-60D, zusätzlich durch Labor-Doppelschwanenhalslampe OZB-A4515

Während der sehr kurzen Belichtungszeiten können nur sehr wenige Photonen auf den Sensor gelangen, sodass intensiv beleuchtet werden muss. Die Aufnahmen wurden daher im Lichtzelt HPB-60D (Havox, China), ergänzt durch die 6W-LED-Doppelschwanenhalslampe OZB-A4515 (Kern & Sohn, Deutschland), durchgeführt, siehe Abbildung 8.

Um Erschütterungen und damit ein Verwackeln während des Auslösens zu vermeiden, wird ein Stativ verwendet und der Auslöser der Systemkamera kabellos per integriertem WLAN auf einem zweiten Gerät mit Android-Betriebssystem und der Olympus Android App „OI.Share“ mit Hilfe der Funktion „Fernbedienung“ betätigt.

Zur Visualisierung der Strömung muss eine rheoskopische Flüssigkeit, die die Strömungsstrukturen mit bloßem Auge sichtbar macht, angemischt werden (Matisse & Gorman, 1984; Borrero-Echeverry et al., 2018). Dafür werden einer Flüssigkeit nichtlösliche Partikel wie Aluminiumfarbpigmente (Schultz-Grunow, 1959; Coles, 1965), aus Fischschuppen extrahierte Guaninkristalle (Gorman & Swinney, 1982; Burin & Czarnocki, 2012), die bis ins Jahr 2014 kommerziell als Kalliroscope vertrieben wurden, sowie Mica-Kristalle (Muller et al, 1989; Ali et al., 2002) beigemischt. Die Partikel richten sich entlang der Strömung aus und erlauben so einen Einblick in die Strömungsstrukturen. Für die Untersuchung im Rahmen der vorliegenden Arbeit wird das kosmetische Mica-Pulver „Crystal Pigments“ (Dirk Rossmann GmbH, Deutschland) verwendet.

Mica, die englische Bezeichnung für die zu den Schichtsilikaten gehörende Glimmergruppe sind Mineralien mit einer Massendichte von 2-3 g/cm³. Diese sinken deshalb bei ruhender Strömung ab. Mica ist nichtlöslich in Wasser. Wesentlich für ihre Verwendung ist die Eigenschaft, dass die Mica-Kristalle ähnlich groß sind (uniform) und sich gleichmäßig entlang des Geschwindigkeitsgradienten einer Strömung anordnen, sodass sie bei laminarer Strömung das Licht kollektiv in die gleiche Richtung reflektieren (Hecht et al., 2010) und bei turbulenter Strömung durch Reflektion in unterschiedliche Richtung Strömungsstrukturen offenbaren.

Für die Versuche werden 0,1 g Mica-Partikel auf 10 g Trägerlösung angemischt. Da das Mica nichtlöslich in Wasser ist und aufgrund der hohen Dichte schnell sedimentiert, bei hoher Strömungsgeschwindigkeit jedoch aufsteigt, ist keine spezielle Anrührvorschrift nötig.

Aufgrund der hohen Drehzahlen muss die Verschlusszeit (=Belichtungszeit) $t_{\text{Verschluss}}$ der Kamera entsprechend klein sein, damit die die Strömung sichtbarmachenden Partikel nicht verschmieren und die Aufnahmen unscharf werden. Entsprechend Gl. (20)

$$\frac{t_{\text{Verschluss}}}{t_{1U}} = \frac{\varphi_{\text{Verschluss}}}{\varphi_{1U}} \quad (20)$$

ergibt sich für jede Drehzahl ein Winkel $\varphi_{\text{Verschluss}}$, den sich der Außenzylinder und damit ein strömungssichtbarmachendes Partikel während der minimalen Kameraverschlusszeit weiterbewegt. Dabei beschreibt t_{1U} die Zeitspanne einer Umdrehung und φ_{1U} sind 360°. Entsprechend ergibt sich der zurückgelegte Weg $s_{\text{Verschluss}}$ aus

$$\frac{\varphi_{\text{Verschluss}}}{\varphi_{1U}} = \frac{s_{\text{Verschluss}}}{2\pi \frac{r_{\text{innen}} + r_{\text{außen}}}{2}} \quad (21)$$

In Tabelle 2 sind die zurückgelegten Winkel und Wege errechnet, die sich der Außenzylinder bei entsprechender Drehzahl und Verschlusszeit bewegt.

Für die Aufnahmen wird die Belichtungszeit $1/6000$ s zusammen mit der Blendenzahl $F/8$ und der Empfindlichkeit ISO-12800 verwendet. Kürzere Belichtungszeiten verbessern das Bild hinsichtlich der Unschärfe der Teilchen durch die Partikelbewegung nicht wesentlich. Das Bild würde stattdessen trotz der intensiven Beleuchtung verdunkelt und es insbesondere im Halbschatten des Zylinders links verwascht. Eine weiter geöffnete Blende würde zwar mehr Licht ins Bild lassen, jedoch die linke und rechte Kante des Zylinders unschärfer erscheinen lassen.

Tabelle 2: Drehwinkel während der Verschlusszeit $t_{\text{Verschluss}}$ der OM-D EM5 Mark II

Drehzahl [U/min]	Zurückgelegter Winkel $\varphi_{\text{Verschluss}}$ während der Verschlusszeit $t_{\text{Verschluss}}$		Zurückgelegter Weg $s_{\text{Verschluss}}$ während der Verschlusszeit $t_{\text{Verschluss}}$	
	1/6000 s [°]	1/16000 s [°]	1/6000 s [mm]	1/16000 s [mm]
1000	1,000	0,375	0,362	0,136
2000	2,000	0,750	0,724	0,272
3000	3,000	1,125	1,086	0,408
4000	4,000	1,500	1,449	0,543
5000	5,000	1,875	1,811	0,679
6000	6,000	2,250	2,173	0,815
7000	7,000	2,625	2,535	0,951
8000	8,000	3,000	2,897	1,086

Versuchsablauf

Die kombinierten Versuche zur Strömungssichtbarmachung und zur Bestimmung des Drehmoments werden aufgrund der höheren erreichbaren Scherraten bei gleicher Drehzahl mit Entwurf 2 durchgeführt. Entsprechend Abbildung 4 findet der laminar-turbulente Umschlag bei $\eta = 0,952$ für den 1 mm-Spalt sowie $\eta = 0,976$ für den 0,5 mm-Spalt bei ähnlichen Reynolds-Zahlen statt, nämlich um $Re=2200$ für den 0,5 mm-Spalt und $Re=2500$ für den 1 mm-Spalt. Es wird die Drehzahl, bei 600 U/min beginnend, alle 20 Sekunden in Schritten von 300 U/min erhöht. Die Verweilzeit von 20 s wird gewählt, um die Motorstromaufnahme bei jeder Drehzahl für die Berechnung des Torque Scaling mitteln zu können. Die Versuchsabläufe werden in Form der anzufahrenden Drehzahlen und der jeweiligen Verweilzeiten per Makro in der Steuerungssoftware hinterlegt. Die Zieldrehzahl der Makros wurde konservativ gewählt, um eine Überhitzung des Motors durch automatisches Anfahren von Drehzahlen nahe und oberhalb der Dauerstromaufnahme auszuschließen. Nach Erreichen der Zieldrehzahl der entsprechenden Makros werden einige Kurven händisch bis nahe der Dauerstromaufnahme des Motors in 300 U/min-Schritten weiter erhöht, um im oberen Drehzahlbereich ebenfalls Werte aufzunehmen.

Da der laminar-turbulente Umschlag bei unterkritischer Transition plötzlich auftritt, wurden die ungefähren Drehzahlbereiche für die verwendeten Trägerlösungen in Vorversuchen ermittelt. Im zur jeweiligen Trägerlösung gehörenden Umschlagbereich wurden dann bei einigen Versuchen die Verweilzeiten bei verschiedenen Drehzahlen auf 120 s verlängert, um die Wahrscheinlichkeit zu erhöhen,

den laminar-turbulenten Umschlag bei diesen entsprechenden Drehzahlen beobachten zu können. Beispielsweise wurde die Verweilzeit für destilliertes Wasser bei 1500 U/min in zwei Versuchen auf 120 s verlängert, für PBS-LSM wurde die Verweilzeit entsprechend bei 2700 und 3000 U/min auf 120 s verlängert.

Tabelle 3: Übersicht über die Drehzahlprofile der Versuche zu Strömungssichtbarmachung und Drehmoment mit Scherapparat Entwurf 2

Messlauf	Intervall 1		Intervall 2		Intervall 3		Intervall 4	
	Drehzahl- bereich	Verweil- zeit	Drehzahl- bereich	Verweil- zeit	Drehzahl- bereich	Verweil- zeit	Drehzahl- bereich	Verweil- zeit
	U/min	[s]	U/min	[s]	U/min	[s]	U/min	[s]
Aqua-Dest-1	600 ... 1200	20	1500	120	1800 ... 4200	20		
Aqua-Dest-2	600 ... 1200	20	1500	120	1800 ... 4200	20		
Aqua-Dest-3	600 ... 8100	20						
Aqua-Dest-4	600 ... 8100	20						
PBS-LSM-1	600 ... 2700	20	3000	120	3300 ... 5700	20	6000 ... 7500	händisch
PBS-LSM-2	600 ... 7500	20						
PBS-LSM-3	600 ... 2700	20	3000	120				
PBS-LSM-4	600 ... 2400	20	2700	120	3000 ... 3300	händisch		
PBS-LSM-5	600 ... 2400	20	2700	120	3000	120	3300 ... 3600	händisch
PBS-Ficoll-1	600 ... 6600	20						
PBS-Ficoll-2	600 ... 6600	20						

3.4.2 Bestimmung des Drehmomentes über die Messung der Motorstromaufnahme

Da die experimentellen Untersuchungen mit sichtbargemachter Strömung und zum laminar-turbulenten Umschlag kombiniert durchgeführt werden, um dem Sprung in Motorstromaufnahme bzw. Drehmoment optisch einen Umschlag zuordnen zu können, gilt der in Abschnitt 3.4.1 vorgestellte Versuchsablauf auch für die Messungen von Motorstromaufnahme bzw. Drehmoment.

Das Drehmoment M , das der Antriebsmotor aufbringen muss, um den Außenzylinder gegen den feststehenden Innenzylinder anzutreiben, kann über die Motorstromaufnahme I und die Drehmomentkonstante k_M , die für jeden Antriebsmotor individuell ist, bestimmt werden:

$$M = I * k_M \quad (22)$$

Das ermittelte Motordrehmoment soll mit zwei verschiedenen Methoden bewertet werden. Zuerst und im direkten Vergleich mit den Aufnahmen der sichtbargemachten Strömung soll ein Sprung im Drehmoment am laminar-turbulenten Umschlag beobachtet werden. Weiterhin berichtet bereits Wendt (1933) von einer Änderung des Anstiegs der Kurve des normierten Drehmoments über der Motordrehzahl nach dem laminar-turbulenten Umschlag.

Normierung des Drehmoments

Wendt (1933) hat seine Messergebnisse zum Drehmoment auf das theoretische laminare Moment M_{lam} normiert. Sein dimensionsloses Moment lautet

$$G = \frac{M}{M_{lam}}. \quad (23)$$

Das theoretische laminare Motordrehmoment M_{lam} kann berechnet werden, indem mit Hilfe des Geschwindigkeitsprofils für die laminare Taylor-Couette-Strömung die lokale Scherrate und daraus die Schubspannung für die laminare Taylor-Couette-Strömung errechnet wird:

Geschwindigkeitsprofil für die laminare Taylor-Couette-Strömung

Das Geschwindigkeitsprofil im Spalt für die laminare Taylor-Couette-Strömung lautet nach Wendt (1933)

$$u = a * r + \frac{b}{r} \quad (24)$$

mit

$$a = \frac{u_a r_a - u_i r_i}{r_a^2 - r_i^2} \quad (25)$$

und

$$b = -\frac{r_a^2 r_i^2}{r_a^2 - r_i^2} \left(\frac{u_a}{r_a} - \frac{u_i}{r_i} \right). \quad (26)$$

Dabei ist u die Geschwindigkeitskomponente in Umfangsrichtung am Radius r , r_i und r_a sind die Radien von Innen- und Außenzyylinder und u_i und u_a die Geschwindigkeiten am Innen- und Außenzyylinder.

Lokale Scherrate für die laminare Taylor-Couette-Strömung

Chmiel & Walitza (2018) legen dar, dass – in der Notation nach Wendt (1933) – die Ableitung der Geschwindigkeit u

$$\frac{du}{dr} = \frac{d(r * \omega(r))}{dr} = \omega(r) + r \frac{d\omega}{dr} \quad (27)$$

die Rotation der Teilchen enthält, also die örtliche Winkelgeschwindigkeit $\omega(r)$. Um diese muss die Scherrate reduziert werden, um definitionsgemäß lediglich die Deformation des Fluidteilchens zu beschreiben. So ergibt sich

$$\dot{\gamma} = r \frac{d\omega}{dr} - \omega(r), \quad (28)$$

sodass letztlich die Scherrate für die laminare Taylor-Couette-Strömung lautet

$$\dot{\gamma} = \left(\frac{du}{dr} \right)_{r=r_i} - \frac{u_i}{r_i}. \quad (29)$$

Schubspannung für die laminare Taylor-Couette-Strömung

Die Gleichung für die Schubspannung

$$\tau = \mu \dot{\gamma} \quad (30)$$

führt zur nach Wendt (1933) an der Innenwand geltenden Form für die laminare Taylor-Couette-Strömung

$$\tau_i = \mu \left[\left(\frac{du}{dr} \right)_{r=r_i} - \frac{u_i}{r_i} \right] \quad (31)$$

sowie mit der Ableitung des Geschwindigkeitsprofils im Spalt nach Gl. (1) zusammen mit Gl. (2) und Gl. (3) zu

$$\begin{aligned} \left(\frac{du}{dr} \right)_{r=r_i} &= \frac{d}{dr} \left(a * r + \frac{b}{r} \right)_{r=r_i} \\ &= a - \frac{b}{r_i^2} \\ &= \frac{2u_a r_a - u_i r_i - r_a^2 \frac{u_i}{r_i}}{r_a^2 - r_i^2} \end{aligned} \quad (32)$$

und ergibt dann schließlich

$$\tau_i = 2\mu \left[\frac{r_a^2}{r_a^2 - r_i^2} \left(\frac{u_a}{\underbrace{r_a}_{\omega_a}} - \frac{u_i}{\underbrace{r_i}_{\omega_i}} \right) \right]. \quad (33)$$

Drehmoment für die laminare Taylor-Couette-Strömung

Bereits Wendt (1933) und Taylor (1936) maßen das Drehmoment und stellten es in Relation zum Drehmoment bei laminarer Strömung (Torque Scaling). Das Drehmoment ist unabhängig davon, welcher der beiden Zylinder angetrieben wird und am Außen- und Innenzylinder sowie über den Spalt konstant.

Das Drehmoment für die laminare Strömung im stationären Fall ist laut Chmiel et al. (2018) und Wendt (1933)

$$M = A_{Zylinder}(r) r \tau \quad (34)$$

und bildet sich aus der Zylinderfläche

$$A_{Zylinder}(r) = 2\pi r h, \quad (35)$$

dem Hebel r und der laminaren Schubspannung τ nach Gl. (33), sodass sich

$$M = 2\pi h r^2 \tau \quad (36)$$

ergibt. Am Innenzylinder lautet es

$$M_{lam} = 2\pi r_i^2 h \tau_i \quad (37)$$

sodass mit Hilfe von Gl. (33) ergibt:

$$M_{lam} = -4\pi\mu h \frac{r_a^2 r_i^2}{r_a^2 - r_i^2} (\omega_a - \omega_i) \quad (38)$$

Weitere Möglichkeiten der Normierung

In der neueren Literatur wird das gemessene Drehmoment oft nicht auf das laminare Drehmoment im Couette-Spalt bezogen, sondern ausschließlich dimensionslos gemacht. Lathrop et al. (1992) errechnen das dimensionslose Moment ohne Abhängigkeit von Drehzahl und Außen- bzw. Innenradius und nur abhängig von Zylinderhöhe und den Stoffwerten

$$G = \frac{M}{\rho L v^2}, \quad (39)$$

ähnlich wie Eckhardt et al. (2007) sowie Martinez-Arias (2015)

$$G = \frac{M}{2\pi l \rho v^2}. \quad (40)$$

Globale/repräsentative Scherrate für die laminare Taylor-Couette-Strömung

Die in dieser Arbeit aus der Drehzahl errechnete globale Scherrate ist als

$$\gamma = \frac{\omega_a r_a}{\Delta r} \quad (41)$$

definiert. Sie entspricht der lokalen Scherrate am feststehenden Innenzylinder.

Reynolds-Zahl für den rein außenangetriebenen Zylinder

Die in dieser Arbeit angegebenen Reynolds-Zahlen entsprechen der „Outer Cylinder Reynolds Number“, also der Reynolds-Zahl am Couette-Spalt, die mit der Geschwindigkeit an der Innenwand des angetriebenen Außenzylinders sowie der Spaltbreite berechnet wird:

$$Re = \frac{\rho_{Fluid} \omega_a r_a \Delta r}{\mu_{Fluid}} \quad (42)$$

3.5 Bestimmung des laminar-turbulenten Umschlags sowie der Geschwindigkeits- und Scherratenprofile mit Hilfe von CFD-Simulationen

Mit Hilfe der numerische Strömungssimulationen soll, wie bereits in den experimentellen Untersuchungen mit Hilfe der Strömungssichtbarmachung und der Drehmomentbestimmung, der laminar-turbulente Umschlag bestimmt werden, um bei der Ermittlung der Scherbelastung eine laminare Strömung garantieren zu können. Weiterhin sollen die Verläufe der Geschwindigkeit und der Scherrate im Messspalt bestimmt sowie Histogramme erstellt werden, die den Volumenanteil der im Schervolumen auftretenden Scherraten am gesamten Schervolumen zeigen.

Da mit Hilfe der Reynolds-gemittelten Erhaltungsgleichungen instationäre Strömungsstrukturen nicht aufgelöst werden können, werden Grobstruktursimulationen der Taylor-Couette-Strömung im Scherapparat durchgeführt. Insbesondere der laminar-turbulente Übergang soll damit bestimmt werden, da bei laminarer Strömung die Scherrate im Spalt annähernd konstant und homogen verteilt ist.

Für die numerischen Untersuchungen werden zwei CFD-Modelle, ein 360°-Vollmodell des Couette-Spaltes und ein Teilmodell, das einen 5°-Schnitt des Spaltes abbildet, entwickelt. Für jedes der beiden Modelle wird eigens ein Rechengitter erstellt und es werden auf das Rechengitter und die Strömungsbedingungen angepasste Anfangs- und Randbedingungen vorgegeben. Beide Modelle haben ihre jeweiligen Vor- und Nachteile hinsichtlich Rechenaufwand, Abstraktionsgrad der Randbedingungen und Darstellungsmöglichkeiten der Ergebnisse.

3.5.1 Rechenmodell des kompletten Taylor-Couette-Spalts (360°-Vollmodell)

Motivation für die Entwicklung des 360°-Vollmodells

Mit dem 360°-Vollmodell des Scherapparats soll ein Rechenmodell für Grobstruktursimulationen zum laminar-turbulenten Umschlag, bestehend aus Rechengitter, Anfangs- und Randbedingungen, erstellt werden, das so einfach wie möglich ist und für das so wenige Annahmen wie möglich getroffen werden müssen. Dafür soll in Kauf genommen werden, dass der Rechenaufwand durch eine große Anzahl an Gitterzellen hoch ist.

Insbesondere für die Strömungsbedingungen an den Rändern soll auf Annahmen wie Druck- oder Geschwindigkeits-Ein- oder Auslässe sowie periodische Randbedingungen verzichtet werden, die für ein Teilmodell des Systems zur Reduzierung des Rechenaufwands jedoch nötig wären. Das Vollmodell bildet 360° des Couette-Spalts ab, sodass die sich im Spalt entwickelnden Strömungsstrukturen tatsächlich mehrfach um den Innenzylinder rotieren können.

Rechengitter

Das Rechengitter wird für den Entwurf 1 der Scherapparatur mit 1,0 mm Spalt und dem Kegelwinkel 2,73° entwickelt, bei dem aus technischen Gründen der untere Kegel-Platte-Bereich größer war als der obere (siehe Abbildung 9). Für diese Besonderheit wird mit Entwurf 2 der Scherapparatur mit 0,5 mm Spalt eine technische Lösung gefunden.

Das Rechengitter besteht aus 32,7 Mio. Gitterzellen. Im Spalt und in großen Teilen der beiden Kegel-Platte-Bereiche liegt ein strukturiertes Gitter vor. Lediglich im unteren Kegel-Platte-Bereich muss zur Mitte hin unstrukturiert vernetzt werden. Das Netz wird darauf ausgelegt, bei einer Drehzahl von 24000 U/min einen dimensionslosen Wandabstand $y^+=1$ einzuhalten, der für eine wandauflösende Grobstruktursimulation empfohlen wird. Dafür wird das Netz zu den Wänden hin verdichtet, sodass 17 Gitterzellen bei 24000 U/min in der Grenzschicht liegen (siehe Abbildung 9, unten).

Alle Gitterzellen haben eine orthogonale Qualität von 0,17 bis 1,00 sowie eine maximale Schiefe (Skewness) von 0,93. Sämtliche Gitterzellen liegen sowohl hinsichtlich orthogonaler Qualität als auch Schiefe im akzeptablen Bereich, der für die orthogonale Qualität von 0,15 bis 1,00 und für die Schiefe von 0 bis 0,94 reicht. Bei diesen akzeptablen Werten sind im Normalfall keine Störungen der Simulation durch Divergenz zu erwarten.

Physikalische Modelle, Anfangs- und Randbedingungen

Als LES-Feinstrukturmodell wird das Localized Dynamic k_{sgs} -equation model (LDKM) nach Kim & Menon (1995) verwendet, das in ANSYS FLUENT als „Kinetic-Energy Transport“-Modell implementiert ist (Ansys 17 Theory Guide, 2016) und sich für eine Vielzahl turbulenter Strömungen gleichermaßen gut eignen soll. Seine Eignung für wandgebundene Strömungen, wie die turbulente ebene Couette-Strömung, wurde explizit untersucht und hat gute Übereinstimmung mit experimentellen Untersuchungen und DNS-Simulationen gezeigt (Kim & Menon, 1997).

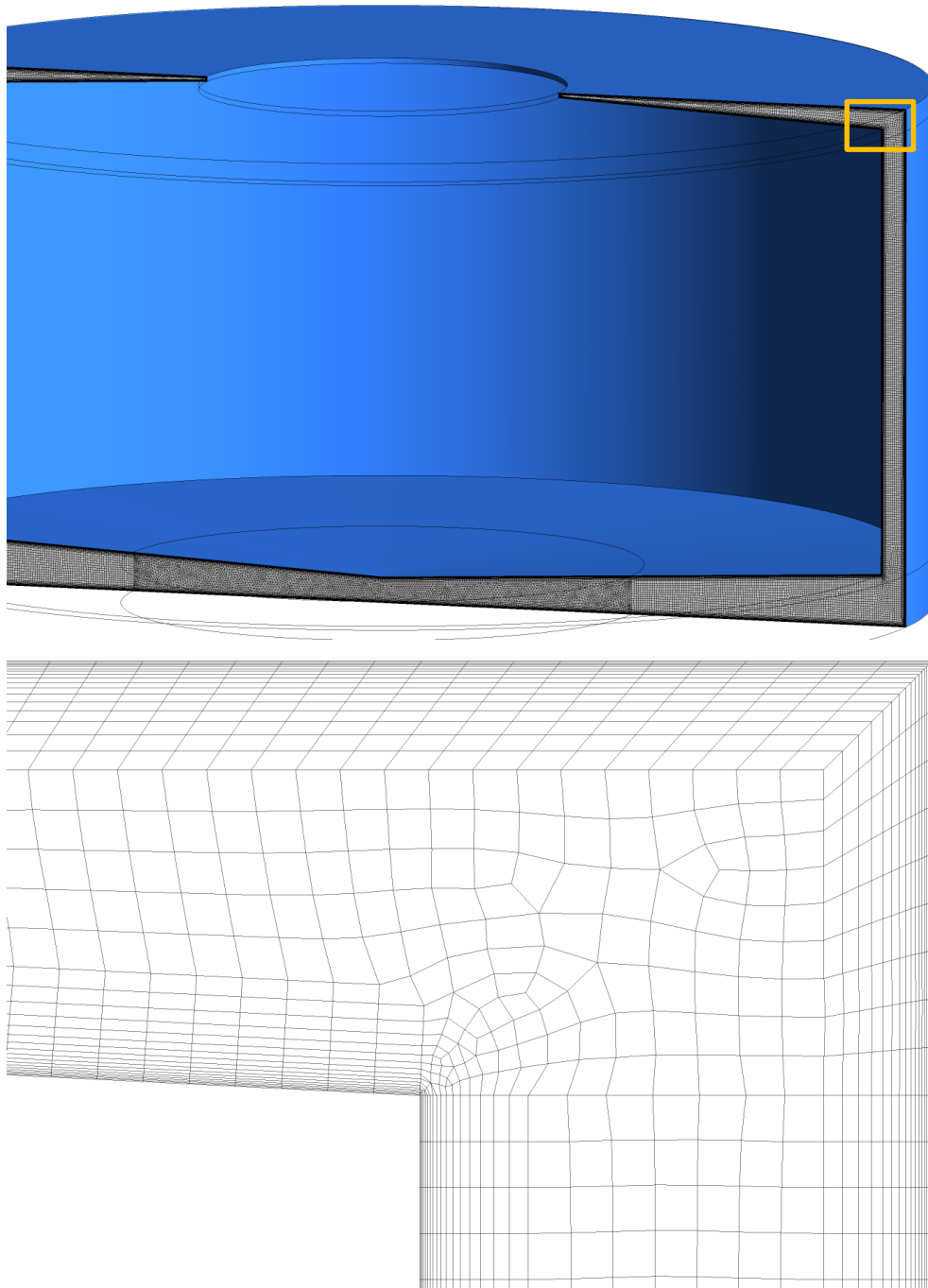


Abbildung 9: Oben: Rechengitter (zur Darstellung hier in der Mitte durchgeschnitten) des 360°-Modells; unten: Detailansicht des Netzes am Übergang vom Kegel-Platte-Bereich zum Messspalt

Das LDKM ist ein Eingleichungsmodell, das mit Hilfe einer Transportgleichung für die kinetische Feinstrukturenergie k_{sgs} den Transport von turbulenter kinetischer Energie in der Feinstruktur (Sub-grid) zwischen den Zellen des Gitternetzes erlaubt und damit eine der Einschränkungen der Familie der Smagorinsky-Feinstrukturmodelle löst, nämlich, dass Produktion und Dissipation der kinetischen Feinstruktur-Energie k_{sgs} im Gleichgewicht sind, also zu jedem Zeitpunkt in jeder Gitterzelle genau so viel kinetische Energie durch die implizite Filterung durch des Rechengitter in die Feinstruktur gelangt, wie in den kleinen Feinstruktur-Skalen wieder dissipiert wird und dadurch Historieneffekte und

Nichtlokalitätseffekte völlig vernachlässigt (Kim & Menon, 1995). Insbesondere bei Strömungen mit starker Inhomogenität und starker Scherung gilt die Annahme des turbulenten Gleichgewichts nicht (Fröhlich, 2006).

Bei dem 360°-Vollmodell müssen lediglich Randbedingungen an den Wänden des Innenzylinders und des Außenzylinders mit Deckel und Boden sowie die Stoffwerte der Flüssigkeit, also Wasser oder der in Abschnitt 3.3 angemischten Trägerlösung vorgegeben werden. Die genauen Vorgaben für die Randbedingungen, beispielhaft für eine Drehzahl von 2400 U/min, sind in Tabelle 4 angegeben. In Tabelle 5 sind wesentliche Strömungsgrößen, inklusive der vorgegebenen Winkelgeschwindigkeit, für die mit dem 360°-Vollmodell durchgeführten Simulationen mit destilliertem Wasser aufgelistet. Die experimentell ermittelten Stoffwerte sind im Ergebnisteil in Abschnitt 4.2, Tabelle 11, aufgelistet. Als Materialmodell wird ein inkompressibles Fluid mit konstanter Dichte und Viskosität angenommen.

Während die inneren Wände feststehen, wird an den Wänden des Außenzylinders bzw. Deckels und Bodens eine der zu simulierenden Drehzahl entsprechende Winkelgeschwindigkeit vorgegeben.

Tabelle 4: Randbedingungen für das 360°-Vollmodell

	Randbedingung (engl. Bezeichnung in FLUENT)	Größe	Einheit
Innenwände Außenzylinder	- Bewegte Wand (Moving Wall) - Rotationsbewegung (Rotational) - Winkelgeschwindigkeit (Speed)	251,3	[rad/s]
Außenwände Innenzylinder	- Feste Wand (Stationary Wall)		

Zu beachten ist, dass diese Randbedingung keine Netzbewegung bedeutet, sondern an diesem Rand des Rechennetzes lediglich eine Geschwindigkeit ungleich Null definiert ist, die permanent in das Rechengitter mit seinen Strömungsfeldern hineinwirkt und dort ein Strömungsfeld erzeugt, das den Erhaltungsgleichungen und allen Randbedingungen genügt. Konkret wird für die Moving Wall aufgrund der Rotation eine Winkelgeschwindigkeit ω in [rad/s] vorgegeben, die sich entsprechend der zu untersuchenden Drehzahl aus $\omega = 2\pi n/60$ ergibt und vom Solver mit Hilfe des Radius des angetriebenen Außenzylinders in eine Geschwindigkeit in SI-Einheit in [m/s] umgerechnet wird.

Zur Berechnung der Anfangsbedingungen wurde die Ansys Fluent 17 Hybrid-Initialisierung verwendet.

Tabelle 5: Mit dem 360°-Vollmodell zu untersuchende Drehzahlen und wichtige Größen

Drehzahl Außenzylinder	Winkel- geschwindigkeit	Geschwindigkeit Außenzylinder	Reynolds- zahl	Umlaufzeit 1 Umdrehung	Anzahl Zeit- schritte 1 Umlauf
[U/min]	[rad/s]	[m/s]	[-]	[s]	[-]
600	62,8	1,3	1313	0,100	100000
1100	115,2	2,4	2407	0,055	55000
1200	125,7	2,6	2626	0,050	50000
3000	314,2	6,6	6566	0,020	20000

Vor- und Nachteile

Der größte Vorteil des vollen 360°-Modells ist, dass es sich um ein geschlossenes System handelt und somit nur sehr wenige Randbedingungen abgeschätzt und vorgegeben werden müssen, im Wesentlichen nur die Winkelgeschwindigkeit für die Moving-Wall-Randbedingung an der Innenwand des angetriebenen Außenzylinders und die Stationary-Wall-Randbedingung an der Außenseite des Innenzylinders. Durch den Verzicht auf Einlässe oder Auslässe und periodische Randbedingungen werden die entstandenen Strömungsstrukturen im Gitternetz tatsächlich umherbewegt, wie sie es in der Realität auch tun würden. Das Modell eignet sich entsprechend gut für einen ersten Einblick in die Strömungsverhältnisse und zur Verwendung als Referenzmodell für die Entwicklung kleinerer Strömungsmodelle z.B. durch Rechnen auf einem Tortenstück in Verbindung mit der Periodic-Randbedingung.

3.5.2 Rechenmodell eines 5°-Ausschnitts des Taylor-Couette-Spalts

Motivation für die Entwicklung des 5°-Schnittmodells

Sofern im 360°-Vollmodell mit der Grobstruktursimulation laminares und turbulentes Verhalten abgebildet werden kann, ohne neben Drehzahl und Stoffwerten des Fluids weitere Vorgaben oder Annahmen zum laminar-turbulenten Umschlag machen zu müssen, soll im nächsten Schritt der Rechenaufwand und auch der Aufwand der zur Erstellung eines Rechengitters für leicht abgewandelte Geometrien, wie Entwurf 2 der Scherapparatur (Scherapparat v1.3) mit 0,5 mm Spalt und dem Kegelwinkel 1,36°, maßgeblich reduziert werden. Dafür soll nun nicht mehr der gesamte Couette-Spalt, sondern nur ein Ausschnitt in Form eines Tortenstücks simuliert werden. Mit Hilfe der Erfahrungen zur Größe der Strömungsstrukturen im 360°-Vollmodell, die 5° von der Länge her nicht überschreiten, soll ein 5°-Ausschnitts des Couette-Spalts simuliert werden. Die Geometrie dieses 5°-Simulationsmodells und die Randbedingungen an den jeweiligen Flächen sind in Abbildung 10 dargestellt.

Das ausschnittsweise Simulieren der Strömung in einer Geometrie wird durch die Wahl periodischer Randbedingungen ermöglicht. Dabei werden die Strömungsfelder kontinuierlich von der Schnittfläche stromabwärts auf die exakt gleich große Schnittfläche stromaufwärts zurückgemappt, sodass sich die Strömung dann wieder über das Rechengitter weiterentwickeln kann, bevor die Strömungsfelder am Ende des Rechengitters wieder von der Schnittfläche stromabwärts zurück zur Schnittfläche stromaufwärts gemappt werden.

Im unteren Teil wird die Geometrie in zwei Teile zerschnitten, sodass für den größten Teil der Geometrie eine strukturierte Vernetzung ermöglicht wird, was sonst durch die Spitze verhindert würde. Der Teil des Netzes mit der Spitze muss dann zwar weiterhin unstrukturiert vernetzt werden, was im Allgemeinen zu größeren Gitterzellzahlen und schlechterer Gitterqualität führt, jedoch kann dieser Teil durch das Zerschneiden der Geometrie möglichst klein gehalten werden.

Aufgrund der gemeinsamen Kante, die beide Schnittflächen unten in der Spitze teilen, kann dort keine periodische Randbedingung angewendet werden. Es werden dort stattdessen eine Druckeinlass-Randbedingung stromaufwärts und eine Druckauslass-Randbedingung stromabwärts, beide unter Vorgabe des Umgebungsdruckes, vorgegeben.

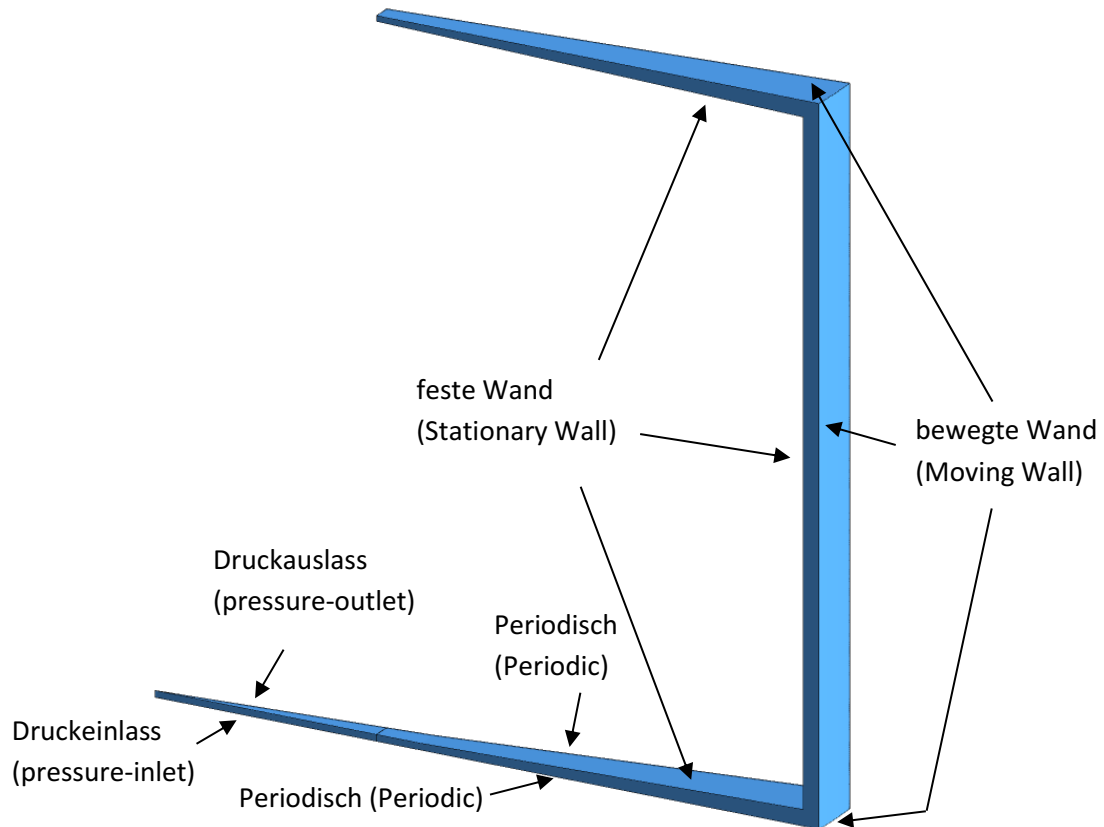


Abbildung 10: Geometrie des 5°-Tortenstücks für Scherapparat Entwurf 2 (0,5mm Spalt) mit Randbedingungen. Die außenliegenden Flächen stellen die Innenwand des angetriebenen Außenzylinders dar und sind deshalb vom Typ „Moving Wall“, die innenliegenden Flächen stellen die Außenwände des feststehenden Innenzylinders dar und sind deshalb vom Typ „Stationary Wall“. An den Schnittflächen sind die Randbedingungen „Periodic“. Dabei wird das Strömungsfeld von der hinteren Schnittfläche auf die vordere Schnittfläche gemappt und kann sich dann im Bereich des 5°-Ausschnitts weiterentwickeln, um dann wieder von der hinteren Schnittfläche auf die vordere gemappt zu werden.

Rechengitter

Das strukturierte Netz besteht hauptsächlich aus Hexaedern, also Sechsfächlern mit im Idealfall Würfel- oder Quaderform, mit jeweils 8 Knoten (Hex8). Der unstrukturierte Teil des Netzes nahe der Spitze besteht teilweise auch aus Hex8-Hexaederelementen, jedoch zusätzlich aus Wed6-Prismen mit 6 Knoten pro Gitterelement. Als Gitter-Elementgröße wurde global $2 \cdot 10^{-5}$ m vorgegeben, damit der Messspalt zwischen Außenzylinder und Innenzylinder mit 25 Gitterzellen aufgelöst werden kann.

Im Gegensatz zum 360°-Modell wird beim 5°-Modell auf eine Netzverdichtung zu den Wänden hin verzichtet, da das Strömungsprofil bei der Taylor-Couette-Strömung in Wandnähe nicht so stark ansteigt wie z.B. bei der Rohrströmung mit ihren festen Wänden und der Hauptströmung im Mittelpunkt des Kreisquerschnitts. Umso geringer die Drehzahl wird, umso mehr nähert sich das reale Geschwindigkeitsprofil der Taylor-Couette-Strömung mit angetriebenem Außenzylinder dem idealen Profil der laminaren Strömung an, nämlich einer Gerade, bei der der Anstieg überall gleich ist. Zwar steigen die Geschwindigkeitsgradienten nahe der Wand mit steigender Dreh- bzw. Reynolds-Zahl bei der Taylor-

Couette-Strömung, jedoch nicht annähernd so stark wie in der Grenzschicht einer Rohrströmung oder ebenen Platte.

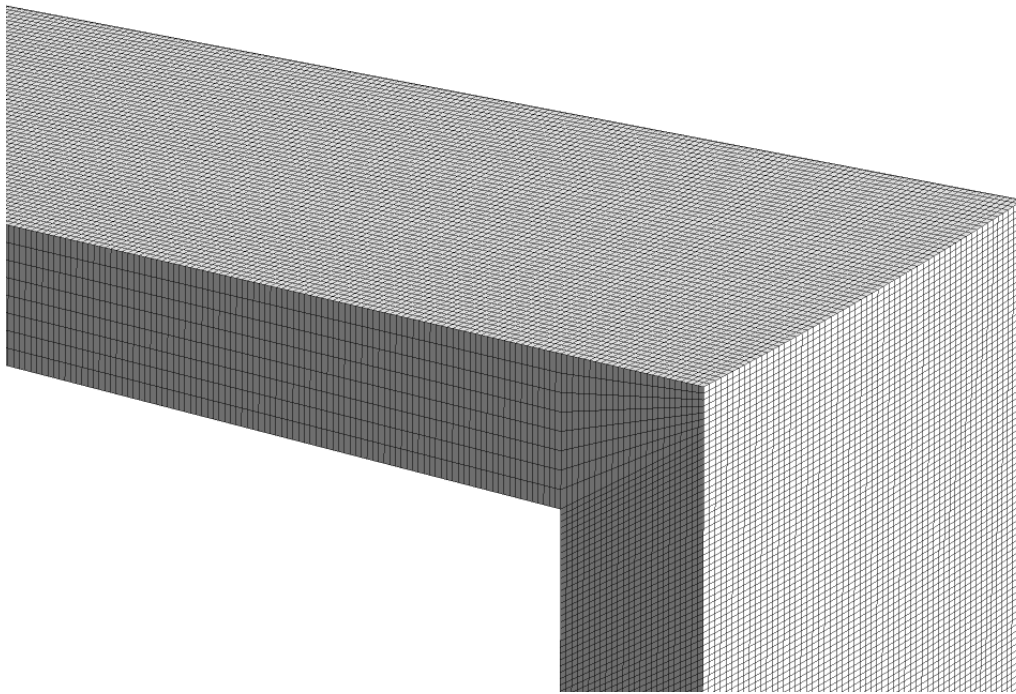


Abbildung 11: Detailansicht des Netzes des 5°-Modells am Übergang vom Kegel-Platte-Bereich (oben links) zum Messspalt (unten rechts)

Das Rechengitter besteht aus 2,2 Mio. Gitterelementen. Abbildung 11 zeigt den strukturierten Teil des Rechengitters am Übergang des Kegel-Platte-Bereichs (oben links) zum Messspalt (unten rechts) im Detail. Dabei liegen 47 Gitterelemente in Umfangsrichtung, sodass jede Gitterzelle ca. $0,1^\circ$ des 5° -Ausschnitts abdeckt und, wie geplant, 25 Gitterelemente in radialer Richtung über den Messspalt. Dabei haben beim 5° -Modell alle Gitterelemente in etwa die gleiche Größe, sind mit $2 \cdot 10^{-5}$ m nur etwa ein Viertel so groß, wie die $7,5 \cdot 10^{-5}$ m großen Gitterzellen in der Mitte des Messspalts des 360° -Modells und können damit überall annähernd gleich große Strömungsstrukturen auflösen.

Die orthogonale Qualität der Gitterzellen liegt im Bereich von 0,17 bis 1,00 und die Schiefe (Skewness) im Bereich von $1,3 \cdot 10^{-10}$ bis 0,91.

Physikalische Modelle, Anfangs- und Randbedingungen

Als LES-Feinstrukturmodell wird, wie auch beim 360° -Vollmodell, das Localized Dynamic k_{sgs} -equation model (LDKM) nach Kim & Menon (1995) verwendet, das in ANSYS FLUENT als „Kinetic-Energy Transport“-Modell implementiert ist (ANSYS 17 Theory Guide, 2016).

Die in den CFD-Simulationen verwendeten Randbedingungen sind in Tabelle 6 dargestellt. Im Wesentlichen ist die Wand des Innenzylinders eine stationäre Wand, also ein Rand mit einer Geschwindigkeit von Null, während die Innenwand des Außenzylinders als Moving Wall definiert wurde. Die beiden Schnittflächen sind, wie oben im Kontext von Abbildung 10 bereits beschrieben, mit einer periodischen Randbedingung belegt, bei der die Strömungsfelder von der stromabwärtigen Schnittfläche

zurück auf die Schnittfläche stromaufwärts gemappt werden, sodass sich das Strömungsfeld im 5°-Netzausschnitt weiterentwickeln kann, bevor es wieder von stromabwärts nach stromaufwärts gemappt wird.

Tabelle 6: Randbedingungen für das 5°-Modell

	Randbedingung (engl. Bezeichnung in FLUENT)	Größe	Einheit
Innenwände Außenzylinder	Bewegte Wand (Moving Wall) - Rotationsbewegung (Rotational) - Winkelgeschwindigkeit (Speed)	251,3	[rad/s]
Außenwände Innenzylinder	Feste Wand (Stationary Wall)		
Schnittflächen	Periodische Randbedingung (Periodic) - Rotatorisch (Rotational)		

Da die Zeitschrittweite in den Simulationen auf dem 5°-Rechengitter mit vorgegebener Elementgröße von $2 \cdot 10^{-5}$ m und sich daraus ergebenden 47 Gitterzellen in Umfangsrichtung $\Delta t < \Delta x/u = (2 \cdot 10^{-5} \text{ s}) / (6,6 \text{ m/s}) = 3 \cdot 10^{-6} \text{ s}$ sein sollte, wenn die Zellen pro Zeitschritt definitiv nicht mehr als eine Zelle durchqueren sollen, wird für die Simulationen mit einer Sicherheit von 3 als Zeitschrittweite $\Delta t = 10^{-6} \text{ s}$ gewählt, mit maximal 20 Iterationen pro Zeitschritt. Dies ergibt bei einer Drehzahl von 3000 U/min eine Umlaufzeit von 0,02 s, siehe Tabelle 7. Für einen einzigen Umlauf müssen dann entsprechend 20000 Zeitschritte simuliert werden. Die Winkelgeschwindigkeiten in der zweiten Spalte von Tabelle 7 sind genau die Werte, die als Moving Wall (Rotating)-Randbedingung am angetriebenen Außenzylinder und der oberen und unteren Wand vorgegeben wurden. Weiterhin sind in Tabelle 7 die anderen wesentlichen Größen, wie Reynolds-Zahl, Scherrate und Umlaufzeit, die sich aus Drehzahl, Scherspalt und Zeitschrittweite für destilliertes Wasser für die einzelnen Simulationen jeweils ergeben, aufgelistet.

Tabelle 7: Mit dem 5°-Schnittmodell zu untersuchende Drehzahlen sowie weitere wichtige Größen

Drehzahl Außenzylinder	Winkel- geschwindigkeit	Geschwindigkeit Außenzylinder	Reynolds- zahl	Umlaufzeit 1 Umdrehung	Anzahl Zeit- schritte 1 Umlauf
[U/min]	[rad/s]	[m/s]	[-]	[s]	[-]
1200	125,7	2,6	1317	0,050	50000
1500	157,1	3,3	1646	0,040	40000
1800	188,5	4,0	1975	0,033	33000
2100	219,9	4,6	2305	0,029	29000
2400	251,3	5,3	2634	0,025	25000
2700	282,8	5,9	2963	0,022	22000
3000	314,2	6,6	3292	0,020	20000

Im Ergebnisteil in Abschnitt 4.2, Tabelle 11, sind die experimentell ermittelten Stoffwerte der in den Grobstruktursimulationen untersuchten Lösungen aufgelistet. Als Materialmodell wurde ein inkompressibles Fluid mit konstanter Dichte und Viskosität angenommen.

Da zum Zeitpunkt der Erstellung des hier untersuchten Modells die genauen Trägerfluide für die Zellen noch nicht bekannt waren, wurden die Simulationen systematisch mit destilliertem Wasser durchgeführt.

Erst im Zusammenhang mit den eigentlichen Zellversuchen werden ganz konkrete Simulationen mit zwei Trägerflüssigkeiten durchgeführt, die die Strömungsbedingungen bei diesen Zellversuchen abbilden sollen.

Es werden verschiedene Anfangs- und Randbedingungen und die Kombination von beiden untersucht, um die laminare Strömung zu stören:

Als Randbedingung wird eine hochfrequente Sinus-Schwingung der Winkelgeschwindigkeit des angetriebenen Außenzylinders $\omega(t)$ mit jeweils einer bestimmten Amplitude ω_0 und einer bestimmten Kreisfrequenz ω_K auf eine konstante Winkelgeschwindigkeit des Außenrotors aufgeprägt.

$$\omega(t) = \omega_{\text{außen}} + \omega_0 * \sin(\omega_K * t)$$

Dabei werden verschiedene Drehzahlen bzw. Winkelgeschwindigkeiten untersucht, die einerseits nach der „Double Threshold“-Theorie hoch genug sein müssen, um laminar-turbulenten Umschlag zu erlauben, und andererseits zusammen mit der Amplitude der Schwingung nicht höher sein sollen als die kleinste Drehzahl, die ohne Störung turbulent wird, also 2400 U/min. Da eine Grunddrehzahl von 2100 U/min mit aufgeprägter Störung mit Amplitude von beispielsweise 10 % der Basisdrehzahl eine maximale Drehzahl von 2310 U/min bedeutet, werden Drehzahlen mit etwas Abstand von 2400 U/min untersucht, nämlich 1500 U/min und 1800 U/min. Weiterhin werden verschiedene Amplituden, nämlich 1 % der Winkelgeschwindigkeit des Außenrotors, also $\omega_0 = 0,01 * \omega_{\text{außen}}$, und 10 %, also $\omega_0 = 0,1 * \omega_{\text{außen}}$, und verschiedene Kreisfrequenzen ω_K , nämlich $\omega_K = 100 * \omega_{\text{außen}}$, $\omega_K = 1000 * \omega_{\text{außen}}$ und $\omega_K = 10000 * \omega_{\text{außen}}$ untersucht.

Die Ergebnisse in der Literatur weisen eher darauf hin, dass das vorherrschende Strömungsfeld in der Geometrie, also die Anfangsbedingungen, wesentlich für den subkritischen laminar-turbulenten Umschlag sind. Entsprechend Ostilla-Monico et al. (2016) soll auch hier ein zufälliges Geschwindigkeitsprofil, ein Rauschen, entweder auf die vorhandene Strömung aufaddiert werden oder sie komplett ersetzen. Dafür wurde einerseits ein weißes Rauschen, also ein Rauschen mit konstantem Leistungsdichtespektrum, in Höhe von 10 %, 20 %, 50 % und 150 % der Winkelgeschwindigkeit des Außenrotors auf die Winkelgeschwindigkeit des Außenrotors aufaddiert und im zweiten Fall das eigentliche Geschwindigkeitsfeld durch ein weißes Rauschen in der Größenordnung 150 % der Winkelgeschwindigkeit am Außenrotor ersetzt.

Weiterhin werden die oben beschriebenen Anfangs- und Randbedingungen kombiniert. Die als Sinusschwingung variierende Drehzahl des angetriebenen Außenzylinders mit maximaler Amplitude 10 % und maximaler Kreisfrequenz 10000-fach als Randbedingung wird kombiniert mit der Anfangsbedingung des auf das Geschwindigkeitsfeld addierten weißen Rauschens von 150 %.

Zuletzt wird das Strömungsfeld von 3000 U/min, das auf jeden Fall turbulent ist und auch nach langer Simulationszeit noch bleibt, zur Initialisierung verwendet und bei konstanter Drehzahl des Außenzylinders simuliert.

3.5.3 Bewertungskriterien für die Strömungssimulationen

Laminar-turbulenter Umschlag

Entsprechend den Erkenntnissen aus der Literatur in Abschnitt 2.2 wird bei den Simulationen unterkritische Transition erwartet. Wie ebenfalls in Abschnitt 2.2 dargestellt, wurden bisher jedoch sehr wenige Ergebnisse zur unterkritischen Transition am Taylor-Couette-Spalt publiziert.

Fröhlich (2006) schlägt Isoflächen des Q-Kriteriums zur Visualisierung kohärenter Wirbelstrukturen vor. Auch Poncet et al. (2013) haben numerische Untersuchungen, unter anderem LES- und DNS am innen-angetriebenen Taylor-Couette-Spalt, mit überkritischer Transition durchgeführt und zur Identifizierung Isoflächen des Q-Kriteriums genutzt. Das Q-Kriterium hat in den letzten Jahren weite Verbreitung gefunden und ist daher in den meisten CFD-Codes integriert, so auch in ANSYS. Das Q-Kriterium ist ursprünglich zur Identifikation von Wirbelkernen formuliert worden, da es jedoch im Wesentlichen aus den Geschwindigkeitsgradienten basiert, ist es zur Detektion des laminar-turbulenten Umschlags geeignet.

Das Q-Kriterium nach Hunt et al. (1988) entspricht der 2. Invariante des Geschwindigkeitsgradiententensors

$$\underline{D} = \begin{bmatrix} d_{11} & d_{12} & d_{13} \\ d_{21} & d_{22} & d_{23} \\ d_{31} & d_{32} & d_{33} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{\partial u}{\partial x} & \frac{\partial u}{\partial y} & \frac{\partial u}{\partial z} \\ \frac{\partial v}{\partial x} & \frac{\partial v}{\partial y} & \frac{\partial v}{\partial z} \\ \frac{\partial w}{\partial x} & \frac{\partial w}{\partial y} & \frac{\partial w}{\partial z} \end{bmatrix} = \nabla \vec{u}, \quad (43)$$

mit den Geschwindigkeitskomponenten u, v, w in den Raumrichtungen x, y, z bzw. $\vec{u} = \begin{pmatrix} u \\ v \\ w \end{pmatrix}$.

Entsprechend ergibt dies für Q, formuliert nach (Ansys CFD Post Documentation, 2016)

$$Q = \frac{1}{2}((-tr(\underline{D}))^2 - tr(\underline{D}\underline{D})) \\ = (d_{22}d_{33} - d_{23}d_{32}) + (d_{11}d_{22} - d_{12}d_{21}) + (d_{33}d_{11} - d_{13}d_{31}). \quad (44)$$

Strömungsverhältnisse im Schervolumen

Es soll ein Vergleich der Geschwindigkeitsprofile bei unterschiedlicher Drehzahl im Spalt sowie ein Vergleich der Scherraten bei unterschiedlicher Drehzahl im Spalt durchgeführt werden. Weiterhin sollen Histogramme der Scherraten Ausschluss darüber geben, in welchem Volumenanteil des Schervolumens welche Scherraten wirken.

Der Betrag der Geschwindigkeit (engl. *Velocity Magnitude*) wird definiert als

$$U = \sqrt{u^2 + v^2 + w^2} \quad (45)$$

und entspricht der allgemein üblichen Formulierung.

Die zur Auswertung verwendete Formulierung der Scherrate, in Ansys Fluent als *Strain Rate* bezeichnet (Ansys Fluent User Guide, 2016), lautet

$$S^2 = \left[\frac{\partial u}{\partial x} \left(\frac{\partial u}{\partial x} + \frac{\partial u}{\partial x} \right) + \frac{\partial u}{\partial y} \left(\frac{\partial u}{\partial y} + \frac{\partial v}{\partial x} \right) + \frac{\partial u}{\partial z} \left(\frac{\partial u}{\partial z} + \frac{\partial w}{\partial x} \right) \right] + \left[\frac{\partial v}{\partial x} \left(\frac{\partial v}{\partial x} + \frac{\partial u}{\partial y} \right) + \frac{\partial v}{\partial y} \left(\frac{\partial v}{\partial y} + \frac{\partial v}{\partial y} \right) + \frac{\partial v}{\partial z} \left(\frac{\partial v}{\partial z} + \frac{\partial w}{\partial y} \right) \right] + \left[\frac{\partial w}{\partial x} \left(\frac{\partial w}{\partial x} + \frac{\partial u}{\partial z} \right) + \frac{\partial w}{\partial y} \left(\frac{\partial w}{\partial y} + \frac{\partial v}{\partial z} \right) + \frac{\partial w}{\partial z} \left(\frac{\partial w}{\partial z} + \frac{\partial w}{\partial z} \right) \right]. \quad (46)$$

Diese Formulierung erfolgt, im Gegensatz zur in Abschnitt 3.4.2 für die laminare Taylor-Couette-Strömung definierten Scherrate, in kartesischen Koordinaten und ist ebenfalls gültig für turbulente Strömungen, da sie sämtliche Geschwindigkeitskomponenten miteinbezieht und daraus ein Skalar errechnet.

3.6 Bestimmung der Probenerwärmung aufgrund und während der Scherung

Es muss sichergestellt sein, dass die untersuchten mesenchymalen Stammzellen im Rahmen der experimentellen Validierung nicht durch eine übermäßige Erwärmung der Probe geschädigt werden, sondern ausschließlich durch die Scherung. Insbesondere bei höherviskosen Medien und bei hohen Drehzahlen muss der Antriebsmotor eine hohe Leistung aufbringen, die letztlich über Reibung und Dissipation die Probe erwärmt. Sofern die Temperatur der Probe die 40°C-Grenze überschreitet, können die Zellen unabhängig von der Scherung selbst geschädigt werden, sodass das Ergebnis verfälscht wird. Um sicherzustellen, dass für die durchgeführten Versuche diese Temperaturen nicht erreicht werden, werden Temperaturmessungen mit den angemischten Medien nach langer Scherung durchgeführt.

Da in der aktuellen Form des Scherapparats keine Temperatursensoren im feststehenden Innenzylinder vorgesehen sind, kann die Temperatur während der Scherung nicht nahe der Probe gemessen werden. Stattdessen muss die Probe nach dem Öffnen des Deckels händisch bestimmt werden. Dabei wird davon ausgegangen, dass direkt am Ende der Scherung die höchsten Temperaturen in der Probe herrschen. Durch ein zügiges Öffnen des Deckels soll die Abkühlung vor der Messung minimiert werden. Für die Proben wird jeweils ein Messwert mit zwei verschiedenen Typ-K-Thermoelementen genommen.

Die Temperaturmessungen werden für sämtliche Trägerlösungen jeweils nach 30 Minuten bei 2700 U/min durchgeführt.

3.7 Bestimmung der Scherbelastbarkeit mesenchymaler Stammzellen im Scherapparat

In diesem Abschnitt wird beschrieben, wie die korrekte Funktionalität der zu entwickelnden Scherapparatur exemplarisch anhand von Zellversuchen mit mesenchymalen Stammzellen untersucht werden soll. Dabei werden mit Hilfe verschiedener Drehzahlen und Einwirkdauern und unter laminaren Strömungsbedingungen Scherbelastungen auf die Zellen in der Scherapparatur aufgeprägt und anschließend die Vitalität der gescherten Zellen untersucht.

Die in diesem Abschnitt beschriebenen Versuche wurden zusammen mit der Arbeitsgruppe Stammzellbiologie am Arbeitsbereich Zellbiologie der Universitätsmedizin Rostock durchgeführt.

Versuchsaufbau und Versuchsablauf

Untersucht werden mesenchymale Stammzellen aus dem menschlichen Unterhautfettgewebe (engl. *adipose-derived mesenchymal stem cells*, adMSC). Diese werden per Liposuktion gewonnen (Meyer et al., 2015). Die Spender waren zum Zeitpunkt der OP zwischen 25 und 27 Jahre alt und das abgesaugte Fettgewebe stammt aus dem Ober- und Unterbauch sowie aus der Brust.

Die verwendeten adMSC werden in Zellkultur kultiviert sowie zur Vermehrung bei Konfluenz geteilt und passagiert und der Vergleichbarkeit halber in Passage 3 bei Konfluenz abgelöst und für die Untersuchungen genutzt. Dabei haben sie einen Zelldurchmesser von ca. 18 μm .

Für jeden Versuch werden jeweils 3 Proben gemessen: Die eigentliche Probe zum Befüllen des Scherapparates sowie zwei Kontrollproben: Bei der ersten Kontrollprobe von 0,3 ml wird die Zellzahl direkt nach der Resuspension in PBS-LSM bzw. PBS-Ficoll gemessen, bei der zweiten Kontrollprobe von 0,3 ml wird die Zellzahl nach der jeweiligen Behandlungszeit des Versuchslaufs gemessen, um abschätzen zu können, ob die Behandlungszeit und die Standzeit bei Raumtemperatur auch ohne Behandlung einen Einfluss auf die Zellzahl hatte.

Für die Hauptprobe aus PBS-LSM bzw. PBS-Ficoll wird eine Zellzahl von $3 \cdot 10^5$ Zellen/ml angepeilt. Der NucleoCounter NC-200 hat einen optimalen Messbereich von $5 \cdot 10^4$ Zellen/ml bis $5 \cdot 10^6$ Zellen/ml, sodass die im Versuch verwendete Hauptprobe um Faktor 6 über dem Minimum liegt. Um die angepeilte Zellzahl für die Hauptprobe zu erreichen, werden nach der Ablösung der konfluenten Passage-3-Zellen von den 75- cm^2 -Flaschen mit Trypsin-EDTA (0,25%) diese für 5 min mit 400 x g bei Raumtemperatur zentrifugiert und das Pellet in 5 ml Zellkulturmedium DMEM (Thermo Fischer Scientific, USA) mit 1 % Penicillin/Streptomycin (P/S) und 10% fötalem Kälberserum (FKS) resuspendiert. Von diesen 5 ml Zellsuspension werden zur Bestimmung der Zellzahl mit dem Zellzähler NucleoCounter NC-200 ca. 500 μl entnommen und für eine Dreifachbestimmung der Zellzahl mit dem Assay „aggregated cells - viability and cell count“ (v&cc aggr) dreimal jeweils 60 μl in jeweils zwei Via1-Kassetten (ChemoMetec AS, Dänemark) gefüllt.

Der NC-200 mit seinen Via1-Kassetten erlaubt eine automatisierte Zellzahlbestimmung in weniger als einer Minute. Dabei soll insbesondere die Mikrofluidik-Kassette Via1 mit ihrer integrierten Pipette und ihren zwei bereits enthaltenen Fluoreszenz-Markern Acridine Orange und DAPI sicherstellen, dass menschlicher Einfluss beim Pipettieren und Zellzählen ausgeschlossen wird.

Die erhaltenen Zellzahlen/ml ZZ_1 bis ZZ_3 werden gemittelt und auf die restlichen 4,5 ml Zellsuspension hochgerechnet. Um nun die $3 \cdot 10^5$ Zellen/ml für die Hauptprobe sicherzustellen, wird von den 4,5 ml Zellsuspension bekannter Zellzahl ein Volumen

$$V_{Entnahme} = \frac{10^6}{\frac{1}{n} \sum_{n=1}^3 ZZ_n} * \frac{V_{Scherapparat} + 2 * 0,3 \text{ ml}}{V_{Scherapparat}} \quad (47)$$

in ml entnommen, wiederum 5 min mit 400 x g bei Raumtemperatur zentrifugiert und diesmal in $V_{Scherapparat} + 2 * 0,3 \text{ ml}$ der gewünschten Trägerlösung resuspendiert und in ein steriles Becherglas gefüllt. Die Hauptprobe wird beispielsweise in einer 5 ml-Spritze (B. Braun, Deutschland) zur Befüllung des Scherapparats aufgezogen, von den übrigen 0,6 ml werden für die beiden Kontrollproben jeweils 0,3 ml entnommen und in jeweils ein 1,5-ml-Eppi gefüllt.

Die Zellsuspension wird nun in der entsprechenden Menge in den Spalt der Apparatur gefüllt und die Apparatur verschlossen. Danach kann der Scherapparat gestartet werden und über die Einstellung der Drehzahl die gewünschte Scherrate auf die Zellen aufgebracht werden.

Nach der Behandlung wird der Apparat wieder geöffnet, die Probe entnommen und untersucht sowie die zellberührenden Teile gesäubert bzw. desinfiziert. Die Apparatur kann anschließend unter der Sterilbank für den nächsten Versuch erneut zusammengesetzt werden.

Berechnung der Zellvitalität

Die Rohdaten der Vitalitätsbestimmung aus dem NucleoCounter NC-200 enthalten verschiedene Größen, wie die Zellzahl (alle gemessenen Ereignisse jeglicher Größe, sowohl viabel als auch nicht viabel), die Viabilität und die Durchmesserverteilung aller gemessenen Ereignisse. Die Zellvitalität kann deshalb in verschiedenen Varianten aus diesen drei unterschiedlichen Größen der Rohdaten errechnet werden.

Die Zellvitalität nach Variante 1 basiert auf der Zahl viabler Zellen. Die viable Zellzahl wird in der Literatur (neben der totalen Zellzahl) klassischerweise angegeben, siehe u.a. Sarkar et al. (2017). Sie berechnet sich aus dem Mittelwert der totalen Zellzahlen ZZ_i multipliziert mit den Viabilitäten Via_i der drei gescherten Proben normiert mit dem Mittelwert der totalen Zellzahlen ZZ_i der drei ungescherten Kontrollproben multipliziert mit ihren Viabilitäten Via_i :

$$Vit_{Zellzahl,viabel} = \frac{\left(\frac{1}{3} \sum_{i=1}^3 ZZ_i * Via_i\right)_{geschert}}{\left(\frac{1}{3} \sum_{i=1}^3 ZZ_i * Via_i\right)_{ungeschert}} \quad (48)$$

Die Zellvitalität nach Variante 2 basiert auf dem Mittelwert der Viabilitäten Via_i der drei gescherten Proben normiert mit dem Mittelwert der Viabilitäten Via_i der drei ungescherten Kontrollproben:

$$Vit_{Zellviabilität} = \frac{\left(\frac{1}{3} \sum_{i=1}^3 Via_i\right)_{geschert}}{\left(\frac{1}{3} \sum_{i=1}^3 Via_i\right)_{ungeschert}} \quad (49)$$

Die Zellvitalität nach Variante 3 basiert auf dem Anteil der Zelltrümmer an der Anzahl der Gesamtzellen. Sie errechnet sich aus dem Verhältnis der Zellen bzw. Zelltrümmer mit Durchmesser 0-10µm zu allen Zellen einer Probe, gemittelt über alle drei gesicherten Proben abzüglich des Verhältnisses der Zellen bzw. Zelltrümmer mit Durchmesser 0-10µm zu allen Zellen einer Probe, gemittelt über alle drei ungesicherten Kontrollproben. Dieser Gesamtwert ist von 1 abzuziehen:

$$Vit_{Zelltrümmer} = 1 - \left(\left(\frac{1}{3} \sum_{i=1}^3 \frac{\sum_{d=1}^{10} n_d}{\sum_{d=1}^{100} n_d} \right)_{gesichert} - \left(\frac{1}{3} \sum_{i=1}^3 \frac{\sum_{d=1}^{10} n_d}{\sum_{d=1}^{100} n_d} \right)_{ungesichert} \right) \quad (50)$$

n_d ist hier die Anzahl der Zellen mit dem jeweiligen Durchmesser d aus dem Histogramm.

Die Zellvitalität nach Variante 4 basiert auf der Anzahl von Zellen mit adMSC-Passage-3-konfluent/Passage-4 typischem Durchmesser, also mit Durchmesser 17-18µm +/- 3 µm = 14-21 µm und errechnet sich aus dem Verhältnis der Mittelwerte der drei gesicherten und ungesicherten Proben:

$$Vit_{14-21\mu m} = \frac{\left(\frac{1}{3} \sum_{i=1}^3 \sum_{d=14}^{21} n_d \right)_{gesichert}}{\left(\frac{1}{3} \sum_{i=1}^3 \sum_{d=14}^{21} n_d \right)_{ungesichert}} \quad (51)$$

Durchzuführende Versuche

Tabelle 8 zeigt die Messläufe der Zellversuche. Vorher wurden Vorversuche durchgeführt, um die Methodik zu etablieren, unter anderem mit Entwurf 1 mit 1,0 mm Spalt. Diese Vorversuche haben jedoch zu keiner feststellbaren Schädigung der Zellen geführt. Ab Z1 werden alle Versuche mit Entwurf 2 des Scherapparats durchgeführt, bei dem durch einen vergrößerten Innenzylinder der Spalt auf 0,5 mm verkleinert ist und damit die erreichbare Scherrate bei gleicher Drehzahl verdoppelt wird. Hiermit ist bereits optisch feststellbar, ob eine Zellschädigung stattfindet, da die Zellsuspension bei starker Scherung denaturiert. Es wird das Protokoll „aggregated cells - viability and cell count“ des NC-200 verwendet, welches zwei Via1-Kassetten für die Messung einer Probe nutzt, nämlich eine für die Event- und Viabilitätsbestimmung mit dem Zellfarbstoff DAPI und eine weitere Kassette ausschließlich für die Ermittlung der Durchmesser-Verteilung mit Acridinorange.

Tabelle 8: Übersicht über die Zellversuche im Scherapparat

Ver- such	Dreh- zahl	Einwirk- dauer	Spalt- breite	Medium (Dichte Viskosität)		Outer Cylinder Reynolds Number Re_o	Globale Scher- rate	Scher- spannung	Regime
	[U/min]	[min]	[mm]	[g/cm ³]	[mPa*s]		[1/s]	[Pa]	
Z1	1800	15	0,5	PBS-LSM	1,05 2,1	990	7917	16,6	laminar
	2400	9	0,5	PBS-LSM	1,05 2,1	1320	10556	22,2	laminar/turb.
	2400	9	0,5	PBS-LSM	1,05 2,1	1320	10556	22,2	laminar
	1800	24	0,5	PBS-LSM	1,05 2,1	990	7917	16,6	laminar
	2100	30	0,5	PBS-LSM	1,05 2,1	1155	9236	19,4	laminar
Z2	1200	18	0,5	PBS-Ficoll	1,05 6,6	210	5278	34,9	laminar
	1800	24	0,5	PBS-Ficoll	1,05 6,6	315	7917	52,3	laminar
	2400	9	0,5	PBS-Ficoll	1,05 6,6	420	10556	69,7	laminar
	2100	30	0,5	PBS-Ficoll	1,05 6,6	367	9236	61,0	laminar
	3000	30	0,5	PBS-Ficoll	1,05 6,6	525	13195	87,1	laminar

4 Ergebnisse und Diskussion

In diesem Kapitel werden sämtliche Ergebnisse dieser Arbeit vorgestellt. Dafür soll in Abschnitt 4.1 zunächst die entsprechend dem in Abschnitt 3.2 vorgestellten Entwurf umgesetzte Apparatur hinsichtlich der an sie gestellten Anforderungen bewertet werden. Um Trägerflüssigkeiten für die Zellsuspension anzumischen, in denen die Zellen nicht absinken und sedimentieren, sondern homogen in der Zellsuspension verteilt bleiben, werden in Abschnitt 4.2 die Ergebnisse zur Bestimmung der Massendichte mesenchymaler Stammzellen vorgestellt und Flüssigkeiten mit den Zellen entsprechender Dichte angemischt. In Abschnitt 4.3 werden die Ergebnisse zur experimentellen Ermittlung des laminar-turbulenten Umschlags mit Hilfe der Strömungssichtbarmachung am durchsichtigen Acrylglas-Außenzylinder sowie mit Hilfe der Bestimmung des Drehmoments über die Motorstromaufnahme des Antriebsmotors vorgestellt und verglichen. In Abschnitt 4.4 werden zusätzlich Ergebnisse zur Bestimmung des laminar-turbulenten Umschlags mit Hilfe numerischer Strömungssimulationen vorgestellt. Mit Hilfe dieser Strömungssimulationen wurden zusätzlich die Verläufe der Geschwindigkeit und der Scherrate im Schervolumen bestimmt. Diese Ergebnisse werden in Abschnitt 4.5 besprochen. In Abschnitt 4.6 werden kurz die Ergebnisse zur Untersuchung der Erwärmung der Flüssigkeit durch die Scherung erläutert, bevor in Abschnitt 4.7 schließlich die Ergebnisse zur Scherbelastbarkeit mesenchymaler Stammzellen, für die der Scherapparat entwickelt wurde, vorgestellt werden.

4.1 Scherapparat

4.1.1 Konstruktive Umsetzung

Wesentliche Baugruppe des Scherapparats ist die Couette-Einheit (siehe Abbildung 12), bestehend aus einem über eine vertikale Stange an einem horizontalen Ausleger fest aufgehängten Innenzylinder und dem von unten angetriebenen und oben über ein Lager zwischen der fixen Stange und dem mitdrehenden Deckel befestigten/aufgehängten Außenzylinder. Deckel und Außenzylinder sind mit Hilfe einer H7/h6-Passung am Spalt koaxial gelagert und durch drei Schrauben an den Stirnseiten von Deckel und Außenzylinder verbunden, sodass der von unten angetriebene Außenzylinder den Deckel mitdreht.

Zwischen Außen- und Innenzylinder befindet sich der Messspalt, welcher einen Kompromiss aus Messvolumen (Zellsuspension), einstellbarer Reynolds-Zahl und einstellbarer Scherrate darstellt.

Der Innenzylinder wurde aus PEEK (Polyetheretherketon) und der Außenzylinder aus PMMA (Acrylglas) durch Drehen hergestellt, um höchste Oberflächengüten zu gewährleisten. Während der Innenzylinder als Vollzylinder ausgelegt ist und lediglich von oben eine Bohrung mit Gewindeeinsatz für die Aufhängung erhält, wird der angetriebene Außenzylinder als Hohlzylinder („Topf“) ausgelegt.

Am unteren Ende des Außenzylinders befindet sich ein Wellenabsatz zum Antrieb durch einen Elektromotor, der über eine Miniaturbalgkupplung (R+W, Deutschland) realisiert ist. Die Kupplung erlaubt neben der bloßen Verbindung von Antriebswelle und Wellenabsatz des Außenzylinders außerdem einen Ausgleich von axialem und radialem Wellenversatz. Die Kupplung ermöglicht die relativ einfache Befestigung von Antriebsmotor und Couette-System an unterschiedlichen Punkten des Gehäuses.

Der Antrieb besteht aus dem bürstenlosen DC-Servomotor Faulhaber 2057S 024B (Dr. Fritz Faulhaber GmbH & Co. KG, Deutschland), nachfolgend „Antriebsmotor“, mit einer Nennspannung von 24V, einer Leerlaufdrehzahl von 26500 U/min und einer Drehmomentkonstante $k_M=8,56$ mNm/A. Angesteuert wird der Antriebsmotor von der Motorsteuerung Faulhaber Motion Controller V2.5 MCBL3006S-RS mit RS232-Schnittstelle, nachfolgend „Motorsteuerung“, sodass die Regelparameter des Motors komfortabel mit der PC-Software Faulhaber Motion Manager 6, nachfolgend „Faulhaber-Steuerungssoftware“, eingestellt werden können. Mit Hilfe eines RS232-USB-Wandlers (Prolific Technology Inc., Republik China (Taiwan)) wurde die Motorsteuerung an einen Windows-PC mit USB-Schnittstelle angeschlossen.

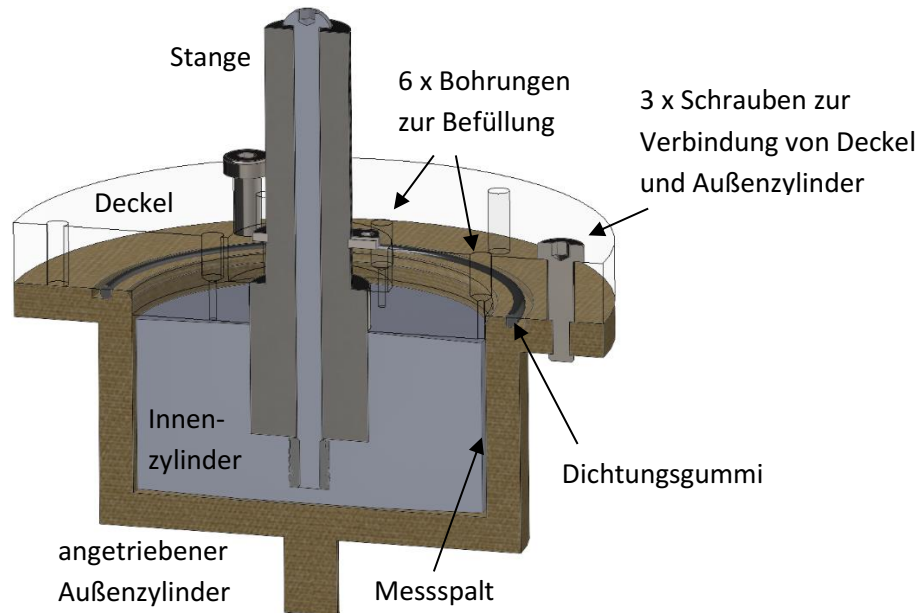


Abbildung 12: CAD-Modell der Couette-Baugruppe mit Außenzylinder aus Acrylglas, Innenzylinder aus PEEK und Deckel aus Acrylglas. Messspalt und Kegel-Platte-Bereich können durch die sechs 0,8 mm-Bohrungen mit M3-Verschluß direkt durch 0,4 mm x 20mm-Kanülen (B.Braun) befüllt werden

Weiterhin erlaubt die Faulhaber-Steuerungssoftware die Live-Anzeige und die Protokollierung verschiedener Größen, wie der Motordrehzahl und der Motorstromaufnahme. Mit Hilfe der Motorstromaufnahme und der Drehmomentkonstante des Antriebsmotors ($k_{M,2057S\ 024B} = 8,56$ mNm/A) kann das jeweilige Drehmoment errechnet werden. Da der Innenzylinder feststeht, muss der Motor je nach Flüssigkeit im Schervolumen und entsprechender Massendichte und Viskosität ein bestimmtes Drehmoment aufbringen, um den Außenzylinder gegen den Innenzylinder zu drehen. Dieses Drehmoment wird über das Fluid übertragen und führt zur Beschleunigung des Fluids in Umfangsrichtung. Beim laminar-turbulenten Umschlag erhöht sich dieses bei außen angetriebenem Zylinder sprunghaft.

Der Antriebsmotor Faulhaber 2057S 024B hat eine Spitzenstrombegrenzung von 6210 mA und eine Dauerstrombegrenzung von 2070 mA, die damit auch das Drehmoment begrenzen. Oberhalb der Dauerstrombegrenzung bekommt der Motor thermische Probleme, da durch zu große Ströme die Wicklungen überhitzen. Zwar wird die Wärme in gewissem Maße von den Motorwicklungen ins Motorgehäuse geleitet und von dort an die Umgebung abgegeben, kann sie von dort jedoch nicht schnell genug abgeführt werden, überhitzt der Motor und insbesondere die Wicklungen. Bei Überschreiten der Dauerstrombegrenzung ist eine verbesserte passive Kühlung (Kühlkörper) und/oder eine aktive Lüftung

nötig, doch auch dann ist eine Erhöhung der Dauerstrombegrenzung nur in geringem Maße möglich. Bei Temperaturen von über 125 °C wird der Motor laut Datenblatt zerstört.

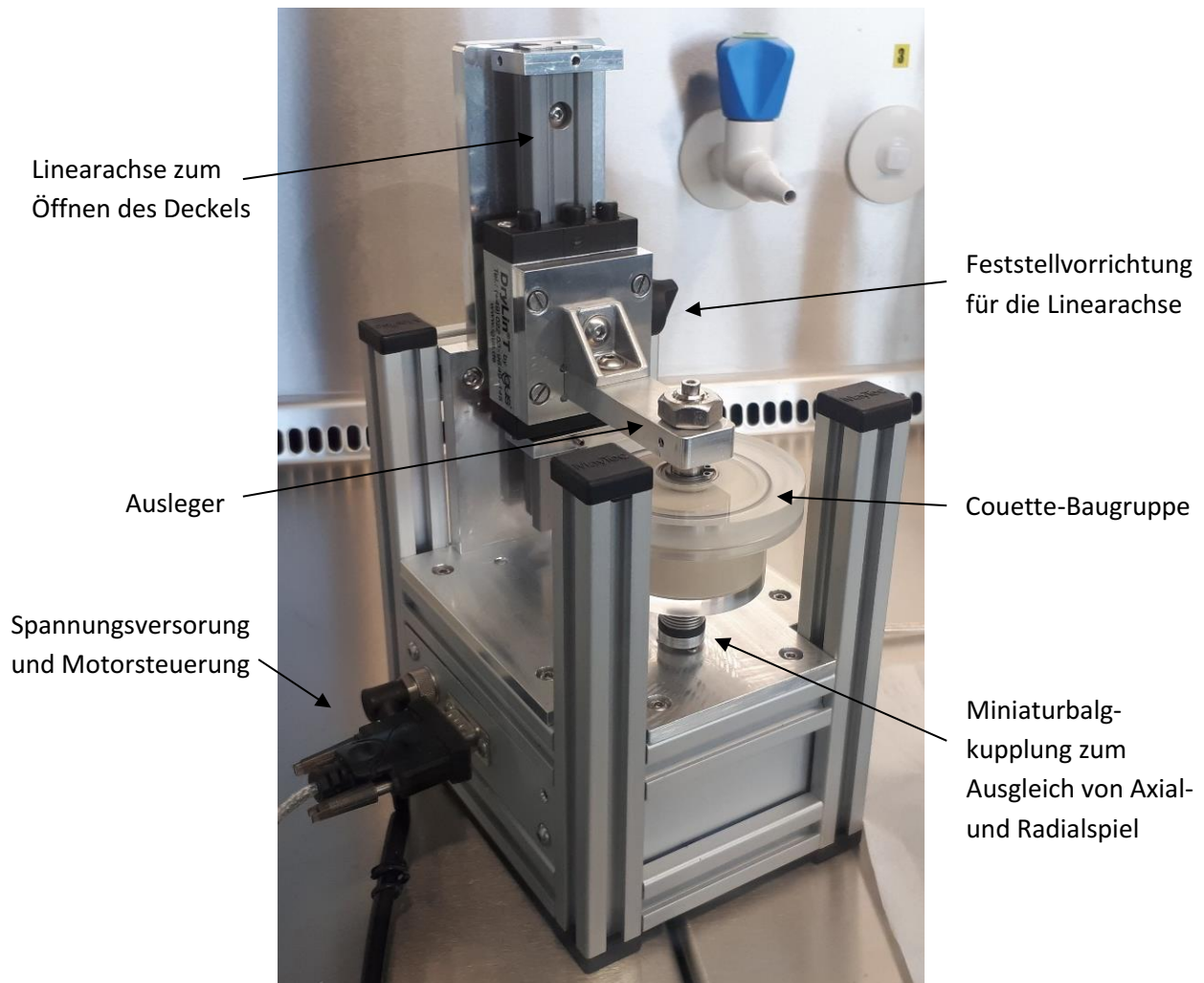


Abbildung 13: Scherapparat Entwurf 2 mit der in Abbildung 12 bereits abgebildeten Couette-Baugruppe sowie der Linearführung mit Handklemmung und Ausleger und den Anschlüssen. Die Apparatur passt bequem in eine Sterilbank (Laminar Flow Box) und wird per PC gesteuert. Die Apparatur ist in der Abbildung in Betrieb, sodass die Bohrungen zur Befüllung und zur Befestigung des Deckels nicht erkennbar sind.

Die Spannungsversorgung der Motorsteuerung erfolgt über einen 2-poligen Rundstecker und die Kommunikation mit der Motorsteuerung über einen 9-poligen DIN-Sub (siehe Abbildung 13), an den ein RS232-USB-Wandler direkt angeschlossen werden kann.

Die Couette-Baugruppe bzw. bei gelöstem Deckel der Deckel mit Innenzylinder kann mit einer Linearführung inklusive Handklemmung (IGUS, Deutschland) vertikal unterschiedlich positioniert werden (siehe Abbildung 13). Die gesamte Couette-Baugruppe ist an dem an der Linearführung befestigten Ausleger angehängt und sollte nicht zu sehr in die Miniaturbalgkupplung an der Unterseite gedrückt werden, um ein Verklemmen zu vermeiden. Die Miniaturbalgkupplung dient hauptsächlich zum Antrieb, gleicht aber auch das Axial- und Radialspiel zwischen Couette-Baugruppe und Antriebswelle aus.

Das Gestell besteht aus Maytec 20x20 mm-Aluminiumprofil (MayTec GmbH, Deutschland) und wird an allen Seiten zur Abdeckung durch Aluminiumplatten ergänzt.

4.1.2 Betrieb der Scherapparatur

An dieser Stelle wird der Betrieb des Scherapparats vorgestellt, zunächst grundsätzlich für nicht-zellbeladene Flüssigkeiten. Diese Vorgehensweise wurde angewendet in den experimentellen Untersuchungen zum laminar-turbulenten Umschlag mit Hilfe der Strömungssichtbarmachung und zur Messung des Drehmoments gemäß Abschnitt 3.4 sowie zur Messung der Probenerwärmung aufgrund der Scherung nach Abschnitt 3.6. Für die Zellversuche ist ein etwas aufwändigeres Protokoll, insbesondere in der Probenvorbereitung, notwendig, welches in Abschnitt 3.7 detailliert und vollumfänglich dargestellt ist.

Zusammenbau

Um die komplett zerlegte Couette-Baugruppe für einen neuen Versuchslauf zusammensetzen, wird der Deckel von unten bis an den Anschlag auf das Kugellager geschoben (siehe Abbildung 12), der angetriebene Außenzylinder in die Miniaturbalgkupplung eingesetzt und der Dichtungsgummi in die dafür vorgesehene Nut eingelegt. Die M3x10 mm-Stahlschrauben zur Verbindung von Deckel und Außenzylinder können bereits in die drei $\varnothing 3,2$ mm-Bohrungen, also in die drei Bohrungen ohne Gewinde der sechs Äußeren, eingehängt werden.

Befüllung

Zunächst wird der angetriebene Außenzylinder mit 2,5ml der Trägerlösung in der Hand vorgefüllt und anschließend durch Schwenken der Boden des angetriebenen Außenzylinders komplett benetzt. Dies ist nötig, da aufgrund der kleinen Abmessungen in den Spalten starke Kapillarkräfte wirken und so die Flüssigkeit daran gehindert wird, nach unten zu laufen und den Messspalt und den Kegel-Platte-Bereich am Boden zu befüllen. Der Flüssigkeitsstand wäre nach Absenken des Innenzylinders nun etwa auf Höhe des oberen Kegel-Platte-Bereichs und der Messspalt entsprechend völlig mit Zellsuspension befüllt.

Die Handklemmung kann nun gelöst werden und der Ausleger mit dem feststehenden Innenzylinder unter leichtem Ankippen des Scherapparats abgesenkt werden, bis die Schrauben locker auf den drei dafür vorgesehenen Gewindebohrungen aufliegen sowie der Deckel an der Passung locker auf dem Außenzylinder aufliegt. Da der absolut koaxiale Sitz von Innen- zu Außenzylinder und der damit konstante 0,5-mm-Spalt über eine H7/h6-Passung zwischen Deckel und Außenzylinder realisiert ist, wird ein Verschließen des Deckels am sinnvollsten durch ein abwechselndes Anziehen (Eindrehen) der drei M3x10 mm-Schrauben mit einem 2,0mm-Inbus realisiert. Die sechs M3-Polyamidschrauben bleiben zu diesem Zeitpunkt noch offen.

Nun kann der noch ungefüllte Teil des Messspalts bzw. des oberen Kegel-Platte-Bereichs über die sechs noch offenen Bohrungen, drei davon über dem Messspalt und drei nahe des Lagers, mit einer 0,4 mm-Kanüle befüllt werden. Insgesamt passen circa 3,0 ml Flüssigkeit in das Schervolumen. Es ist sinnvoll, für die Entlüftung alle sechs Bohrungen offen zu lassen, bis sie sich mit Trägerlösung füllen. Sofern an einer der noch offenen Bohrungen bereits Flüssigkeit ankommt und der Bereich darum voll mit Fluid befüllt ist und etwas Flüssigkeit in der Bohrung steht, kann dort die M3-Polyamidschraube eingeschraubt werden und die herausquellende Flüssigkeit weggewischt werden. Bei Luftblasen nahe einer der sechs Bohrungen kann die Flüssigkeit mit der Kanüle durchstoßen werden und die Luft abgesaugt werden. Dabei muss

darauf geachtet werden, dass in den anderen Bohrungen genug Flüssigkeit steht, da durch den sinkenden Flüssigkeitsspiegel beim Absaugen einer Luftblase an der einen Bohrung an den anderen Bohrungen sonst Luft eingezogen wird. Durch ein Verdrehen des Deckels zum Innenzylinder können weitere eventuelle Luftbläschen erreicht werden.

Öffnen des Deckels nach einer Messung

Es bietet sich an, für die zu demontierenden Teile, insbesondere nach einem Zellversuch, ein Tablett oder Gefäß bereitzulegen.

Um den Deckel nach einer Messung wieder zu öffnen, können die sechs M3x4 mm-Polyamid-Schrauben mit einem Kreuzschlitz-Schraubendreher aus den Bohrungen im Deckel gelöst und entfernt werden. Anschließend kann die Handklemmung gelöst und die gesamte Couette-Baugruppe ein paar Millimeter nach oben gefahren werden, um sie leicht aus der Miniaturbalgkupplung anzuheben und so den Deckel ablösen zu können. Danach können die drei M3x10 mm-Stahlschrauben mit dem 2,0 mm-Inbus aus den drei $\varnothing 3,2$ mm-Bohrungen herausgedreht werden und in die drei nebenliegenden Gewindebohrungen geschraubt werden, um so den Deckel vom angetriebenen Außenzylinder abzudrücken. Der lose Außenzylinder sollte dabei vorsichtig in die Miniaturbalgkupplung rutschen, um keine Flüssigkeit oder Zellsuspension zu verschütten. Der Deckel mit dem Innenzylinder kann nun über den Ausleger komplett hochgefahren werden, um die Zellprobe zu entnehmen und die Baugruppe zu zerlegen und zu reinigen.

Reinigung nach einer Messung

Nach einer Messung ohne Zellen braucht die zerlegte Couette-Baugruppe, also der Deckel, die sechs M3x4 mm-Kunststoffschrauben, die drei M3x12 mm-Stahlschrauben, der Dichtungsgummi, der Innenzylinder, die vertikale Stange zur Befestigung des Innenzylinders, die M3x55 mm Stahlschraube und der Außenzylinder mit montiertem Kupplungseinsatz und Madenschraube lediglich unter fließendem Wasser abgespült werden. Jedoch sollte bei Verwendung von klebrigen Trägerlösungen zumindest der Deckel mit seinen 0,8 mm-Bohrungen zeitnah nach Versuchsende gewässert werden. Anschließend sollten diese Teile nochmals mit Ethanol (70%, vergällt) abgewischt und getrocknet werden.

Bei Zellversuchen sollten alle Teile zunächst für 30 Minuten in 2,0 %iger Lysoformin-Lösung eingelegt und anschließend, wie oben, mit Leitungswasser abgespült und nach dem Trocknen nochmals mit Ethanol (70%, vergällt) abgewischt und wiederum getrocknet werden.

Die anderen Teile des Scherapparats, die Kontakt mit Zellsuspension oder Trägerlösung gehabt haben bzw. eventuell Spritzer von der Flüssigkeit oder der Zellsuspension abbekommen haben, aber aufwendig zu demontieren sind, wie das Kugellager, der untere Teil der Miniaturbalgkupplung und die Plattform, sollten mit vergälltem Ethanol (70%) abgewischt werden.

Liegen alle benötigten Teile gereinigt und getrocknet vor, kann die Couette-Baugruppe wieder zusammengesetzt und befüllt werden.

Steuerung

Die Steuerung des Motors kann grundsätzlich über die mitgelieferte Faulhaber-Steuerungssoftware erfolgen. Diese Software ist gut geeignet, den Motor erstmalig in Betrieb zu nehmen. Da die Steuerung

des Motors, also die Vorgabe von Drehzahlen, allerdings auf Textbefehlen basiert und die Live-Analyse nur Rohdaten anzeigen kann, wurde ein MATLAB-Skript mit grafischer Oberfläche (GUI) entwickelt, welches genau diese Unzulänglichkeiten behebt.

In der Faulhaber-Steuerungssoftware muss nach dem Start zunächst die Motorsteuerung *Faulhaber Motion Controller V2.5 (MCBL3006S-RS)* gewählt werden. Mit Hilfe des Assistenten "Motor auswählen" unter „Inbetriebnahme“ können die Motor-Parameter wie das Lastmoment vorgegeben werden, sodass daraus ein Vorschlag für die Reglerparameter errechnet wird. Weiterhin können beim ersten Anschluss die im Antriebsmotor zur Drehzahlregelung verbauten Hall-Sensoren für eine höhere Genauigkeit abgeglichen werden.

Während in der Faulhaber-Steuerungssoftware die Einstellung des Motors mit Hilfe des Assistenten sehr einfach gestaltet ist, erfolgt die eigentliche Motorsteuerung lediglich über Textbefehle im Terminal, siehe Abbildung 14 im unteren Bereich. Eingeschaltet wird der Motor mit dem Befehl „en“ (Enable). Drehzahlen, die angefahren werden sollen, werden mit dem Befehl „v120“ (Velocity) für beispielsweise 120 U/min eingestellt. Über die Beschleunigung (AC) unter den Reglerparametern wird die Rampe für das Hochfahren bis zur Zieldrehzahl bestimmt. Der Motor kann dann für die gewünschte Dauer mit der Zieldrehzahl betrieben werden, um den Einfluss auf die Scherbelastbarkeit zu evaluieren. Nach dem Versuch wird der Motor mit „di“ (=Disable) deaktiviert. Es können jedoch einfache Makros mit Drehzahlprofilen vorgefertigt und über die Software gestartet werden (Abbildung 14, Fenster „Makros“ links).

Messwerte wie die Ist-Motordrehzahl oder die Motorstromaufnahme können im Fenster „Grafische Analyse“ (Abbildung 14, rechts) verfolgt werden, rollen aber durchs Bild. Ein plötzlicher Anstieg der Motorstromaufnahme und damit ein möglicher laminar-turbulenter Umschlag ist somit nur kurz sichtbar und durch die starken Schwankungen sehr schwer zu identifizieren. Der Faulhaber-Steuerungssoftware fehlt nämlich weiterhin die Möglichkeit, den gleitenden Durchschnitt der Rohmesswerte zu berechnen und direkt ausgeben zu können, um die Vielzahl an Daten durch insbesondere die starken Schwankungen des Motorstroms auf das Notwendigste zu reduzieren. Erst mit Hilfe des gleitenden Durchschnitts lässt sich der laminar-turbulente Umschlag optisch erkennen bzw. lassen sich weitere Berechnungen durchführen.

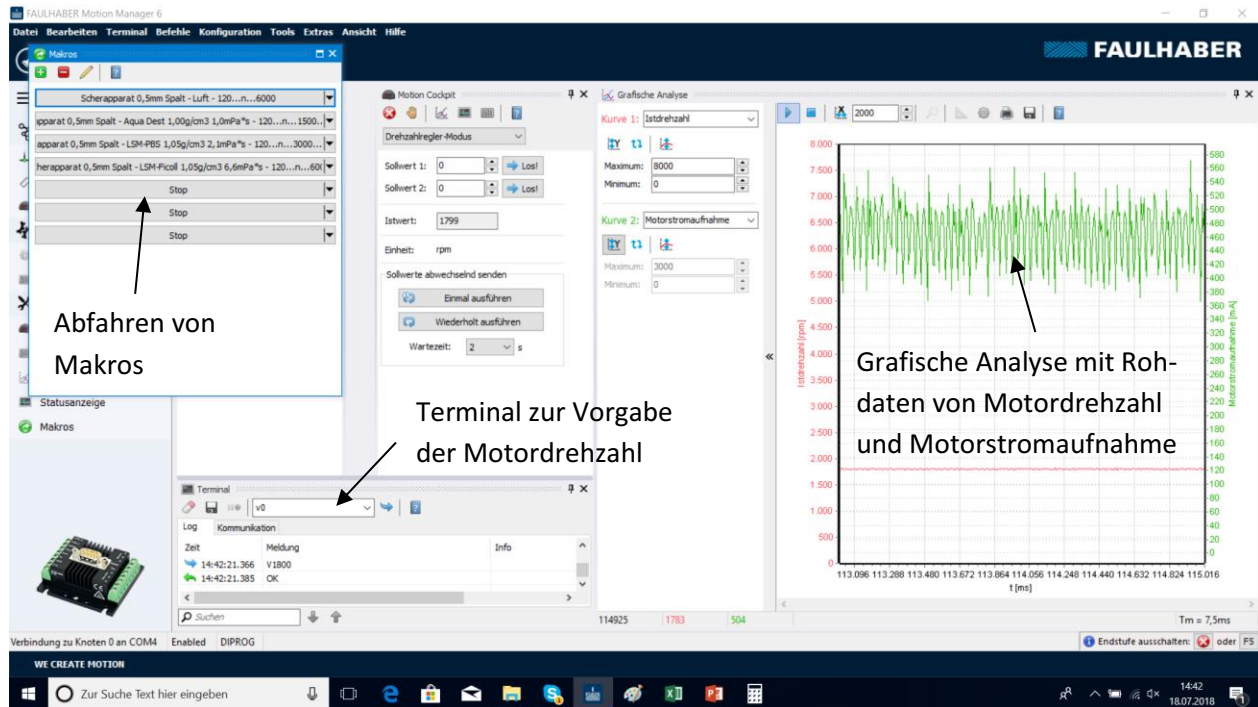


Abbildung 14: Faulhaber-Steuerungssoftware; im linken Teil des Programms sind die für die Versuche vorher abgespeicherten Fahrprofile aufgelistet, die mit einem Klick gestartet werden können. Unten ist das Terminal, also die Konsole zur Steuerung der Drehzahl mit Textkommandos. Rechts befindet sich die grafische Analyse mit den Rohdaten von Ist-Motordrehzahl (rot) und Motorstromaufnahme (grün)

Für eine einfachere Einstellung der Drehzahl und eine umfangreichere und detailliertere Live-Analyse von Ist-Drehzahl und Motorstromaufnahme wurde ein MATLAB-Skript (siehe Abbildung 15) entwickelt. Die Drehzahl kann bequem über einen grafischen Drehzahlregler vorgegeben werden. Für die Live-Analyse stehen dem Nutzer, wie bereits in der Faulhaber-Steuerungssoftware, die Live-Rohdaten von Motordrehzahl und Motorstromaufnahme zur Verfügung. Diese rollen jeweils in einem Fenster von 200 Messpunkten durch das Bild (Abbildung 15, oben links, blaue Kurven). Zusätzlich werden jeweils die zeitgemittelten Kurven (gleitender Mittelwert, orangene Kurven) über die Rohdaten gelegt. Oben rechts ist weiterhin zusätzlich der komplette Verlauf der gleitend gemittelten Motordrehzahl und Motorstromaufnahme von Versuchsstart an geplottet. Hieraus lässt sich ein laminar-turbulenter Umschlag, wenn er nicht direkt während einer Beschleunigungsphase mit steigender Motordrehzahl und deshalb bereits steigender Motorstromaufnahme stattfindet, am einfachsten erkennen, da bei einem laminar-turbulenten Umschlag gleichzeitig die Motordrehzahl weitestgehend konstant bleibt.

Um den laminar-turbulenten Umschlag auch erkennen zu können, falls er direkt während einer Beschleunigungsphase stattfinden sollte, wird zusätzlich das in Abschnitt 3.4.2 näher beschriebene Torque Scaling im Plot unten rechts (Abbildung 15, unten rechts) abgebildet. So lässt sich mit Hilfe des Anstiegs der Drehzahl-Drehmoment-Kennlinie erkennen, ob die Strömung noch laminar oder bereits turbulent ist. Ab dem Punkt des laminar-turbulenten Umschlages steigt das Drehmoment steiler an. Weiterhin lässt sich die Hysterese bei unterkritischer Transition, also dem Turbulentbleiben der Strömung mit Absenken der Dreh- bzw. Reynolds-Zahl unter die Grenze, bei der die Strömung einst von laminar nach turbulent umgeschlagen ist, in diesem Plot darstellen. Bei Hysterese bewegt sich die Drehzahl-Drehmoment-Kurve bei gleicher Drehzahl auf höherem Niveau und fällt dann zurück auf das Niveau bei laminarer Strömung,

wenn die Störungen in der Strömung nicht mehr stark genug sind und die Strömung deshalb relaminarisiert.

Die Reglerparameter und die Drehzahlprofile werden momentan noch im Skript selbst per Variable vorgegeben, können in der grafischen Benutzeroberfläche aber einfach integriert (die für das Drehzahlprofil vorgesehene Tabelle ist bereits integriert) und dort vom Skript ausgelesen werden. Wird das MATLAB-Skript vom Anwender vorgezogen, empfiehlt sich die Nutzung der Faulhaber-Steuerungssoftware für den jeweiligen Erstbetrieb eines Motors. So können die Reglerparameter für eine anschließende Übernahme in das MATLAB-Skript bequem errechnet werden sowie die Hallsensoren abgeglichen werden und in die Motorsteuerung geschrieben werden.

Drehzahl (oben) und Motorstromaufnahme (unten) in Form der Rohdaten (blau) und des gleitenden Mittelwertes (rot) – durch das Bild rollend

Drehzahl (blau) und Motorstromaufnahme (rot) im gleitenden Mittelwert über die gesamte Messung

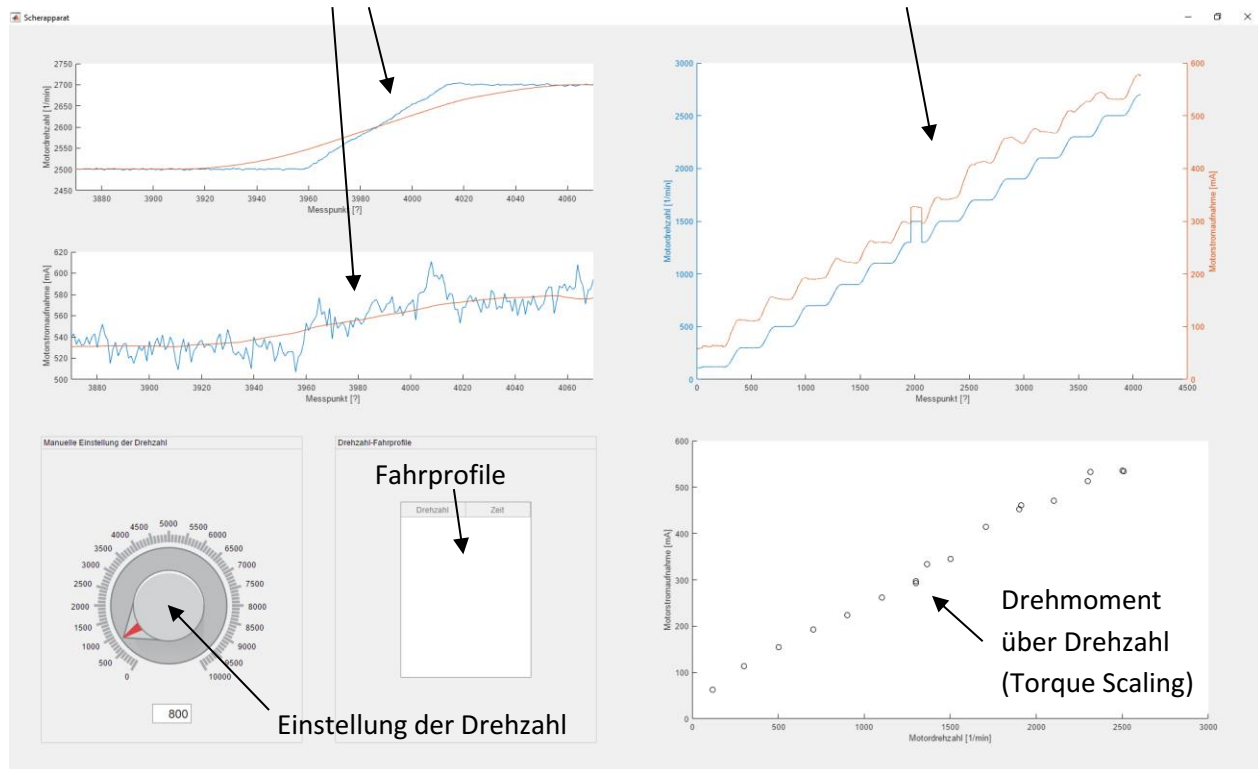


Abbildung 15: Grafische Benutzeroberfläche des MATLAB-Skripts zur Steuerung des Scherapparats und zur Live-Auswertung der Messdaten. Insbesondere die beiden Plots oben rechts und unten rechts sollen es ermöglichen, festzustellen, ob die Strömung im Scherapparat gerade laminar oder turbulent ist.

Experimentelle Voruntersuchungen zu den Reglerparametern

Um den Motor über einen möglichst großen Drehzahlbereich mit möglichst geringen Drehzahlschwankungen um den Sollwert zu betreiben, wurde eine Voruntersuchung mit ein paar Probeläufen durchgeführt, bei der ein geeigneter Satz Reglerparameter gefunden wurde. Für Wasser bzw. wässrige Lösungen mit Viskositäten von etwa $1 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ bei gleichzeitig geringen Drehzahlen (wie 120 U/min) haben die Reglerparameter einen deutlich größeren Einfluss auf die Drehzahlschwankungen

wie für höherviskose Flüssigkeiten. Für die eigentlichen Untersuchungen sind diese niedrigen Drehzahlbereiche aber sekundär. Bei Drehzahlen von 1200 bis 3000 U/min schwankt die Ist-Drehzahl zumeist um ca. 6 U/min um den Sollwert, unabhängig von den eingestellten Reglerparametern, sodass die Drehzahlschwankungen sich im Bereich von 0,5 % (1200 U/min) bis 0,2 % (3000 U/min) bewegen und zu vernachlässigen sind. Weiterhin läuft der Motor bei Flüssigkeiten mit etwas höheren Viskositäten ($\eta \geq 6 \text{ mPa}\cdot\text{s}$) über den gesamten Drehzahlbereich bereits deutlich ruhiger.

Darüber hinaus reagiert die Motorstromaufnahme sensibel auf die verwendeten Reglerparameter, ohne dass dies die Drehzahlschwankungen beeinflusst. Beispielsweise sorgt eine Reglerverstärkung $\text{POR}=10$ über den gesamten Drehzahlbereich für eine deutlich geringere Motorstromaufnahme als eine Reglerverstärkung $\text{POR}=18$. Der Motor läuft dabei auch deutlich leiser und ruhiger und es konnten höhere Drehzahlen angefahren werden, bevor die Dauerstrombegrenzung des Antriebsmotors erreicht war. Weiterhin verändert ein Auseinander- und Wiederausbauen des Scherapparats bereits die Motorstromaufnahme leicht, einerseits durch ein unterschiedliches Montieren von Deckel und Außenzylinder über die 3,2 mm-Bohrungen im 120° -Winkel und andererseits durch ein zu starkes Anziehen des Deckels.

In Tabelle 9 ist ein Satz Reglerparameter angegeben, mit dem bei den untersuchten Flüssigkeiten über den gesamten Drehzahlbereich die Motordrehzahl wenig schwankt und auch die Motorstromaufnahme gering ist und somit höhere Drehzahlen angefahren werden können.

Tabelle 9: Geeignete Reglerparameter für den Antriebsmotor mit geringer Drehzahlschwankung und ruhigem Lauf bei niedriger Motorstromaufnahme

Reglerparameter für den Antriebsmotor <i>Faulhaber 2057S 024B</i>	Wert
Reglerverstärkung (POR)	10
Reglerintegralanteil (I)	4
Lagereglerverstärkung (PP)	1
D-Anteil Lageregler (PD)	1
Spitzenstrombegrenzung (LPC)	6210 mA
Dauerstrombegrenzung (LCC)	2070 mA
Beschleunigung (AC)	1
Bremsrampe (DEC)	5
Maximaldrehzahl (SP)	10000 U/min

4.1.3 Bewertung des Scherapparats

Motorleistung

Die Leistung des Antriebsmotors ist ausreichend für die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten experimentellen Untersuchungen zum laminar-turbulenten Umschlag sowie für die bisherigen Zellversuche. Für destilliertes Wasser und PBS-LSM wird das Drehmoment des Motors nicht ausgeschöpft, da die Strömung vorher von laminar nach turbulent umschlägt. Sowohl mit destilliertem Wasser als auch mit PBS-LSM konnten Drehzahlen von 8000 U/min erreicht werden, bevor die Dauerstrombegrenzung des Antriebsmotors erreicht wird. Bei destilliertem Wasser schlägt die Strömung jedoch bereits bei 1500 U/min von laminar nach turbulent um, bei PBS-LSM bereits bei etwas unter 3000 U/min, sodass auch

für mögliche Untersuchungen des Einflusses turbulenter Strömungen auf die Zellvitalität der Antriebsmotor noch nicht durch einen stärkeren Motor ersetzt werden muss. Für PBS-Ficoll konnte im Rahmen der Leistungsgrenze, also der Dauerstrombegrenzung von 2070 mA, kein laminar-turbulenter Umschlag beobachtet werden.

Rundlauf, Geräuschentwicklung, Vibrationen

Der Rundlauf über die H7/h6-Passung ist zufriedenstellend und muss zunächst nicht weiter verbessert werden. In einer früheren Version mit großer Spielpassung, bei der der Rundlauf lediglich über die drei M3x10 mm-Stahlschrauben realisiert war, war Exzentrizität im Rundlauf dagegen deutlich sichtbar.

Die entstehenden Geräusche sind bei laminarer Strömung kaum wahrnehmbar. Bei turbulenter Strömung wird der Scherapparat etwas lauter, jedoch nicht so laut, dass er andere Personen im Labor stören oder Gehörschutz erfordern würde.

Der Scherapparat selbst vibriert nicht, wenn er auf fester Unterlage, wie beispielsweise einem normalen Schreibtisch oder einem Labortisch, steht. Unter der Sterilbank sollte darauf geachtet werden, dass der Scherapparat nicht in der Mitte eines der dünnen Bleche steht, die die Arbeitsfläche der Sterilbank bilden, sondern nahe oder über einem der Träger, auf denen die Bleche der Sterilbank aufliegen, da das Blech durch die Rotation der Couette-Baugruppe sonst eventuell anfängt zu vibrieren.

Handhabung

Die blasenfreie Befüllung des Schervolumens mit der Flüssigkeit bzw. Zellsuspension ist zunächst anspruchsvoll, ist aber trainierbar und dauert danach etwa fünf Minuten. Der durchsichtige Acrylglas-Außenzylinder ist äußerst hilfreich, um Blasen unter dem Innenzylinder zu erkennen und so das Schervolumen unten und im Messspalt luftblasenfrei zu befüllen. Das leichte Ankippen des Scherapparats während des Absenkens von Deckel und Innenzylinder zum blasenfreien Befüllen benötigt beide Hände und erfordert ebenfalls etwas Übung. Zur Vereinfachung könnte in den Scherapparat ein Kippmechanismus integriert werden, der den festen Stand, den der Scherapparat in seiner jetzigen Form bietet, nicht untergräbt. Alternativ kann auch ein Keil im richtigen Winkel gefertigt werden, der während des Absenkens unter den Scherapparat geschoben wird.

Die Nutzung von Aluminium-Standardprofilen ist zwar vorteilhaft, um eine große Zahl an Frästeilen zu vermeiden und damit die Kosten und die Fertigungszeiten zu reduzieren, jedoch kommt es öfters zu Spritzern von Flüssigkeit oder Zellsuspension, beispielsweise, wenn nach dem Befüllen überstehende Tropfen auf dem Deckel nicht weggewischt wurden. Die Reinigung der Nuten, z.B. mit Wattestäbchen, ist sehr aufwändig und insbesondere eingetrocknetes PBS-Ficoll ist nur schwer zu lösen. Für eine Überarbeitung sollte daher auf Aluminiumprofile verzichtet werden und es sollten die höheren Kosten und Fertigungszeiten in Kauf genommen werden.

Sicherheit

Um eine Gefährdung durch sich lösende Teile bei hohen Drehzahlen auszuschließen, wurde ein Käfig aus Aluminiumprofilen und zweifacher Verglasung gebaut. Die erste Verglasung besteht aus einer Polycarbonatscheibe und die zweite aus einer Acrylglascheibe. Dieser Käfig ist sehr stabil, aber auch

schwer. Für den Betrieb unter der Sterilbank kann die dortige Glasscheibe heruntergefahren werden, um den Schutz für den Anwender bei hohen Drehzahlen zu erhöhen. Bis dato haben sich während des Betriebes des Scherapparats keine Teile gelöst.

4.2 Ergebnisse zur Bestimmung der Massendichte mesenchymaler Stammzellen zum Anmischen passender Trägerflüssigkeiten

Bestimmung der Massendichte

Mit Hilfe der neuentwickelten und in Abschnitt 3.3 beschriebenen Methode wurde die Massendichte von adMSC (adipose-derived Mesenchymal Stem Cells) von sechs Individuen bestimmt. Pro Individuum wurden, je nach Menge der vorhandenen Zellen, drei bis vier Proben gemessen und diese gemittelt. Die Mittelwerte der ermittelten Massendichte für jedes Individuum sind in Tabelle 10 aufgelistet.

Tabelle 10: Experimentell ermittelte Massendichte mesenchymaler Stammzellen (adMSC)

Individuum	Massendichte [g/cm ³]
1	1,053
2	1,049
3	1,055
4	1,055
5	1,044
6	1,050
7	1,053
Ø	1,051

Anmischen passender Trägerflüssigkeiten unterschiedlicher Viskosität

Nachdem die Dichte der zu untersuchenden Zellen bestimmt wurde, konnten verschiedene Fluide angemischt werden, die der Massendichte der Zellen entsprechen und unterschiedliche Viskositäten haben. Dabei ist jedoch wichtig, dass sich die Osmolarität der Flüssigkeit im isotonischen Bereich um 270 +/- 20 mOsmol/kg oder höher bewegt und der pH-Wert im neutralen Bereich um 7,4. Angemischt wurde mit D-PBS, LSM 1.077 sowie Ficoll PM 400-Pulver.

Tabelle 11: Trägerflüssigkeiten/Medien für adMSC mit angepasster Dichte

Name Medium	Anteil Komponente 1	Anteil Komponente 2	Massen- dichte [g/cm ³]	Viskosität [mPa*s]	Osmolarität [mOsmol/kg]	pH []
Wasser			0,9982	1,003	0	
D-PBS (PAN)			1,0052	0,998	273	7,41
LSM (Lonza)			1,0768	3,502	284	7,37
Ficoll PM 400 (GE)				-	-	-
PBS-LSM (%v/v)	37,43 %	62,57 %	1,0500	2,100	293	7,42
PBS-Ficoll (%w/v)	100 ml	13,00 g	1,0450	6,600	314	7,45

Die Viskosität von PBS-LSM mit der Dichte 1,05 g/cm³ ist mit 2,1 mPa*s fast doppelt so hoch wie bei destilliertem Wasser. Die Viskosität von PBS-Ficoll bei einer Dichte von 1,045 g/cm³ ist sogar dreimal so hoch wie bei PBS-LSM. Da die Viskosität den Nenner der Reynolds-Zahl bildet und die stabilisierenden Reibungskräfte abbildet, hat dies gravierende Auswirkungen auf die Stabilität der Strömung. Bei gleicher Geometrie im Scherapparat können mit PBS-LSM mutmaßlich doppelt so hohe Drehzahlen gefahren werden, wie mit destilliertem Wasser, bis die Strömung instabil wird, mit PBS-Ficoll sogar mehr als sechsmal so hohe Drehzahlen. Die Osmolarität ist bei PBS-LSM im isotonischen Bereich, bei PBS-Ficoll ist sie etwas höher, jedoch mit 314 mOsmol/kg noch deutlich niedriger als das weit verbreitete Zellmedium DMEM („Dulbecco's Modified Eagle Medium“, Thermo Fisher Scientific, USA) mit etwa 350 mOsmol/kg. Der pH-Wert ist für beide Trägerlösungen im physiologischen Bereich um 7,4.

4.3 Ergebnisse zur Bestimmung des laminar-turbulenten Umschlags mit Hilfe der Strömungssichtbarmachung und der Drehmomentmessung

In diesem Abschnitt werden die Ergebnisse zur experimentellen Ermittlung des laminar-turbulenten Umschlags per Strömungssichtbarmachung sowie per Drehmomentbestimmung des Antriebsmotors vorgestellt und verglichen. Für die späteren Zellversuche soll so sichergestellt werden, dass eine laminare Strömung im Messvolumen vorherrscht und keine turbulente Strömung mit inhomogener und zeitlich variierender Verteilung der Scherrate.

4.3.1 Ergebnisse zur Strömungssichtbarmachung

Abbildung 16 zeigt exemplarisch einen laminar-turbulenten Umschlag mit einer Suspension aus destilliertem Wasser und Mica-Partikeln bei 1500 U/min. Während sich im laminaren Fall die Mica-Partikel in der Mitte des Spaltes sammeln und ein geordnetes Band von Partikeln formen (Abbildung 16, links), werden sie nach dem Umschlag wild umhergewirbelt (Abbildung 16, rechts).

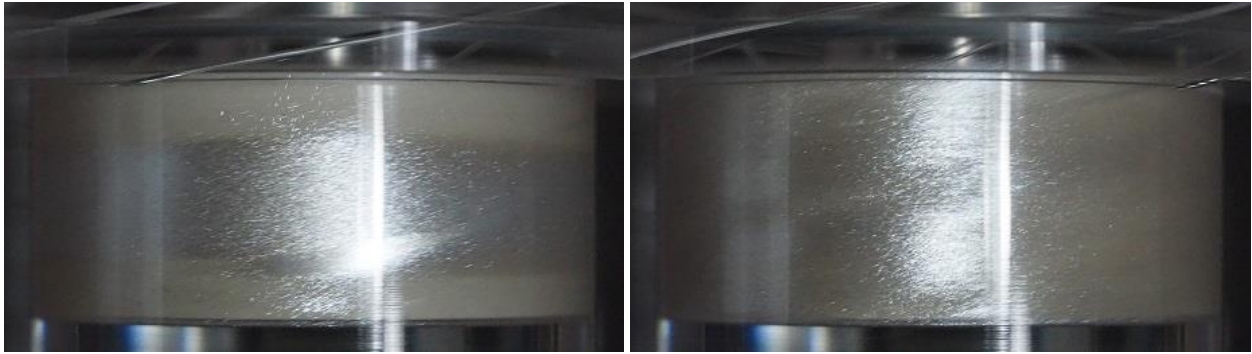


Abbildung 16: Fotoaufnahmen der Messung Aqua-Dest-1 bei 1500 U/min; links vor laminar-turbulentem Umschlag; rechts nach laminar-turbulentem Umschlag; Der laminar-turbulente Umschlag erfolgt bei diesem Messlauf direkt nach Erreichen der Zieldrehzahl von 1500 U/min.

Abbildung 17 zeigt beispielhaft das Verhalten für PBS-LSM versetzt mit Mica-Pulver bei 2700 U/min und 3000 U/min. Bei 2700 U/min bleibt die Strömung zunächst stabil (Abbildung 17, oben links), wird dann aber kurzzeitig instabil (Abbildung 17, oben rechts), um dann wieder zu relaminarisieren (Abbildung 17, Mitte). Wird die Drehzahl weiter erhöht auf 3000 U/min, bleibt die Strömung zunächst weiter laminar (Abbildung 17, unten links) und schlägt dann schnell nach turbulent um (Abbildung 17, unten rechts). Die Instabilität bei 2700 U/min scheint im Verhältnis zu den Reibungskräften nicht stark genug zu sein, um die Strömung dauerhaft nach turbulent umschlagen zu lassen, die Instabilität bei 3000 U/min aber schon.

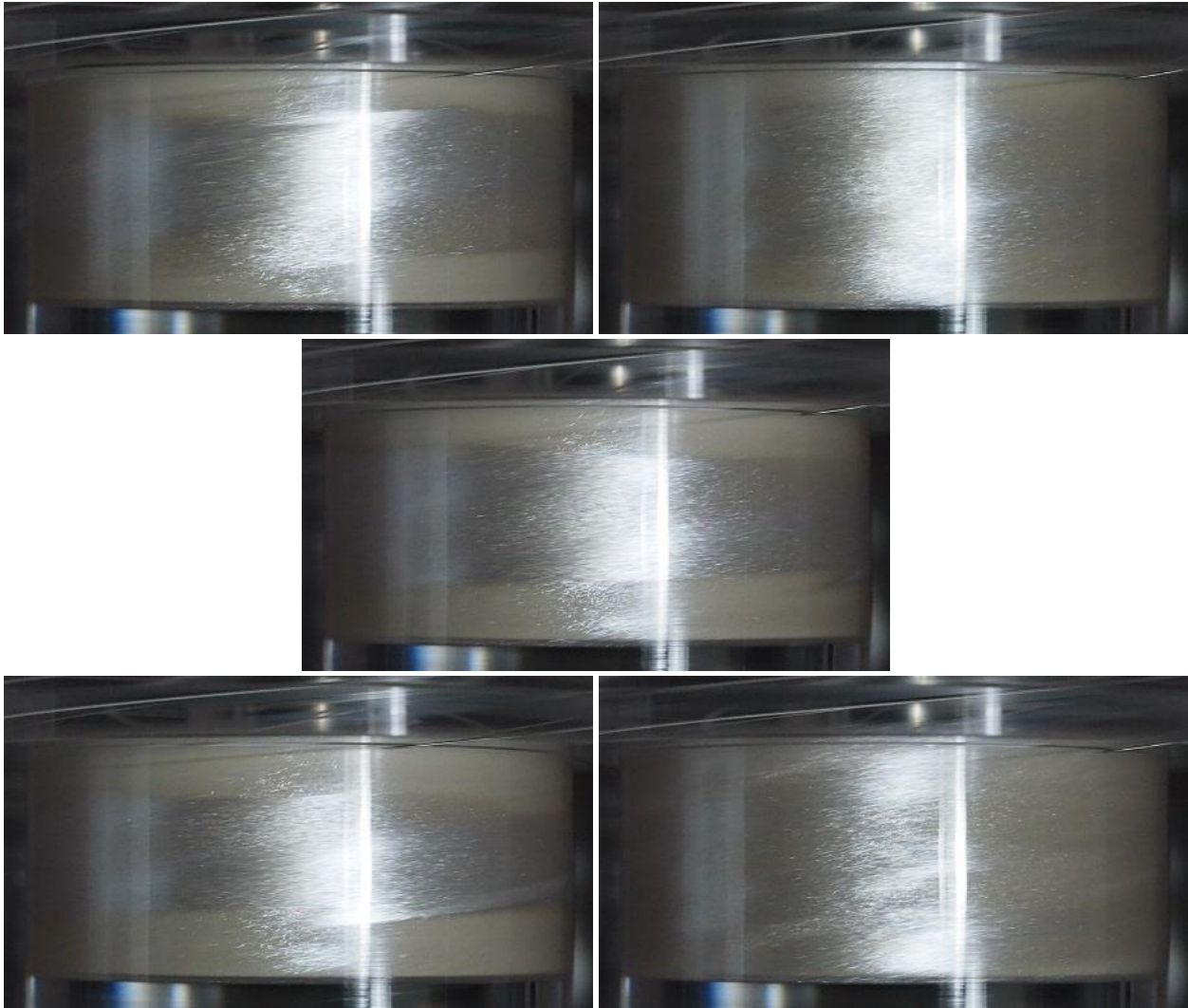


Abbildung 17: Fotoaufnahmen der Messung PBS-LSM-5 mit zwei laminar-turbulenten Umschlägen; 2700 U/min laminar (oben links); 2700 U/min nach spontanem Umschlag zu turbulenter Strömung (oben rechts); 2700 U/min nach spontaner Relaminarisierung (Mitte); nach Erhöhung der Drehzahl auf 3000 U/min (unten links); 3000 U/min nach spontanem Umschlag zu laminar-turbulenter Strömung (unten rechts); Blendenzahl F/8; Belichtungszeit 1/6000 s; Empfindlichkeit ISO-12800

Die mit sichtbar gemachter Strömung beobachteten laminar-turbulenten Umschläge bei den drei untersuchten Flüssigkeiten destilliertes Wasser (Aqua Dest), PBS-LSM und PBS-Ficoll sind in Tabelle 12 zusammengefasst.

Der laminar-turbulente Umschlag im Taylor-Couette-Spalt ist sehr stark von den Abmessungen wie den Radien von Innen- und Außenzylinder, dem Radienverhältnis, der Spaltbreite und dem Aspektverhältnis sowie den Fertigungsgenauigkeiten abhängig und ist damit für jeden Versuchsaufbau individuell. Die grundsätzliche Abhängigkeit der Reynolds-Zahl des laminar-turbulenten Umschlags bei angetriebenem Außenzylinder vom Verhältnis der Spaltbreite zum Radius des Außenzylinders wurde bereits zuvor in Abbildung 4 dargestellt. Werden in einem solchen Aufbau jedoch unterschiedliche Flüssigkeiten mit unterschiedlichen Stoffeigenschaften untersucht, ergeben sich aus den Abmessungen und Drehzahlen sowie den Stoffwerten der Flüssigkeiten Reynolds-Zahlen für den laminar-turbulenten Umschlag, die

einander ähnlich sind und für diesen speziellen Aufbau gelten, siehe Tabelle 12, Spalte 4. Für PBS-Ficoll konnte der laminar-turbulente Umschlag nicht beobachtet werden, da das maximale Drehmoment des Antriebsmotors bereits bei etwa 6600 U/min erreicht wurde. Entsprechend den Reynolds-Zahlen der Umschläge bei Aqua Dest und PBS-LSM von etwa 1500 bis 1600 müsste dieser Umschlag bei etwa 8000 U/min stattfinden.

Tabelle 12: Laminar-turbulenter Umschlag bei sichtbargemachter Strömung in verschiedenen mit Mica-Pulver versetzten Fluiden

Fluid	Dichte / dyn. Viskosität	Drehzahlbereich [U/min]	Re
Destilliertes Wasser	1,000 g/cm ³ / 1,00 mPa*s	1500 (selten 1200 bis 1700)	1646 (1317 bis 1866)
PBS-LSM	1,050 g/cm ³ / 2,10 mPa*s	2700 (selten 2400 bis 3000)	1484 (1319 bis 1649)
PBS-Ficoll	1,045 g/cm ³ / 6,60 mPa*s	Laminar-turbulenter Umschlag nicht beobachtet	

Der Vergleich der Fotoaufnahmen bei 1500 U/min (Aqua-Dest-1) in Abbildung 16 und 3000 U/min (PBS-LSM-5) in Abbildung 17 zeigt jeweils den laminar-turbulenten Umschlag. Während bei 1500 U/min die Mica-Partikel noch scharf erkennbar sind, haben diese bei 3000 U/min den doppelten Winkel (3° statt 1,5°) bzw. Weg (1,086 mm statt 0,543 mm) zurückgelegt und verschmieren bereits leicht. Für die beiden hier untersuchten laminar-turbulenten Umschläge genügt der verwendete Aufbau in Verbindung mit den verwendeten Parametern Blende, Belichtungszeit und ISO-Empfindlichkeit. Soll zukünftig der laminar-turbulente Umschlag für PBS-Ficoll untersucht werden, muss über eine intensivere Beleuchtung, beispielsweise über einen zusätzlichen Blitz, nachgedacht werden, sodass die Belichtungszeit von den hier verwendeten 1/6000 s bis auf 1/16000 s abgesenkt werden kann und gleichzeitig ein zu starkes Rauschen vermieden wird.

4.3.2 Ergebnisse zur Bestimmung des Drehmoments über die Messung der Motorstromaufnahme

Die Messung des Drehmoments ist bereits seit den ersten Untersuchungen von Couette (1890) und Mallock (1896), im frühen 20. Jahrhundert mit u.a. Wendt (1933) und Taylor (1936), bis heute mit Lathrop et al. (1992) sowie Lewis & Swinney (1999) ein wesentlicher Teil der Forschungsarbeit am Taylor-Couette-Spalt. Die dafür entwickelten Versuchsaufbauten zeichnen sich durch günstige geometrische Abmessungen, wie ein hohes Aspektverhältnis $\Gamma = h/\Delta r$ mit geringem Einfluss von Deckel und Boden auf die Strömung in der Mitte des Spaltes, einen hohen Rundlauf aufgrund hoher Fertigungsgenauigkeiten, aber auch durch spezielle Sensorik zur Bestimmung des Drehmoments aus.

Die Vorgehensweise in dieser Arbeit unterscheidet sich von den vorhergehenden Arbeiten grundlegend. Da die hier untersuchte Apparatur für die Arbeit im Zelllabor gedacht ist, muss sie kompakt, klein und leicht sein und die Couette-Baugruppe muss in wenigen Minuten montiert bzw. demontiert werden können. Entsprechend ist das Aspektverhältnis ungünstiger und der Rundlauf schlechter. Weiterhin verzichtet der Aufbau komplett auf Sensorik, wie einen Temperatursensor und vor allem einen speziellen Drehmoment-Sensor. Stattdessen wird das Drehmoment indirekt über die Motorstromaufnahme des antreibenden Motors mitbestimmt. Da der Motor mit Hilfe der integrierten Hall-Sensoren drehzahl geregelt wird, schwanken die Drehzahl als Zielgröße und die Motorstromaufnahme als Stellgröße

entsprechend dem anzutreibenden System und den eingestellten Regelparametern, insbesondere der Reglerverstärkung POR und dem Reglerintegralanteil I, stärker oder schwächer um die Solldrehzahl.

Abbildung 18 und Abbildung 19 zeigen charakteristische Verläufe von Drehzahl (blau) und Motordrehmoment (orange) des Antriebsmotors für destilliertes Wasser (Aqua Dest) und PBS-LSM, sodass man den laminar-turbulenten Umschlag in zeitlicher Relation zur entsprechend gefahrenen Drehzahl sehen kann. Sowohl Motordrehzahl als auch Motordrehmoment sind im gleitenden Durchschnitt abgebildet, dabei wurde über ein Fenster von 200 Messpunkten gemittelt. Diese Fensterbreite von 200 Messpunkten erlaubt gerade den Blick auf die Verläufe, die den starken Schwankungen beider Werte unterliegen, ohne wesentliche Informationen herauszumitteln. Beide Messwerte werden im zeitlichen Abstand von 7 ms vom Motor geliefert, um jedoch die Datenmenge weiter zu reduzieren, wird lediglich jeder 50. Messpunkt angezeigt.

Sprunghafte Erhöhung des Drehmoments am Punkt des laminar-turbulenten Umschlags

Anhand des Drehmoments der vier typischen Messläufe für destilliertes Wasser, Aqua-Dest-1 bis Aqua-Dest-4 sowie der fünf typischen Messläufe für PBS-LSM, PBS-LSM-1 bis PBS-LSM-5, die jeweils mit Mica-Partikeln für die Strömungssichtbarmachung versetzt sind, sollen die möglichen Szenarien für laminar-turbulenten Umschlag vorgestellt werden.

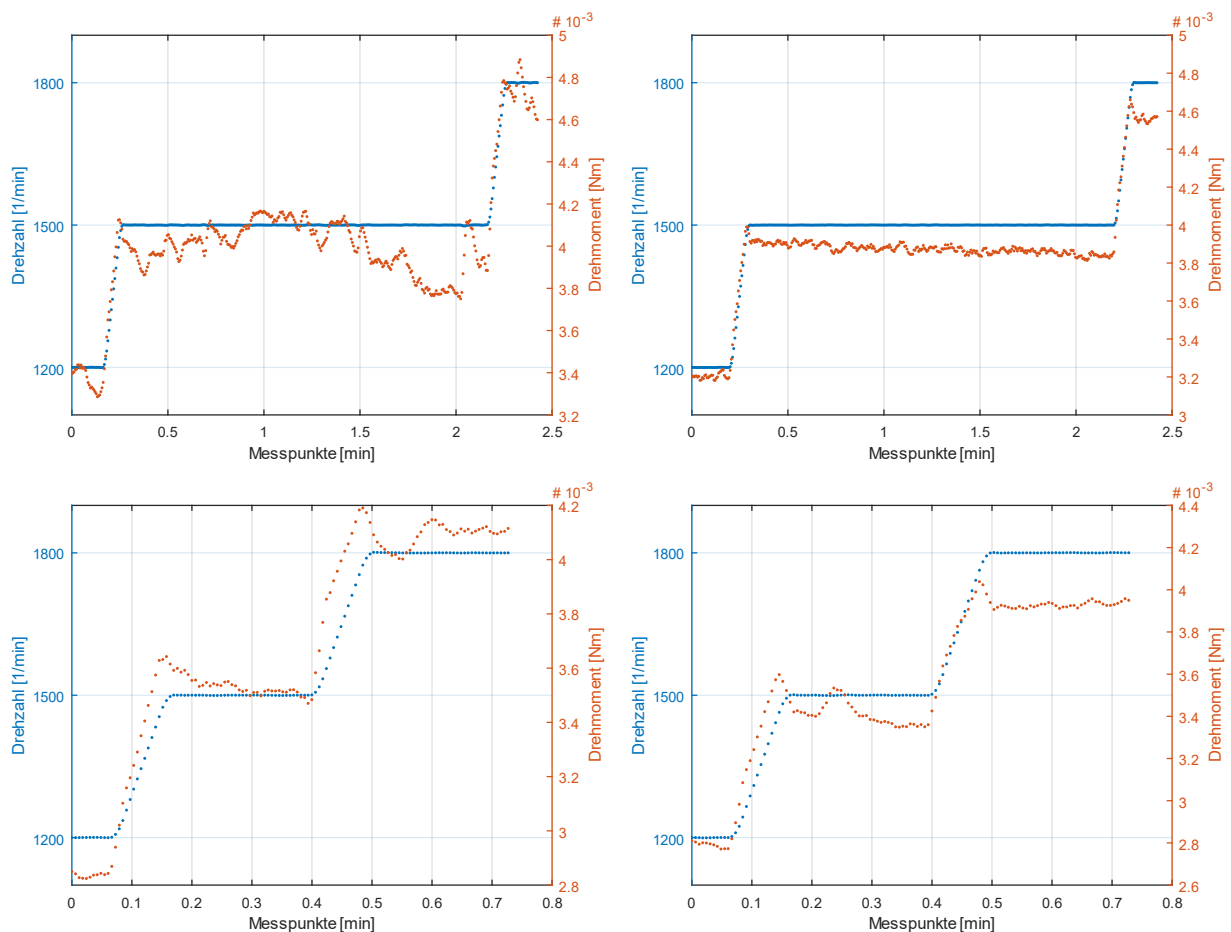


Abbildung 18: Typische Anstiege des Drehmoments am Antriebsmotor für die Messläufe Aqua-Dest-1 bis Aqua-Dest-4

Für destilliertes Wasser konnten sämtliche laminar-turbulente Umschläge lediglich optisch beobachtet werden, und zwar während der Drehzahlerhöhung von 1200 U/min auf 1500 U/min (Abbildung 16) und nicht plötzlich während einer Phase konstanter Drehzahl. Der sprunghafte Anstieg des Drehmoments in den zu Abbildung 16 korrespondierenden Drehmomentkurven in Abbildung 18 fällt in die Drehmomenterhöhung während des Drehzahlanstiegs und ist entsprechend schwer zu beobachten. Ein Umschlag bei einer Drehzahl von 1500 U/min in destilliertem Wasser entspricht einer Reynolds-Zahl von etwa 1600.

Für PBS-LSM liegt der laminar-turbulente Umschlag bei ca. 2700 bis 3300 U/min (Abbildung 19), was einer Reynoldszahl $Re=1500$ entspricht.

In Lauf PBS-LSM-1 (Abbildung 19, oben links) beispielsweise schlägt die Strömung nach ca. einer Minute bei 3000 U/min plötzlich von laminar nach turbulent um und bleibt dann für den Rest der Messung turbulent. Dabei steigt die Motorstromaufnahme von 5 mNm auf 5,5 mNm. Mit dem Hochfahren auf 3300 U/min steigt das Drehmoment dann auf 6,2 mNm.

In Messlauf PBS-LSM-2 (Abbildung 19, oben rechts) erfolgt der laminar-turbulente Umschlag, wie bei destilliertem Wasser, während des Hochfahrens von 3000 U/min auf 3300 U/min. Dabei steigt das Drehmoment von ca. 4,5 mNm auf 5,6 mNm, zwischen 3000 U/min laminar und 3300 U/min turbulent liegen also 1,3 mNm.

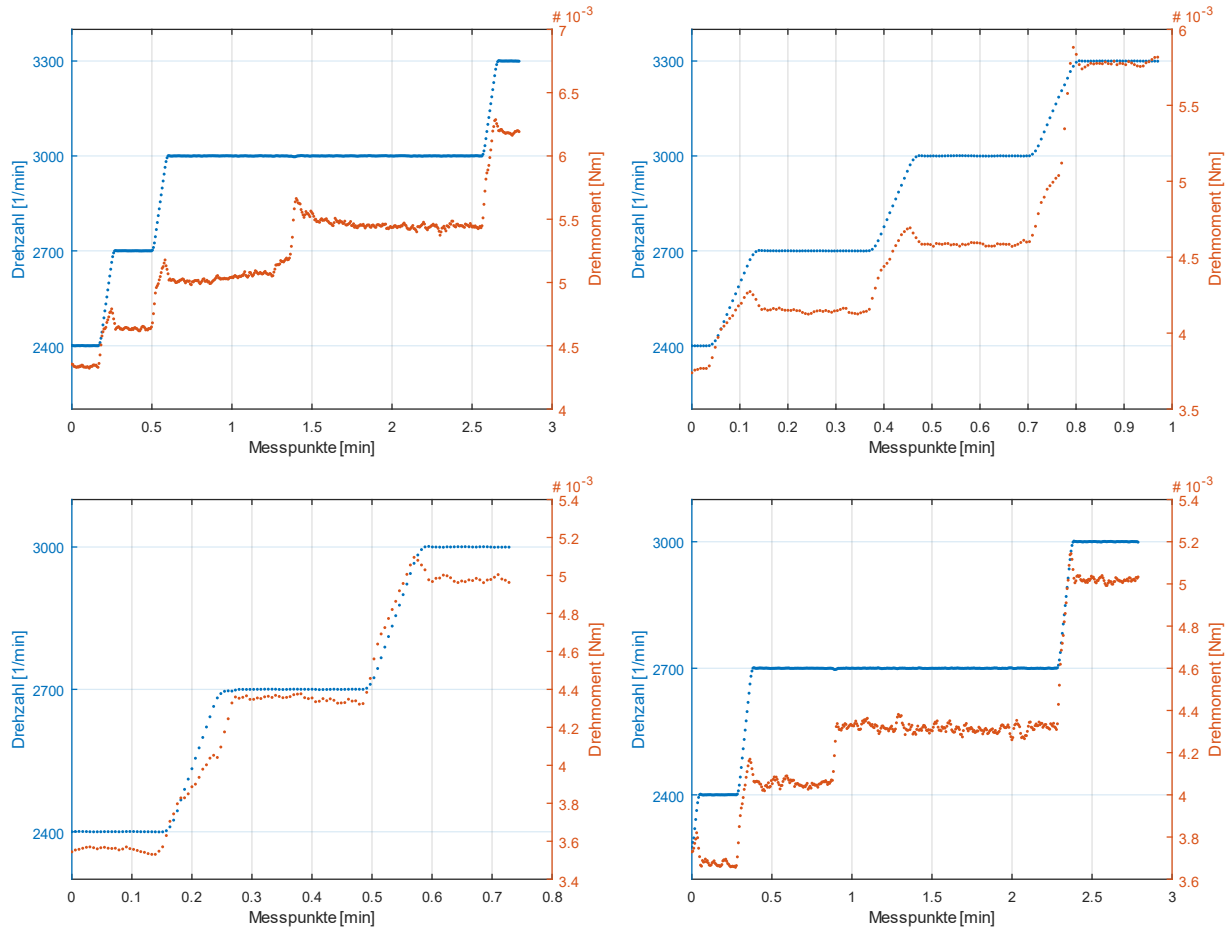


Abbildung 19: Typische Anstiege des Drehmoments am Antriebsmotor für die Messläufe PBS-LSM-1 bis PBS-LSM-4; Der Verlauf von PBS-LSM-5 ist einzeln und vergrößert in Abbildung 20 zusammen mit den entsprechenden Fotografien dargestellt.

Beim Umschlag von laminar nach turbulent in PBS-LSM-3 (Abbildung 19, Mitte links) direkt nach dem Hochfahren von 2400 U/min auf 2700 U/min steigt das Motordrehmoment von 3,5 mNm auf 4,3 mNm, also 0,8 mNm.

Der Kurvenverlauf von Messlauf PBS-LSM-4 (Abbildung 19, unten rechts) ähnelt dem zuerst besprochenen Verlauf aus Messlauf PBS-LSM-1. Auch hier findet der laminar-turbulente Umschlag etwa zwischen einer halben und einer Minute nach Erreichen der Drehzahl statt, allerdings bereits bei 2700 U/min. Das Drehmoment steigt dabei etwas geringfügiger als bei 3000 U/min, nämlich von ca. 4 mNm auf ca. 4,3 mNm. Die 0,3 mNm Erhöhung, die aus der Erhöhung der destabilisierenden Kräfte und den (viskoserer) Strömungsstrukturen resultiert, scheinen für einen dauerhaften Umschlag zu turbulenter Strömung bei 2700 mA zu genügen. Mit Erhöhung der Drehzahl auf 3000 U/min steigt die Motorstromaufnahme auf ca. 5 mNm, wie auch bei Lauf PBS-LSM-3 bis PBS-LSM-5 bei 3000 U/min.

In Messlauf PBS-LSM-5 (Abbildung 20) schlägt die Strömung gleich zweimal nach turbulent um. Bereits bei 2700 U/min erfolgt ein kurzer Umschlag. Dieser ist aber offenbar nicht instabil genug, da die Reibungskräfte im Verhältnis noch zu groß sind, und so die Strömung wieder relaminarisiert. Dabei steigt das Motordrehmoment von 4,1 auf 4,3 mNm und fällt dann wieder zurück auf 4,1 mNm. Der Anstieg des Drehmoments beträgt hier im Vergleich zu PBS-LSM-4, wo die Strömung bei 2700 U/min dauerhaft von

laminar nach turbulent umschlägt und die Motorstromaufnahme ca. 0,3 mNm ansteigt, nur etwa zwei Drittel der Erhöhung. Die Instabilitäten in der Strömung, die turbulente Strömungsstrukturen und damit eine Erhöhung des Drehmomentes um 0,2 mNm bewirken, sind offensichtlich nicht groß genug, um die Strömung dauerhaft turbulent zu halten. Nachdem die Strömung bei 2700 U/min wieder relaminarisiert, bleibt sie auch nach einer Erhöhung der Drehzahl auf 3000 U/min noch etwa 20 s laminar, schlägt dann aber endgültig nach turbulent um. Dabei steigt das Drehmoment von etwa 4,5 mNm auf 5 mNm. Der Anstieg im Drehmoment beim laminar-turbulenten Umschlag ist hier mit 0,5 mA fast dreimal so hoch wie noch bei 2700 U/min im gleichen Messlauf.

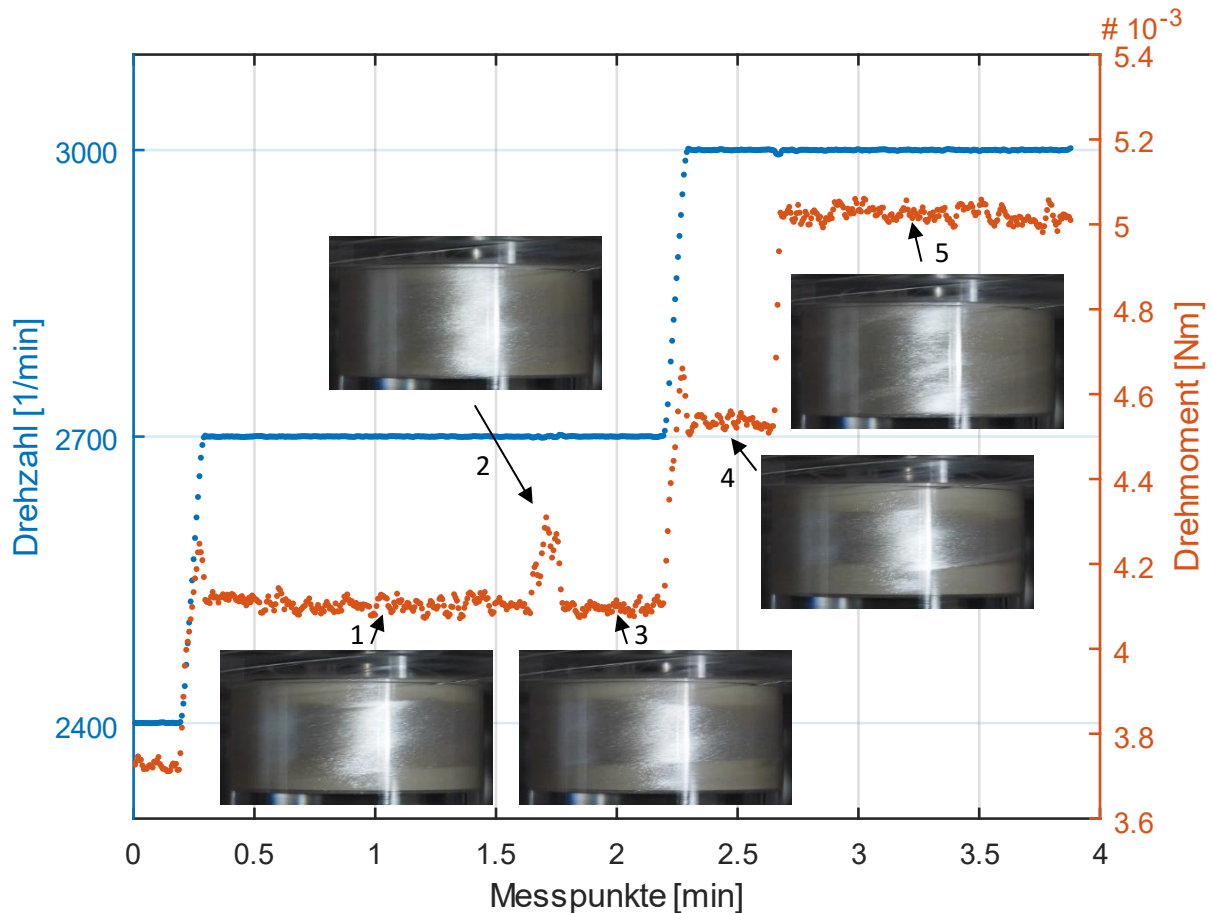


Abbildung 20: Messlauf PBS-LSM-5 mit den Fotoaufnahmen der Strömung vor und nach den beiden laminar-turbulenten Umschlägen aus Abbildung 17

Die Sprünge im Drehmoment bei laminar-turbulentem Umschlag sind Tabelle 13 zusammengefasst.

Mit höherer Drehzahl steigen sowohl die Reibungskräfte innerhalb der Strömung in erster Potenz als auch die Trägheitskräfte in zweiter Potenz. Damit die Strömung bei höherer Drehzahl von laminar nach turbulent umschlagen kann, müssen mindestens die Reibungskräfte überwunden werden, entsprechend der Definition der Reynolds-Zahl im Verhältnis von Trägheitskräften zu Reibungskräften sogar um ein Vielfaches. Da aber bereits die Reibungskräfte geschwindigkeits- und damit drehzahlabhängig sind, muss der plötzliche Anstieg des Drehmoments beim laminar-turbulenten Umschlag bei höheren Drehzahlen größer ausfallen als bei geringeren Drehzahlen.

Entsprechend dem Forschungsstand zur unterkritischen Transition (Abschnitt 2.3) können aber gleichzeitig die Störungen kleiner sein, mit denen ein laminar-turbulenter Umschlag erwirkt werden kann.

Die kurzen Umschläge von laminar nach turbulent, wie der mit „2“ markierte kurzzeitige Umschlag in Abbildung 20 bei 2700 U/min, erinnern an die bei Frisch (1995) beschriebenen intermittenten Bursts, bei denen ein gleichmäßig schwankendes Signal durch einen plötzlich auftretenden Ausschlag unterbrochen wird, um dann zum gleichmäßig schwankenden Signal zurückzukehren. Vorstellbar ist, dass mit zunehmender Drehzahl und damit Reynoldszahl diese intermittenten Bursts weiter zunehmen und das Drehmoment dauerhaft über den Wert bei laminarer Strömung anheben. Diese intermittenten Bursts heben sich von den Drehmomentschwankungen bei laminarer Strömung (wie z.B. bei 2400 U/min) dadurch ab, dass die Schwankung hier nicht um das eigentliche Signal (also den Mittelwert bzw. die Grundlinie) erfolgt, sondern das Signal, hier das Drehmoment, kurzzeitig erhöht.

Tabelle 13: Zusammenfassung der Anstiege des Drehmoments in den Läufen PBS-LSM-1 bis PBS-LSM-5

Drehzahl	PBS-LSM-1	PBS-LSM-2	PBS-LSM-3	PBS-LSM-4	PBS-LSM-5
2400 → 2700			0,8 mNm (turb.)		
2700				0,3 mNm (turb.)	0,2mNm (relam.)
2700 → 3000					
3000	0,5 mNm (turb.)				0,5 mNm (turb.)
3000 → 3300		1,3 mNm (turb.)			

Diskussion der Ergebnisse zur sprunghaften Erhöhung des Drehmoments

Die hier diskutierten Drehmomente liegen im einstelligen Millinewtonmeter-Bereich und sind damit relativ klein. So unterscheiden sich die absoluten Drehmomente, die aus den Verläufen in Abbildung 19 abgelesen werden können, von Lauf zu Lauf auch bei gleicher Drehzahl leicht. Beispielsweise liegt das Drehmoment bei 3000 U/min (laminar) in Messlauf PBS-LSM-1 bei etwa 5 mNm, jedoch in Lauf PBS-LSM-2 und in Lauf PBS-LSM-5 bei 4,5 mNm. Bei 3000 U/min (turbulent) liegt es in Messlauf PBS-LSM-1 bei 5,5 mNm und in den Messläufen PBS-LSM-3 bis PBS-LSM-5 bei 5 mNm. So sind in Messlauf PBS-LSM-1 die Drehmomente grundsätzlich etwas höher als in den anderen Läufen. Bereits ein etwas fester angezogener Deckel oder eine etwas stärker in die Kupplung gedrückte Couette-Baugruppe erhöht das Drehmoment leicht. Es ist deshalb unmöglich, anhand der absoluten Drehmomente auf den Zustand der Strömung zu schließen.

Weiterhin findet der laminar-turbulente Umschlag manchmal statt, während eine Drehzahl eingestellt ist, manchmal jedoch während des Hochfahrens von einer auf die andere Drehzahl. In diesem Fall ist es schwieriger, den laminar-turbulenten Umschlag rein mit Hilfe des plötzlichen Anstieges des Drehmomentes zu erkennen. Wie die beiden Messläufe PBS-LSM-2 und PBS-LSM-3 jedoch zeigen, sind die Drehmomentanstiege insgesamt deutlich größer, wenn sie sich aus Erhöhung der Drehzahl und gleichzeitigem laminar-turbulenten Umschlag zusammensetzen.

Bei den eigentlichen Zellversuchen soll die Apparatur auf eine Drehzahl eingestellt werden und dann die Zellen für die gewünschte Einwirkdauer scheren. Dabei ist keine optische Beobachtung des laminar-turbulenten Umschlags möglich, sodass der Benutzer auf die Ergebnisse zum laminar-turbulenten Umschlag für die verschiedenen Medien in diesem Abschnitt und die Drehmomentmessungen während

der Zellversuche angewiesen ist, um die gewünschten Zellversuche entweder komplett bei laminarer Strömung oder komplett bei turbulenter Strömung durchzuführen. Bei diesen Drehmomentmessungen kann aufgrund der geringen Größe der Werte für das absolute Drehmoment lediglich der Drehmomentsprung während eines laminar-turbulenten Umschlags bei konstanter Drehzahl gemessen werden und als mögliches Kriterium für einen erfolgten laminar-turbulenten Umschlag in einer Software hinterlegt werden. Problematisch dabei ist, dass auch dieser Sprung des Drehmoments leicht schwankt und zusätzlich mit steigender Drehzahl ebenfalls steigt.

Anstieg der Drehmoment-Reynolds-Zahl-Kennlinie und Normierung des Drehmoments

Eine weitere Möglichkeit ist, sich den Anstieg der Drehmoment-Drehzahl-Kennlinie anzuschauen und davon auf laminare oder turbulente Strömung zu schließen, wie bisherige Ergebnisse aus der Literatur nahelegen (Wendt, 1933; Eckardt et al., 2007).

Abbildung 21 zeigt für die drei untersuchten Flüssigkeiten in den bereits besprochenen Messläufen die Entwicklung des Drehmoments, das der Antriebsmotor zur Rotation des Außenzylinders gegen den feststehenden Innenzylinder aufbringen muss, über der Reynolds-Zahl. Der Antriebsmotor wurde in 300 U/min-Intervallen für 20s bei jeder Drehzahl gehalten, um den Mittelwert der Motorstromaufnahme und damit des Motordrehmomentes bilden zu können. Weiterhin schwanken Drehzahl und Motorstromaufnahme durch die Regelung des Motors. Da das gemessene Drehmoment kurz nach dem Ende der Beschleunigung grundsätzlich etwas absinkt, würden ohne diese Haltepunkte der Drehzahl und bei reiner Beschleunigung tendenziell zu hohe Drehmomente bestimmt.

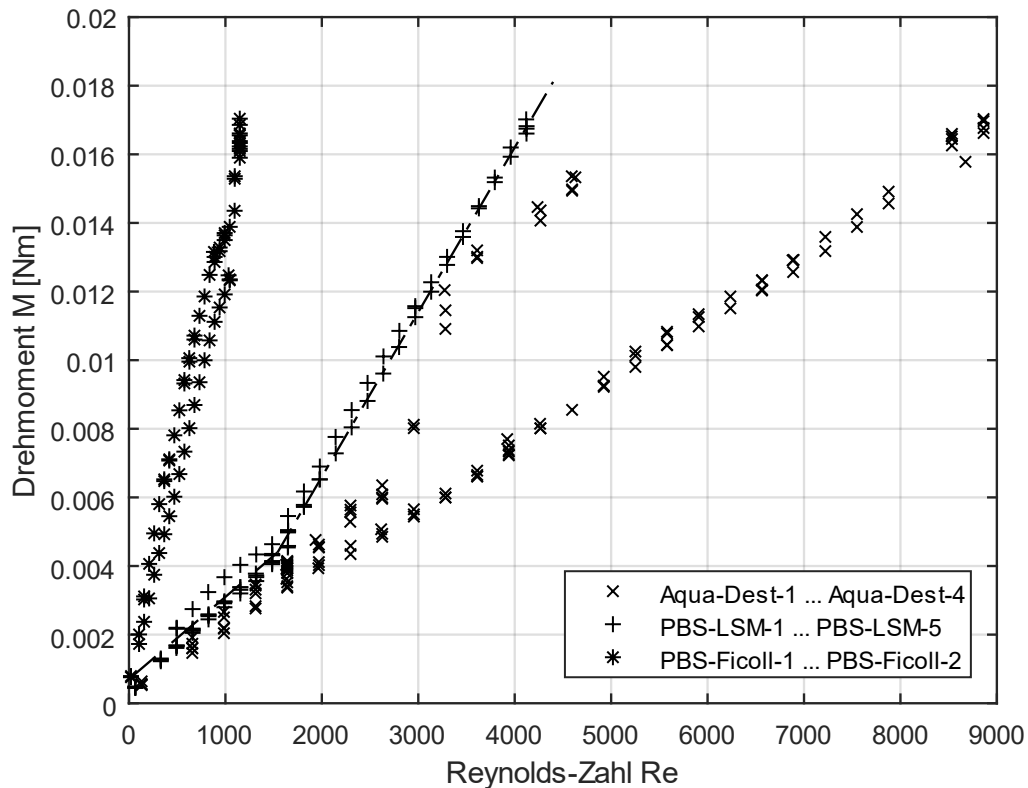


Abbildung 21: Entwicklung des Drehmoments über der Reynolds-Zahl Re für die drei untersuchten Flüssigkeiten destilliertes Wasser (Aqua Dest), PBS-LSM und PBS-Ficoll. Das maximale Drehmoment des Antriebsmotors beträgt 17 mNm und wird mit den Flüssigkeiten unterschiedlicher Viskosität unterschiedlich schnell erreicht.

Bei PBS-Ficoll ist der Verlauf der Kurve sehr steil. Bereits bei geringen Reynolds-Zahlen ist aufgrund der mehr als sechsmal so hohen Viskosität im Vergleich zu destilliertem Wasser bzw. der mehr als dreimal so hohen Viskosität im Vergleich zu PBS-LSM das maximale Drehmoment des Motors erreicht. Die maximalen Reynolds-Zahlen von 1150 ergeben sich aus Drehzahlen von bis zu 6600 U/min und liegen damit etwas unterhalb der Reynolds-Zahl für laminar-turbulenten Umschlag bei destilliertem Wasser ($Re=1646$) und bei PBS-LSM ($Re=1484$). Für einen laminar-turbulenten Umschlag bei PBS-Ficoll müsste der Motor etwa 8000 U/min anfahren, wofür das Drehmoment allerdings nicht ausreicht. Auffällig ist ein leichtes Abflachen der Drehmoment-Reynolds-Zahl-Kurve um $Re=1000$, das mutmaßlich auf der Erwärmung der Probe durch die Scherung und damit auf dem Absinken der Viskosität des PBS-Ficoll beruht.

Die Verläufe des Drehmoments über der Reynolds-Zahl bei PBS-LSM für (PBS-LSM-1 bis PBS-LSM-5) sind sich untereinander sehr ähnlich und können linear angenähert werden. Am laminar-turbulenten Umschlag bei $Re=1484$, was einer Motordrehzahl von 2700 U/min bis 3000 U/min entspricht), verdoppelt sich der Anstieg der Kurve von $m=2,4$ auf $m=4,8$ (siehe auch Abbildung 22 links).

Für destilliertes Wasser sind die Ergebnisse zum Drehmomentverlauf uneinheitlich. Während bei zwei Messläufen (Aqua-Dest-1 bzw. Aqua-Dest-2) das Drehmoment nach dem laminar-turbulenten Umschlag bei 1500 U/min bzw. $Re=1646$ stark ansteigt, entwickelt sich das Drehmoment in den beiden anderen Messungen (Aqua-Dest-3 bzw. Aqua-Dest-4) nahezu proportional zur Reynolds-Zahl. Mit destilliertem

Wasser ist der Scherapparat instabiler und unruhiger gelaufen als mit den höherviskosen Flüssigkeiten PBS-LSM und PBS-Ficoll. Möglicherweise müssen für Läufe mit destilliertem Wasser die Reglerparameter des Antriebsmotors optimiert werden. Es wurden jedoch aus Gründen der Vergleichbarkeit für alle Fluide die gleichen Reglerparameter ($POR=10$, $I=4$) verwendet, die aber insbesondere bei den höherviskosen Fluiden für einen sehr ruhigen Lauf gesorgt haben.

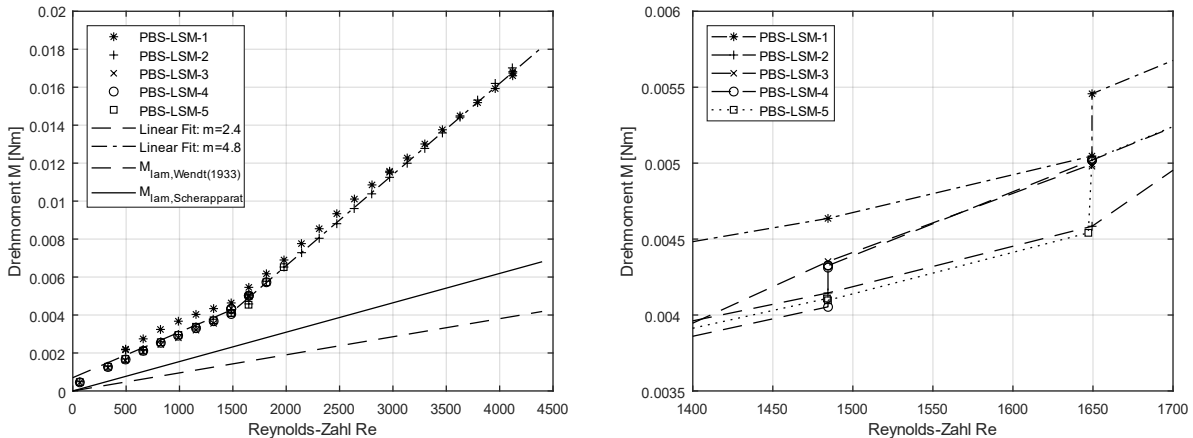


Abbildung 22: Entwicklung des Drehmoments für PBS-LSM (links) im Vergleich zum theoretischen Verlauf nach Wendt (1933) und im Scherapparat (Wendt (1933) plus zweimal Drehmoment im Kegel-Platte-Bereich oben und unten). Ab $Re=1500$ (Drehzahl 2700U/min bis 3000U/min) schlägt die Strömung von laminar nach turbulent um. Dabei steigt das Drehmoment sprunghaft um bis zu 0,5 mNm an (siehe Abbildung rechts: vergrößerter Ausschnitt im Bereich $Re=1400 \dots 1700$), gleichzeitig steigt das Drehmoment mit weiterer Erhöhung der Dreh- bzw. Reynoldszahl schneller an. Ist der Anstieg vorher $m=2,4$ mNm/[Re], liegt er nach dem laminar-turbulenten Umschlag bei ca. 4,8 mNm/[Re].

In Abbildung 22 (links) ist zusätzlich zum gemessenen Verlauf für PBS-LSM der theoretische Drehmomentverlauf für PBS-LSM für die laminare Strömung im Couette-Spalt nach Wendt (1933) und für den Scherapparat insgesamt geplottet. Die Kurve für den Scherapparat bezieht zusätzlich zum Verlauf nach Wendt (1933) die beiden Kegel-Platte-Bereiche nahe dem Deckel und dem Boden in die theoretische Drehmomentberechnung mit ein. Deutlich wird der stärkere Anstieg des Linearfits für die gemessene Kurve nach dem laminar-turbulenten Umschlag ab ca. $Re=1500$ von 4,8 mNm/[Re] im Gegensatz zu 2,4 mNm/[Re]. Da die theoretische Kurve nur für die laminare Strömung gilt, ist hier der Anstieg der Kurve konstant. Neben Steigung des Drehmoments kann in Abbildung 22 (rechts) auch die aus den zeitlichen Verläufen aus Abbildung 19 und Abbildung 20 bekannte plötzliche Erhöhung des Drehmoments für PBS-LSM beobachtet werden.

Um die oben erlangten Erkenntnisse direkt während der Zellversuche zur Verfügung zu haben, wurde die Steuerungssoftware Faulhaber Motion Manager 6 durch ein selbstentwickeltes MATLAB-Skript mit grafischer Oberfläche ersetzt, siehe Abbildung 15 in Abschnitt 3.3.

Üblicherweise werden in der Literatur (Wendt, 1933; Eckardt et al., 2007) die Ergebnisse zu Drehmomentmessungen normiert dargestellt (Torque Scaling). Die Normierung erfolgt mit Hilfe der Gleichung für das laminare Drehmoment nach Wendt (1933) in Abschnitt 3.4.2. Das Verhalten der normierten Kurve wird dann mit Hilfe eines Exponentialfits angenähert. Zur Einordnung der Messergebnisse und zum Vergleich mit den früheren Ergebnissen soll dies am Ende dieses Abschnittes

kurz betrachtet werden. Allerdings ist für den Betrieb des Scherapparats die Normierung der Drehmomentmessungen nicht zwingend notwendig, da man sowohl den plötzlichen Sprung im Drehmoment als auch den Anstieg ohne Normierung erkennt.

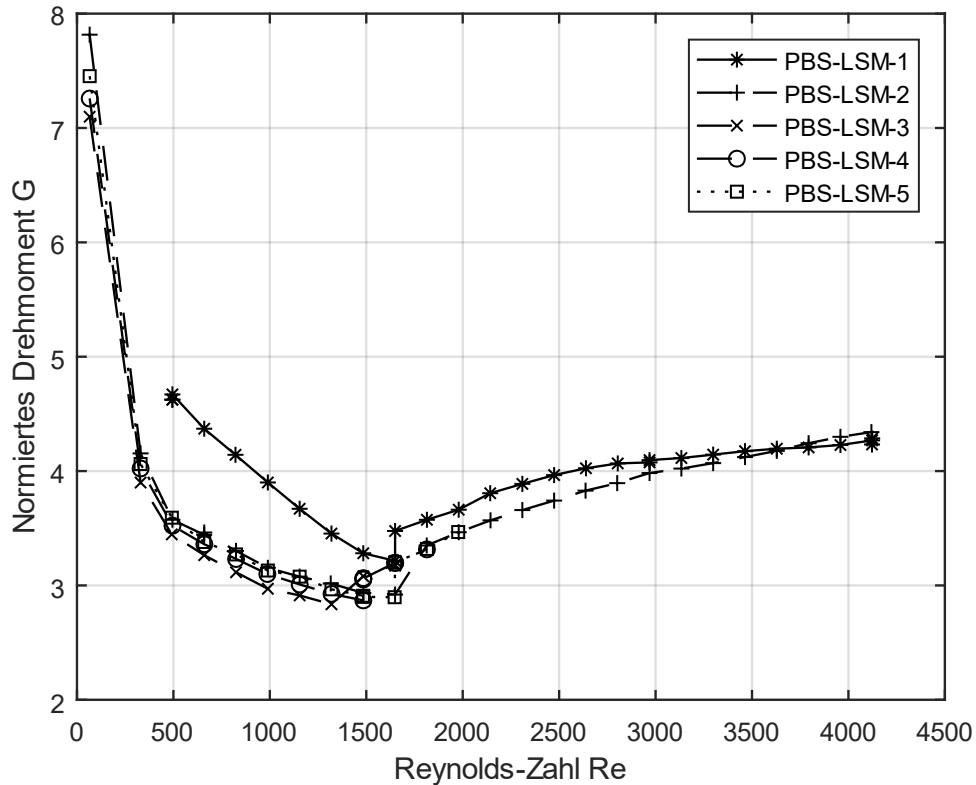


Abbildung 23: Torque Scaling – Experimentell ermittelte Drehmomente normiert auf laminares Drehmoment nach Wendt (1933)

Abbildung 23 zeigt die experimentell aufgenommenen Kurven für PBS-LSM aus Abbildung 22 (links), normiert auf das laminares Drehmoment nach Wendt (1933). Nach dem turbulenten Umschlag scheinen sich die Kurven asymptotisch an 4,8-5 anzunähern, was das Verhältnis der Anstiege der beiden Kurven in Abbildung 22 wiedergibt. Die hier aufgenommenen Kurven unterscheiden sich etwas u.a. vom normierten Drehmomentverlauf nach Wendt (1933). Bei Wendt (1933) sind die normierten Kurven bei großen Reynolds-Zahlen nahezu linear und flachen nur leicht ab. Hier flachen die Kurven des normierten Drehmoments stärker ab, da aus den Messdaten dieser Untersuchung bis $Re=4500$ lediglich zwei lineare Anstiege herausgelesen werden können, die durch Normierung mit einem ebenfalls linearen Verlauf eine asymptotische Form annehmen. Wendt (1933) hingegen nähert seine Messungen quadratisch an, sodass sich nach Normierung ein etwa linearer Verlauf ergibt. In den neueren Untersuchungen, u.a. Eckardt et al. (2007), wird mit einem konstanten Verlauf normiert (s. Abschnitt 3.4.2), sodass sich für die normierten Kurven ein Torque Scaling mit Re^α ergibt. Die Messungen von Wendt (1933) reichen außerdem bis zu höheren Reynolds-Zahlen als es in diesen Untersuchungen aufgrund des maximalen Drehmoments des Antriebsmotors möglich war.

Um den Scherapparat hinsichtlich seines Verhaltens beim Torque Scaling, insbesondere nach dem laminar-turbulenten Umschlag in höheren Reynoldszahl-Bereichen, besser einordnen zu können und eventuell ebenfalls einen exponentiellen Anstieg zu beobachten, ist ein Austausch des Motors durch ein stärkeres Modell mit höherem Drehmoment nötig. Dieser Punkt wird im Ausblick dieser Arbeit näher aufgegriffen. Für den Betrieb des Scherapparats mit Blick auf die Zellversuche ist dies jedoch nicht notwendig.

Die wesentliche Erkenntnis dieses Abschnitts für die weitergehenden Untersuchungen, insbesondere die Zellversuche, die bei laminarer Strömung durchgeführt werden sollen, ist das Wissen um den Bereich des laminar-turbulenten Umschlags bei den drei untersuchten Fluiden. Destilliertes Wasser soll aufgrund seiner geringen Dichte und Osmolarität für die Zellversuche nicht verwendet werden und dient in der Arbeit nur zu Vergleichszwecken, sodass der laminar-turbulente Umschlag bei solch geringen Drehzahlen wie 1500 U/min unproblematisch ist. Für PBS-LSM erfolgt der laminar-turbulente Umschlag in einem mittleren Drehzahlbereich und ist anhand der aufgenommenen Kurven sehr gut zu detektieren. Für die Notwendigkeit hoher Drehzahlen und damit Scherraten bei laminarer Strömung ist PBS-Ficoll sehr gut geeignet, da bis zu den hier untersuchten Drehzahlen von 6600 U/min kein laminar-turbulenter Umschlag erfolgt. Dieser wird mit Hilfe der Reynolds-Zahl für etwa 8000 U/min vorhergesagt.

Weiterhin wird in diesem Abschnitt gezeigt, dass die Bestimmung des Drehmoments mit Hilfe der Messung der Motorstromaufnahme gut geeignet ist, um während des Betriebs, insbesondere bei Zellversuchen, auf die Strömungsverhältnisse innerhalb des Schervolumens zu schließen. Weiterhin konnte angedeutet werden, dass aufgrund des Abflachens der Drehmoment-Reynolds-Zahl-Kennlinie des vergleichsweise hochviskosen PBS-Ficoll ein Absinken der Viskosität mit signifikanter Schererwärmung einhergeht. Die Schererwärmung kann also, in Grenzen, beim Betrieb mit Hilfe des Drehmomentes ebenfalls überwacht werden.

4.4 Ergebnisse zur Bestimmung des laminar-turbulenten Umschlags mit Hilfe der CFD-Simulationen

Die zwei wesentlichen Fragenstellungen, die mit Hilfe der Grobstruktursimulationen geklärt werden, sind die Frage nach dem laminar-turbulenten Umschlag sowie die Frage nach der Bestimmung der Geschwindigkeitsprofile und Scherratenverläufe im Messspalt bei verschiedenen Drehzahlen. Damit soll ermittelt werden, welche Scherraten lokal auftreten, wenn eine Drehzahl und dementsprechend eine globale Scherrate eingestellt wird. Weiterhin ist von Interesse, in welchem Anteil des Messvolumens bei einer eingestellten Drehzahl jeweils welche Scherrate vorherrscht.

In diesem Abschnitt sollen die Ergebnisse zum laminar-turbulenten Umschlag mit Hilfe der numerischen Strömungssimulationen vorgestellt werden. Dafür wurden Strömungssimulationen mit zwei verschiedenen Rechenmodellen, dem 360°-Vollmodell und dem 5°-Schnittmodell, für verschiedene Drehzahlen durchgeführt und diese anhand des Q-Kriteriums (siehe Abschnitt 3.5.3) verglichen.

In einem zweiten Schritt wurden für das 5°-Schnittmodell Störungen auf das initiale Strömungsfeld (Anfangsbedingung) und die Winkelgeschwindigkeit des Außenzylinders (Randbedingung) aufgeprägt und ihr Einfluss auf den laminar-turbulenten Umschlag evaluiert.

4.4.1 Ungestörte Strömung

Ergebnisse zum Umschlag am 360°-Modell von Scherapparat Entwurf 1, Medium: Destilliertes Wasser

In Entwurf 1 des Scherapparats wurde ein Scherspalt von 1 mm realisiert. Der Radius des Innenzylinders beträgt 20 mm, während der Radius des Außenzylinders 21 mm beträgt.

Abbildung 24 zeigt die Isoflächen des Q-Kriteriums ($Q=2000 \text{ 1/s}^2$) für die ungestörte Strömung bei 600 U/min (oben links), 1100 U/min (oben rechts), 1200 U/min (unten links) und 3000 U/min (unten rechts). Als Flüssigkeit in der Simulation dient destilliertes Wasser mit den Stoffwerten Dichte und Viskosität aus Tabelle 11.

Während bei 600 U/min und 1100 U/min die Q-Isofläche einem durchgehenden Band entspricht, haben sich bei 1200 U/min Einzelstrukturen herausgebildet, die das Band unterbrechen. Bei 3000 U/min ist das Band nicht mehr vorhanden. Stattdessen füllen eine Vielzahl dieser Einzelstrukturen den Messspalt aus.

Das Q-Kriterium als zweite Invariante des Geschwindigkeitsgradiententensors basiert auf den Gradienten der drei Geschwindigkeitskomponenten abgeleitet nach den drei Raumrichtungen. Übertragen in Polarkoordinaten dominiert dabei der Geschwindigkeitsgradient basierend auf der Geschwindigkeitskomponente in Umfangsrichtung abgeleitet nach der radialen Richtung über den Spalt, denn in Umfangsrichtung liegt die Hauptrichtung der Strömung und in radialer Richtung ist die Scherung am höchsten. In kartesischen Koordinaten gilt dies auch für Punkte, die auf einer der beiden Achsen liegen, die die Ebene aufspannen, auf der der Zylinder steht.

Da die Strömung kontinuierlich zwischen den beiden Zylindern strömt, hat eine laminare Strömung einen Geschwindigkeitsgradienten, der in Umfangsrichtung konstant ist und hauptsächlich vom Radius und der vertikalen Position im Spalt abhängt. Genau aus diesem Grund bildet sich bei laminarer Strömung ein Band, welches sich um den Innenzylinder legt. Die Einzelstrukturen sind Bereiche, in denen die Strömung bereits turbulent ist. In der Literatur werden sie als turbulente Patches bezeichnet.

Ein Umschlag bei etwa 1200 U/min entspricht in Entwurf 1 des Scherapparats mit 1 mm Spalt und Wasser als Medium einer Reynoldszahl $Re=2626$.

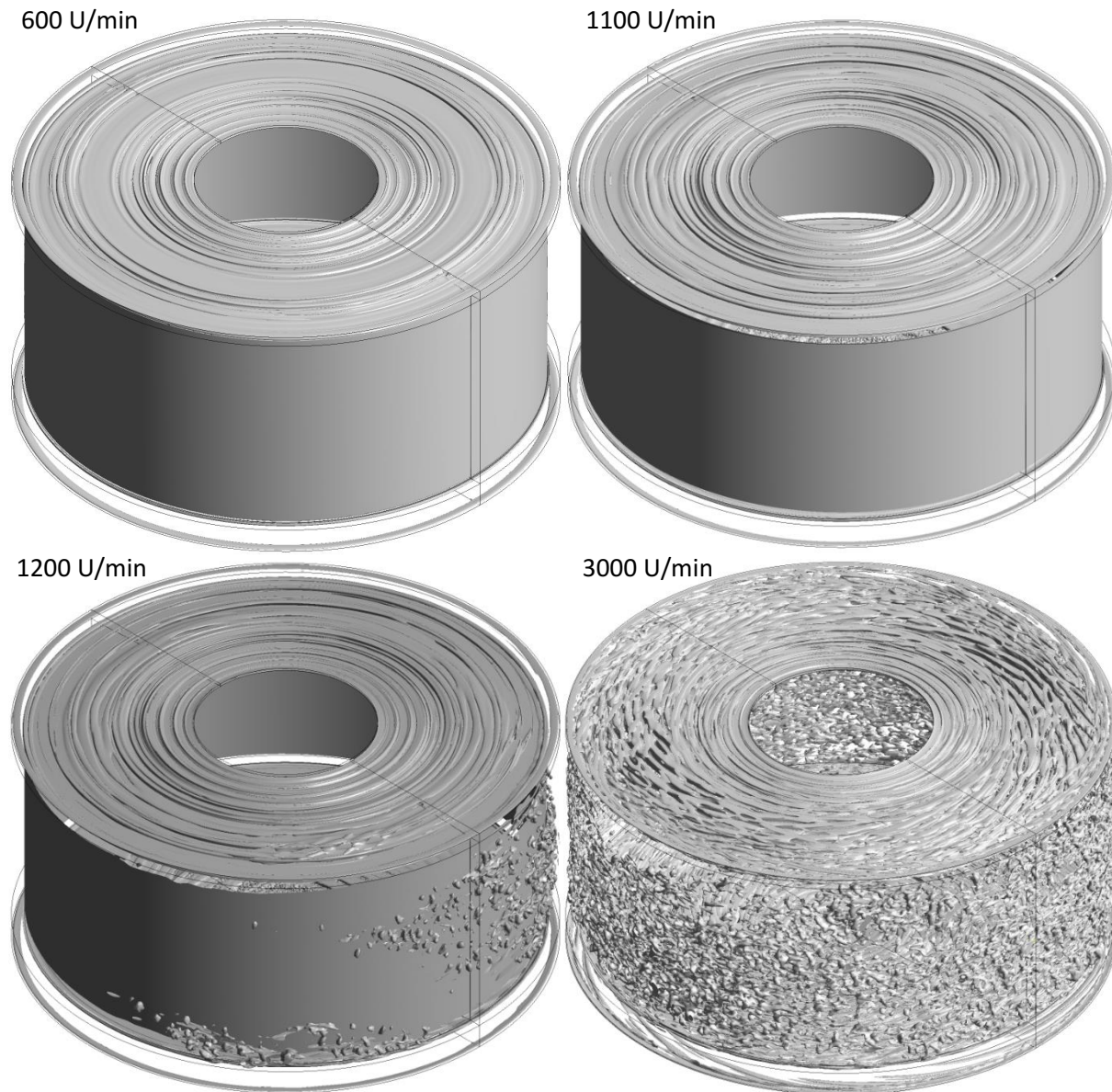


Abbildung 24: 2000 1/s^2 -Isofläche des Q-Kriteriums für 360° -Modell von Scherapparat Entwurf 1 (1,0 mm Spalt) mit variierter Drehzahl des Außenzylinders; 600 U/min (oben links), 1100 U/min (oben rechts), 1200 U/min (unten links) und 3000 U/min (unten rechts)

Ergebnisse zum Umschlag am 5° -Modell von Scherapparat Entwurf 2, Medium: Destilliertes Wasser

Analog zur der Visualisierung des laminar-turbulenten Umschlags beim 360° -Vollmodell von Scherapparat Entwurf 1 in Abbildung 24 wird auch für das 5° -Modell von Scherapparat Entwurf 2 mit 0,5 mm-Spalt der Umschlag zur turbulenten Strömung mit Hilfe des Q-Kriteriums visualisiert, siehe Abbildung 25. Durch die

halbierte Spaltbreite halbiert sich bei gleicher Drehzahl im Vergleich zu Scherapparat Entwurf 1 auch die Reynolds-Zahl Re .

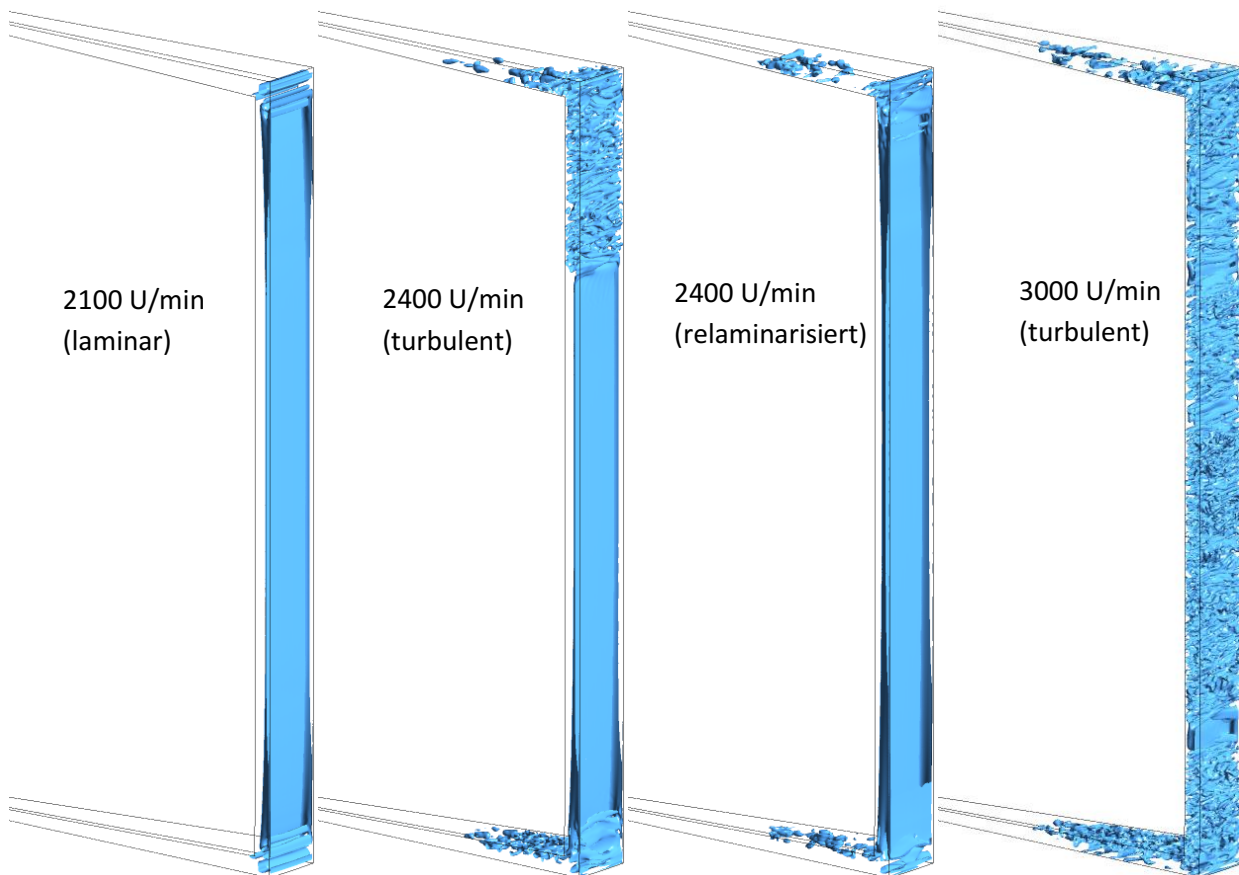


Abbildung 25: Isofläche des Q -Kriteriums für 10^6 1/s^2 ; v.l.n.r.: Drehzahlen 2100 U/min (laminar), 2400 U/min (turbulent), 2400 U/min (relaminarisiert) und 3000 U/min (turbulent); Die einzelnen Abbildungen sind jeweils links zur Spitze hin abgeschnitten, da dort keine Q -Isofläche für 10^6 1/s^2 mehr auftritt.

Während bis 2100 U/min (Abbildung 25, ganz links) die Strömung laminar bleibt, erkenntlich durch ein durchgängiges Band der Isofläche des Q -Kriteriums bei 10^6 1/s^2 , schlägt die Strömung bei 2400 U/min ($Re=2600$) nach turbulent um (Abbildung 25, 2. Abbildung von links), relaminarisiert jedoch wieder nach längerer Simulationsdauer (Abbildung 25, 3. Abbildung von links), um dann weitgehend laminar zu bleiben. Bei dieser Drehzahl sind die Störungen also nicht dauerhaft groß genug, um die turbulente Strömung im Messspalt aufrechtzuerhalten. Zu beachten ist, dass im Kegel-Platte-Bereich oben und unten die Strömung lokal begrenzt turbulent bleibt. An der Spitze, an der die periodische Randbedingung durch Druckrandbedingungen ersetzt werden musste, bleibt die Strömung in allen untersuchten Fällen laminar. Dieser Teil des Rechengitters hat sich als nicht wesentlich für das Ergebnis herausgestellt, so dass man ihn alternativ auch komplett hätte wegschneiden können, da die Moving-Wall-Randbedingung aufgrund der Rotation des angetriebenen Außenzylinders die Strömung dominiert.

Bei 3000 U/min (rechts) bleibt die Strömung für die Länge der Simulationsdauer turbulent und dies auch über den gesamten Spalt.

Wie auch in der Simulation von Entwurf 1 des Scherapparats mit 1,0 mm Messspalt mit Hilfe des 360°-Vollmodells findet der laminar-turbulente Umschlag bei der Simulation von Scherapparat Entwurf 2 mit Hilfe des 5°-Schnittmodells etwa bei $Re=2600$ statt. Dies bedeutet, dass beide Modelle hinsichtlich des laminar-turbulenten Umschlags ähnliche Ergebnisse liefern, bei deutlich geringerem Rechenaufwand mit dem 5°-Schnittmodell. Aus diesem Grund werden sämtliche weiteren Untersuchungen nur noch mit Hilfe des 5°-Schnittmodells durchgeführt. Mit diesem Modell mit 2,2 Millionen Gitterzellen beträgt die Rechenzeit für eine Simulation auf einem Rechencluster mit 16 Knoten und 256 Kernen bis zur Konvergenz unter 24 Stunden, während beim 360°-Vollmodell mit seinen 32,7 Millionen Zellen eine Simulation für eine Drehzahl auf demselben Cluster etwa einen Monat dauert.

Tabelle 14: Laminar-turbulenter Umschlag bei der ungestörten Strömung

	Spaltbreite Δr [mm]	Drehzahl n [1/min]	Re []
360°- Vollmodell Scherapparat Entwurf 1	1	1200	2626
5°-Schnittmodell Scherapparat Entwurf 2	0,5	2400	2626

Anzumerken ist weiterhin, dass die laminar-turbulenten Umschläge, die mit beiden Simulationsmodellen für destilliertes Wasser ermittelt wurden, von der Reynolds-Zahl deutlich über den Reynolds-Zahlen aus den experimentellen Untersuchungen liegen. Während der laminar-turbulente Umschlag im 5°-Schnittmodell bei destilliertem Wasser bei einer Drehzahl von 2400 U/min und einer Reynolds-Zahl von $Re=2626$ erfolgt, schlägt die Strömung im Experiment bereits bei Drehzahlen von um die 1500 U/min bzw. $Re=1641$ um, siehe Tabelle 12. Entweder die realen Störungen sind im Experiment so maßgeblich, dass die Strömung deutlich früher umschlägt, oder die Simulationen sagen den laminar-turbulenten Umschlag zu spät vorher, da die Strömung in der Simulation aufgrund eines falschen Modellierungsansatzes oder fehlender Störungen zu lange stabil bleibt.

Aus diesem Grund wurden Störungen auf die Anfangs- und Randbedingungen der Simulationen aufgeprägt. In Abschnitt 4.4.2 soll evaluiert werden, ob diese den Punkt des laminar-turbulenten Umschlags hin zu geringeren Reynolds-Zahlen verschieben.

Ergebnisse zur Übereinstimmung mit dem Stand der Forschung bei subkritischer Transition

Zunächst aber sollte anhand der ungestörten Simulationen untersucht werden, ob die grundlegenden Mechanismen, die laut aktuellem Forschungsstand zum laminar-turbulenten Umschlag führen sollen und in der aktuellen Literatur als Bausteine der Turbulenz bezeichnet werden (Eckhart, 2018), mit Hilfe des für diese Arbeit gewählten Modellierungsansatzes Grobstruktursimulation überhaupt auftreten.

Wie bereits in Abschnitt 2.3 erläutert, und entsprechend Nagata (1990), Waleffe (1995) und Eckhart (2018), werden Längsstreifen, also Schlieren (engl. *Streaks*) und stromabwärts gerichtete Wirbel von der Scherströmung selbst angetrieben. Mit Erhöhung der Dreh- und damit auch der Reynolds-Zahl wird die laminare Scherströmung immer anfälliger für die Störungen. Wenn dann zusätzlich nichtlineare Effekte auftreten, kann die Strömung lokal vom laminaren Zustand durch subkritische Bifurkationen zu

neuen dreidimensionalen Zuständen wechseln, die dann gleichzeitig mit dem laminaren Zustand existieren und zu Turbulenz führen können. (Eckhardt, 2018).

Abbildung 26 zeigt beispielhaft die Isofläche der Geschwindigkeit für 1 m/s nahe dem feststehenden Innenzylinder. Um die Ansicht detaillierter zeigen zu können, wurde die Geometrie 90° gegen den Uhrzeigersinn gedreht, sodass der Scherspalt „liegt“. Im oberen Teil ist etwa die Hälfte des Scherspalts zwischen Innen- und Außenzylinder abgebildet. Der untere Teil der Abbildung zeigt den Ausschnitt ganz rechts im oberen Bild nochmals vergrößert. Gut zu erkennen sind die beschriebenen Streaks, die unregelmäßig in der turbulent gewordenen Strömungssimulation auftreten.

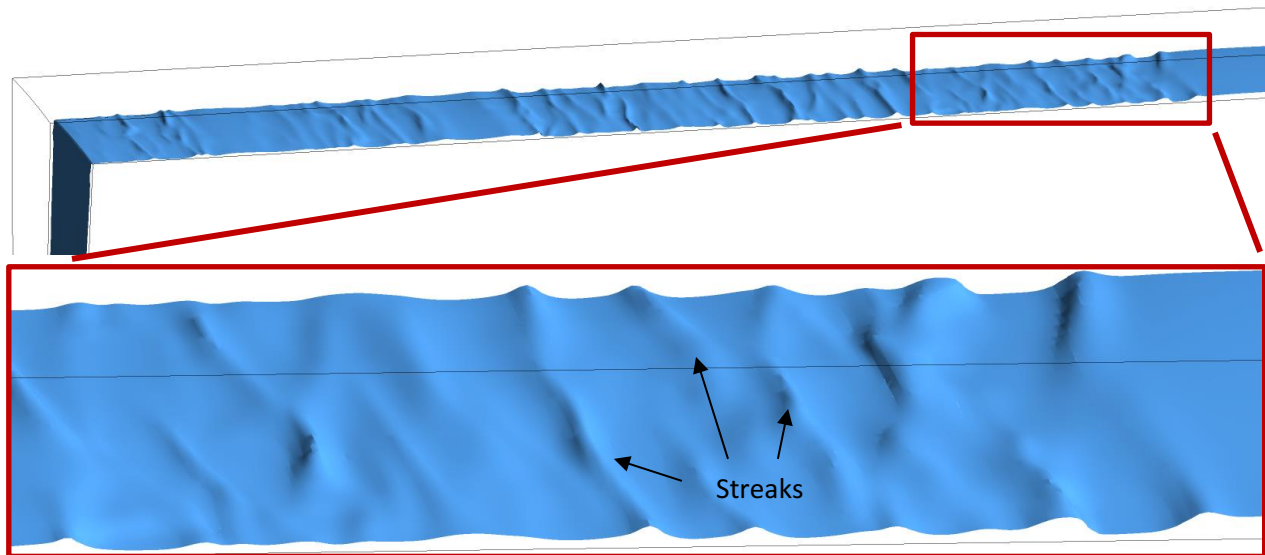


Abbildung 26: Wandnahe Isofläche der Geschwindigkeit für $V=1$ m/s im Scherspalt. (liegend für bessere Ansicht) und in vergrößerter Ansicht (unten). „Streaks“ in Hauptströmungsrichtung.

Abbildung 27 zeigt den zeitlichen Verlauf der Strömung im Scherspalt bei 2400 U/min nach 40000 (oben) und nach 80000 (unten) Zeitschritten. Diese beiden Zeitschritte wurden zuvor schon in Abbildung 25, 2.v.l. und 3.v.l. für das Q-Kriterium dargestellt, um die Relaminarisierung der Strömung zu zeigen. Bei relaminarisierter Strömung (Abbildung 27, unten) sind keinerlei Streaks oder andere Wirbel mehr erkennbar, die Isofläche der Geschwindigkeit ist glatt. So stellt 2400 U/min offensichtlich eine Übergangsdrehzahl dar, bei der durch Störungen Turbulenz existieren kann, aber nach kurzer Zeit schon wieder zerfällt. Gut zu erkennen ist weiterhin, dass sich die Isofläche im turbulenten Bereich viel näher an die Wand des feststehenden Innenzylinders anlegt, also dort größere Geschwindigkeiten vorherrschen.

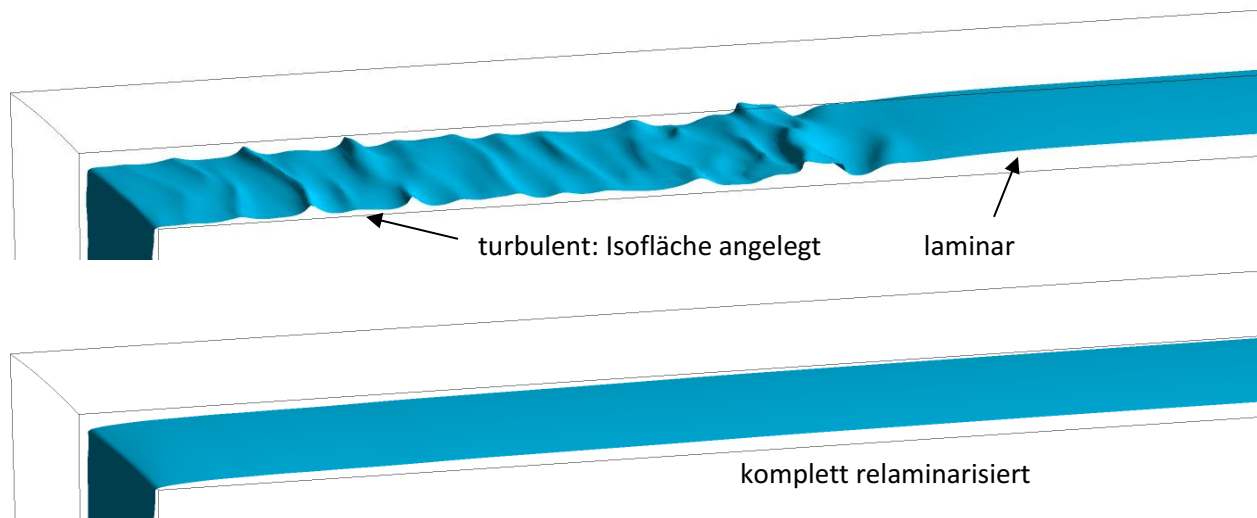


Abbildung 27: Wandnahe Isofläche der Geschwindigkeit ($v=1\text{ m/s}$) für 2400 U/min mit turbulenter Strömung (oben) und Relaminarisierung (unten)

Um nun ein vollständiges Bild über die Strömungsverhältnisse im Scherspalt zu erhalten, zeigt Abbildung 28 die Isoflächen der Geschwindigkeit in $0,5\text{ m/s}$ -Schritten für 2100 U/min (oben) und 3000 U/min (unten), sodass sie sich über den gesamten Scherspalt spannen. Die $0,5\text{ m/s}$ -Isofläche in der Nähe des Innenzylinders ist jeweils dunkelblau und ist in der um 90° gegen den Uhrzeigersinn gekippten Darstellung in Abbildung 28 die unterste Isofläche, während die Isoflächen mit den hohen Geschwindigkeiten nahe des angetriebenen Außenzylinders orange bis rot eingefärbt sind. Zu beachten ist an dieser Stelle weiter, dass bei unterschiedlichen Drehzahlen und damit Winkelgeschwindigkeiten des Außenzylinders und damit den Strömungsgeschwindigkeiten an der Wand des angetriebenen Außenzylinders die jeweiligen Isoflächen mit gleicher Nenngeschwindigkeit, z.B. $0,5\text{ m/s}$, nicht an derselben Stelle im Scherspalt liegen, da bei höherer Drehzahl der Geschwindigkeitsgradient im Spalt steigt. Die $0,5\text{ m/s}$ – Isofläche liegt bei höheren Drehzahlen aufgrund des höheren Geschwindigkeitsgradienten näher am Innenzylinder.

Deutlich sichtbar ist in Abbildung 28, wie bei 2100 U/min die Isoflächen als glatte Bänder erscheinen, während sie bei 3000 U/min in Wandnähe die in Abbildung 26 bereits beschriebenen Streaks ausbilden und in der Mitte des Scherspalts völlig verwirbelt wirken.

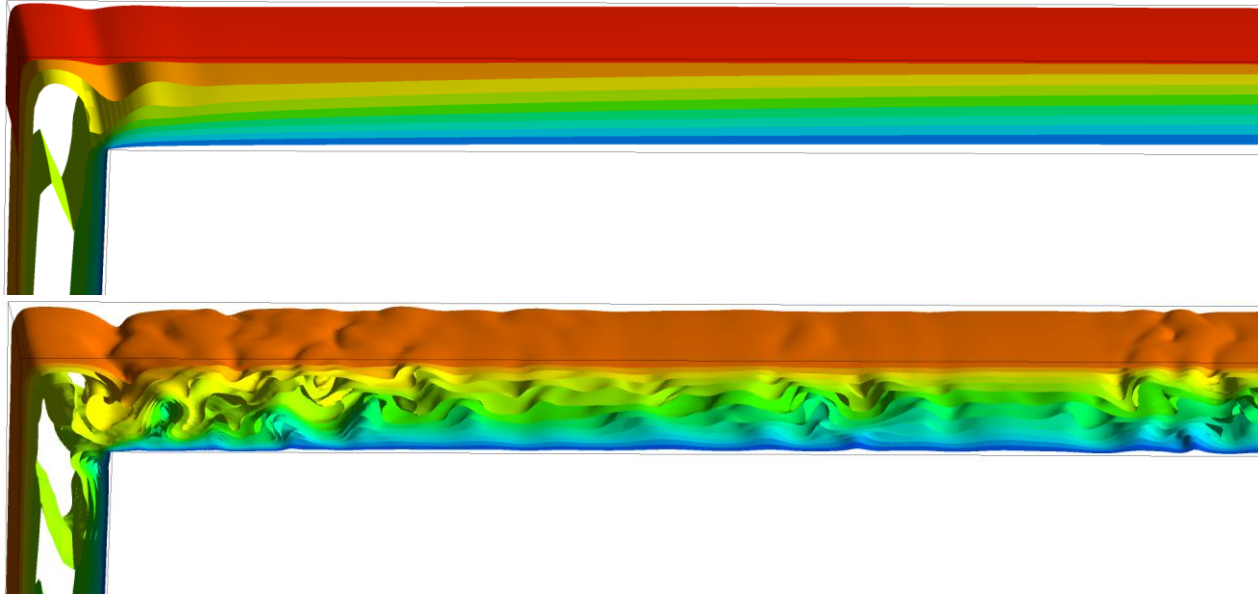


Abbildung 28: Isoflächen der Geschwindigkeit im Messspalt in $0,5 \text{ m/s}$ -Schritten: Oben: 2100 U/min mit glatten Isoflächen; Unten: 3000 U/min mit stark verwirbelten Isoflächen in der Mitte des Scherspalts und Streaks an den beiden wandnahen Isoflächen wie an der orangenen Isofläche in der Nähe des angetriebenen Innenzylinders.

In Abbildung 26 bis Abbildung 28 wird die Ausbildung von sogenannten stromabwärts gerichteten Streaks anhand des 5° -Modells gezeigt. In der Literatur (Waleffe, 1995; Eckardt, 2018) werden diese Streaks mit sich um die stromabwärts gerichtete Achse drehenden Wirbeln in Verbindung gebracht. Da in diesem Fall die azimuthale Komponente (Komponente in Umfangsrichtung) der Geschwindigkeit vielfach größer ist als die radiale und die axiale Komponente, lassen sich auf einem 5° -Ausschnitt des Modells diese Wirbel nur sehr schwer darstellen. Daher sollen die Wirbel in Abbildung 29 anhand von Stromlinien am 360° -Vollmodell gezeigt werden. Zunächst lassen sich aber in Abbildung 29 auch die bereits aus den Abbildung 26 bis Abbildung 28 bekannten Streaks beobachten, was bestätigt, dass sowohl das 5° -Modell als auch das 360° -Modell ähnliche Strömungen mit ähnlich induzierten Effekten vorhersagt. Weiterhin fällt die endliche Länge der Streaks auf, die sich zwar nicht ein- oder mehrmals um den Innenzylinder wickeln, aber dennoch länger als der 5° -Ausschnitt eben dieses Modells sind. Die Stromlinien zeigen über ca. $1/3$ des Umfangs bereits eine leichte Verflechtung bzw. Verdrillung.

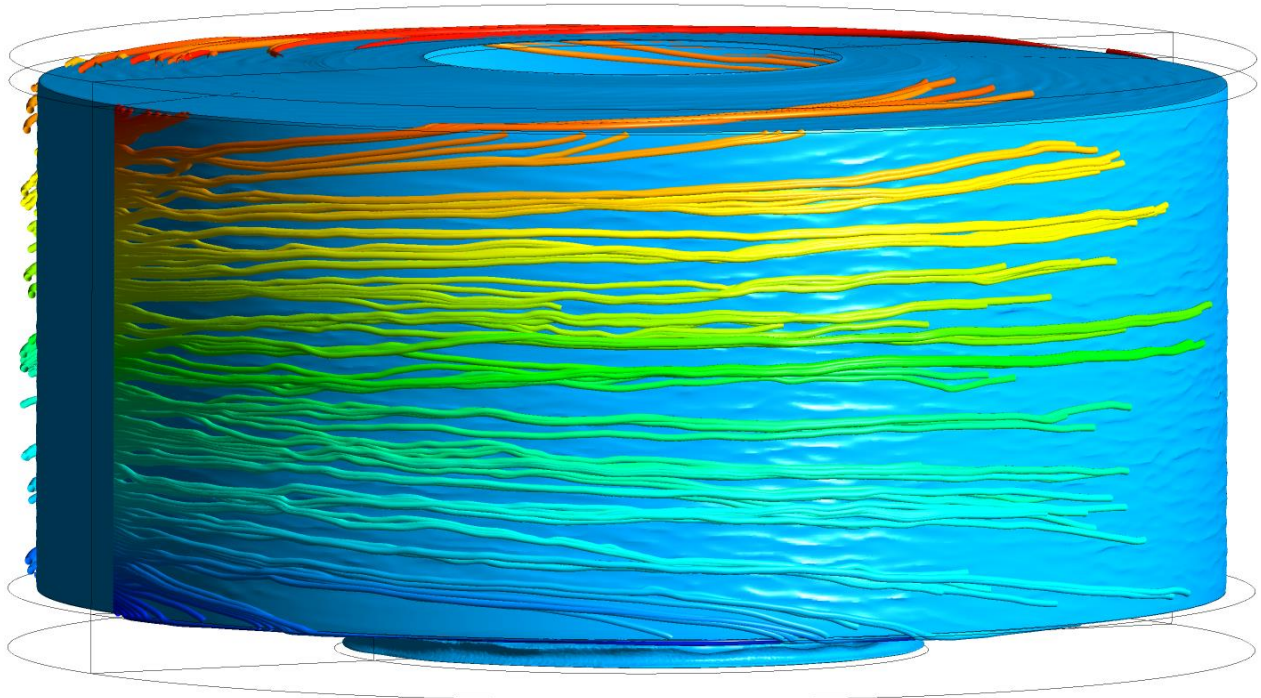


Abbildung 29: Scherapparat-Vollmodell - Isofläche der Geschwindigkeit 1 m/s zeigt ebenfalls Streaks in Strömungsrichtung. Davor wurden Stromlinien gelegt, die am Innenzylinder gestartet sind. Diese vereinigen sich zu Bündeln, die sich wirbelartig umeinanderwickeln und die zusammen mit den Streaks auftreten stromabwärts gerichteten Wirbel andeuten.

Zusammengefasst scheinen also sowohl Streaks als auch die stromabwärts gerichteten Wirbel in den hier durchgeführten Simulationen aufzutreten, was dafür spricht, dass die Grobstruktursimulation grundsätzlich in der Lage ist, die nach aktuellem Stand der Forschung wirkenden Mechanismen bei der Entstehung des laminar-turbulenten Umschlags abzubilden. Lediglich die Reynolds-Zahl des Umschlags scheint ohne aufgeprägte Störung nicht richtig vorhergesagt zu werden.

4.4.2 Stimulation der Transition bei geringen Drehzahlen: Aufprägen von Störungen in der Simulation

In den experimentellen Untersuchungen fand der laminar-turbulente Umschlag mit destilliertem Wasser und PBS-LSM bei $Re \approx 1600$ statt, also bei deutlich geringeren Reynolds-Zahlen als in den Grobstruktursimulationen mit $Re \approx 2600$. Es ist also zu vermuten, dass in den realen Experimenten die Strömung früher und/oder stärker gestört wird als unter den idealen Simulationsbedingungen.

Aus diesem Grund wurden verschiedene Versuche unternommen, durch Aufprägen einer Störung unterhalb einer Drehzahl von 2400 U/min eine turbulente Strömung zu erzeugen, die zumindest nicht sofort wieder relaminarisiert, sondern wenigstens für einige Zeit turbulent bleibt.

Während Ostilla-Monico et al. (2016) berichten, dass deren mit weißem Rauschen in der Größenordnung der Geschwindigkeit des Außenzylinders initialisierte Simulationen zu Turbulenz führen, hat sich die Strömung bei allen in Abschnitt 3.5.2 beschriebenen Varianten zur Aufprägung einer Störung auf das Geschwindigkeitsfeld bei entweder 1500 U/min oder 1800 U/min immer nach wenigen tausend Zeitschritten relaminarisiert. Im Unterschied zu den hier beschriebenen Untersuchungen haben Ostilla-

Monico et al. (2016) jedoch DNS-Simulationen mit feinerem Gitter durchgeführt, die im Rahmen dieser Arbeit selbst nicht sinnvoll waren, im Anschluss an diese Arbeit aber weiter untersucht werden sollen.

4.5 Ergebnisse zur Bestimmung der Geschwindigkeits- und Scherratenprofile mit Hilfe der CFD-Simulationen

Destilliertes Wasser

CFD-Simulationen wurden für destilliertes Wasser, PBS-LSM und PBS-Ficoll durchgeführt. Zum Zeitpunkt der ersten Simulationen und der Entwicklung des 360°-Vollmodells gab es noch keine Festlegung auf ein Medium. Deshalb wurden alle CFD-Simulationen bis dahin mit destilliertem Wasser durchgeführt. Zu Vergleichszwecken mit dem 360°-Vollmodell sollen an dieser Stelle deshalb ebenfalls die Geschwindigkeits- und Scherratenverteilung für destilliertes Wasser aufgezeigt werden. Im Anschluss an diesen Abschnitt werden für die Drehzahl 3000 U/min die Medien PBS-LSM mit einer dynamischen Viskosität von ca. 2,1 mPa*s und PBS-Ficoll mit einer dynamischen Viskosität von 6,6 mPa*s verglichen.

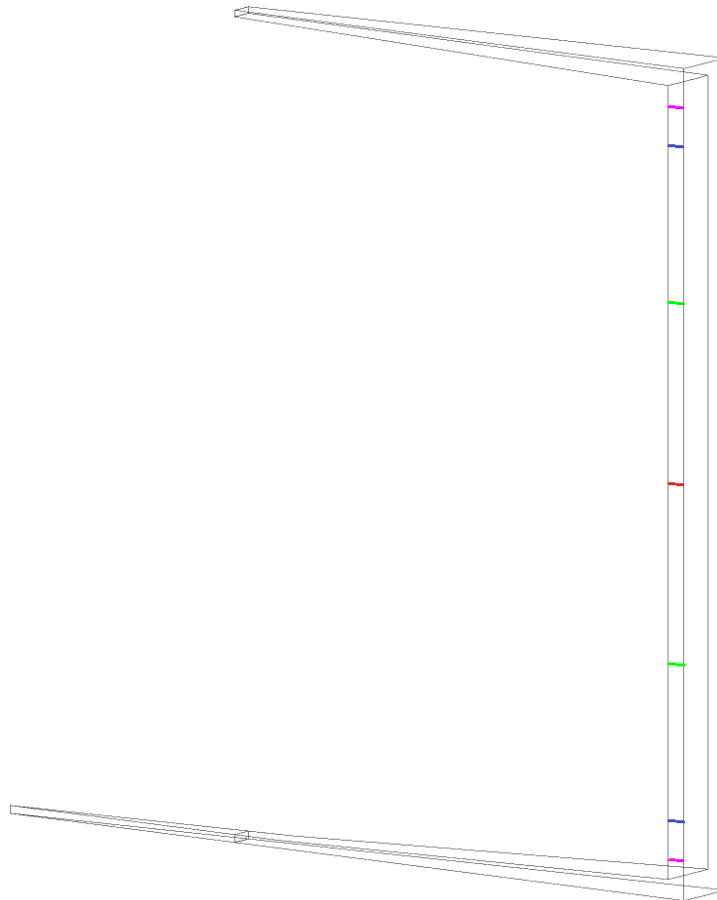


Abbildung 30: Positionen der aufgenommenen Geschwindigkeits- und Scherratenverläufe aus Abbildung 31 bis Abbildung 34

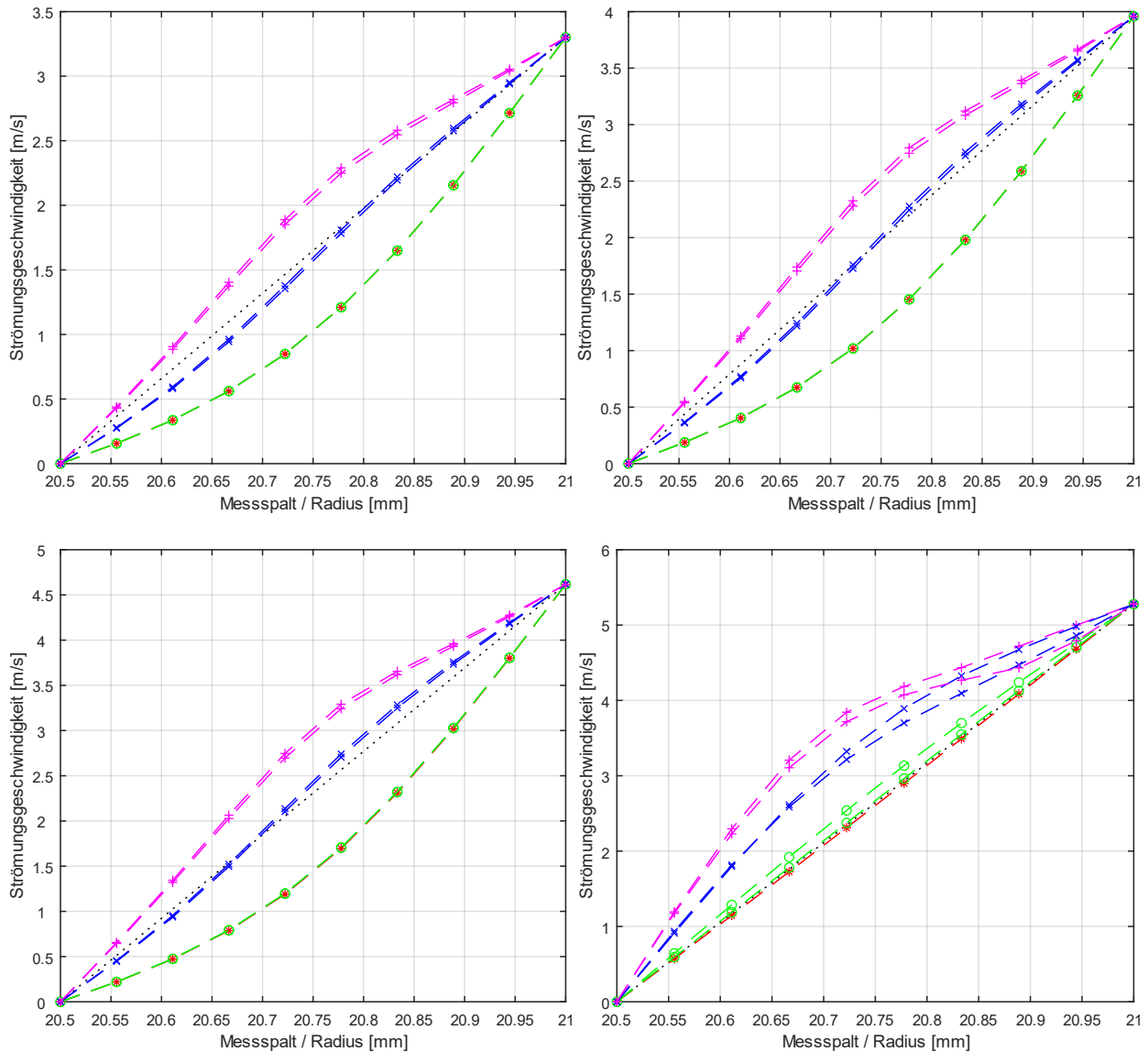


Abbildung 31: Geschwindigkeitsprofil im Messspalt für die Drehzahlen 1500 U/min (oben links), 1800 U/min (oben rechts), 2100 U/min (unten links) und 2400 U/min (relaminarisiert, unten rechts)

Abbildung 31 und Abbildung 32 zeigen die Geschwindigkeitsprofile über den Messspalt von $r=20,5\dots 21$ mm an 7 verschiedenen vertikalen Positionen: 1 mm, 2 mm und 6 mm jeweils von Boden und Deckel entfernt und (vertikal) in der Mitte des Messspalts bei 10,6 mm, siehe Abbildung 30. Während in Abbildung 31 die Plots bei den Drehzahlen, die zu laminarer Strömung führen, also 1500 U/min, 1800 U/min und 2100 U/min, alle ähnlich aussehen, sticht die relaminarisierte Strömung bei 2400 U/min insofern heraus, dass dort kein starker Abfall des Geschwindigkeitsprofils vom Außenzyylinder hin zum Innenzyylinder auftritt. In Abbildung 32 sind die Strömungsprofile mit turbulenter Strömung abgebildet und zusätzlich noch einmal die relaminarisierte Strömung bei 2400 U/min (oben rechts), die sich aus der turbulenten Strömung bei 2400 U/min (oben links) herausgebildet hat. Wie bei turbulenten Strömungen zu erwarten, unterscheiden sich die Strömungsprofile etwas stärker voneinander, da die Geschwindigkeitsvektoren weniger geordnet und gleichgerichtet sind. Bei 2400 U/min (turbulent) haben zwei der Plots einen

Wendepunkt, bei 2700 U/min hat das Geschwindigkeitsprofil an 5 Stellen einen Wendepunkt und bei 3000 U/min haben sämtliche Geschwindigkeitsprofile an allen Stellen mindestens einen Wendepunkt. Bereits Lord Rayleigh hat gezeigt, dass Geschwindigkeitsprofile mit Wendepunkt instabil sind (Schlichting & Gersten, 2006). Außerdem sorgen die damit verbundenen starken Anstiege der Geschwindigkeitsprofile sowohl nahe der Innenzylinder- als auch Außenzylinderwand und der sehr geringe Anstieg in der Mitte des Messspalts dafür, dass die Scherrate sehr inhomogen im Messspalt verteilt ist. Allein deshalb sind turbulente Strömungen zum Aufbringen einer definierten Scherung auf Zellen im Messspalt abhängig von der eingestellten Drehzahl und damit globalen Scherrate schlechter geeignet.

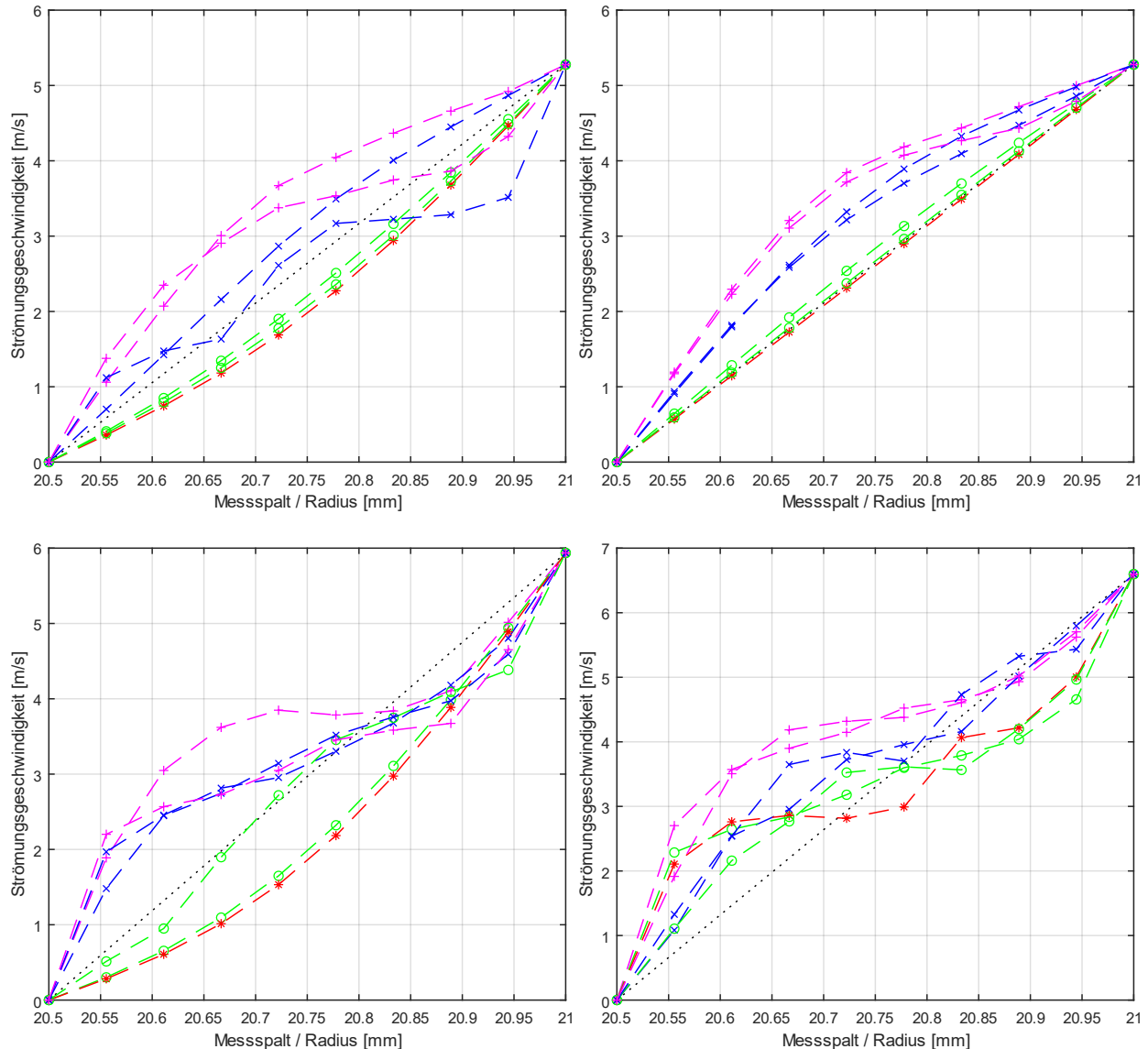


Abbildung 32: Geschwindigkeitsprofil im Messspalt für die Drehzahlen 2400 U/min (turbulent, oben links und relaminarisiert, oben rechts), sowie 2700 U/min (unten links) und 3000 U/min (unten rechts)

Die Strain Rate, ein Skalar, der aus den Ableitungen der drei Geschwindigkeitskomponenten u , v , w nach den drei Raumrichtungen x , y , z (Deformationsgeschwindigkeitsvektor) errechnet wurde, ist für die

Drehzahlen mit laminarer Strömung in Abbildung 33 und für die Drehzahlen mit turbulenter Strömung in Abbildung 34 aufgetragen.

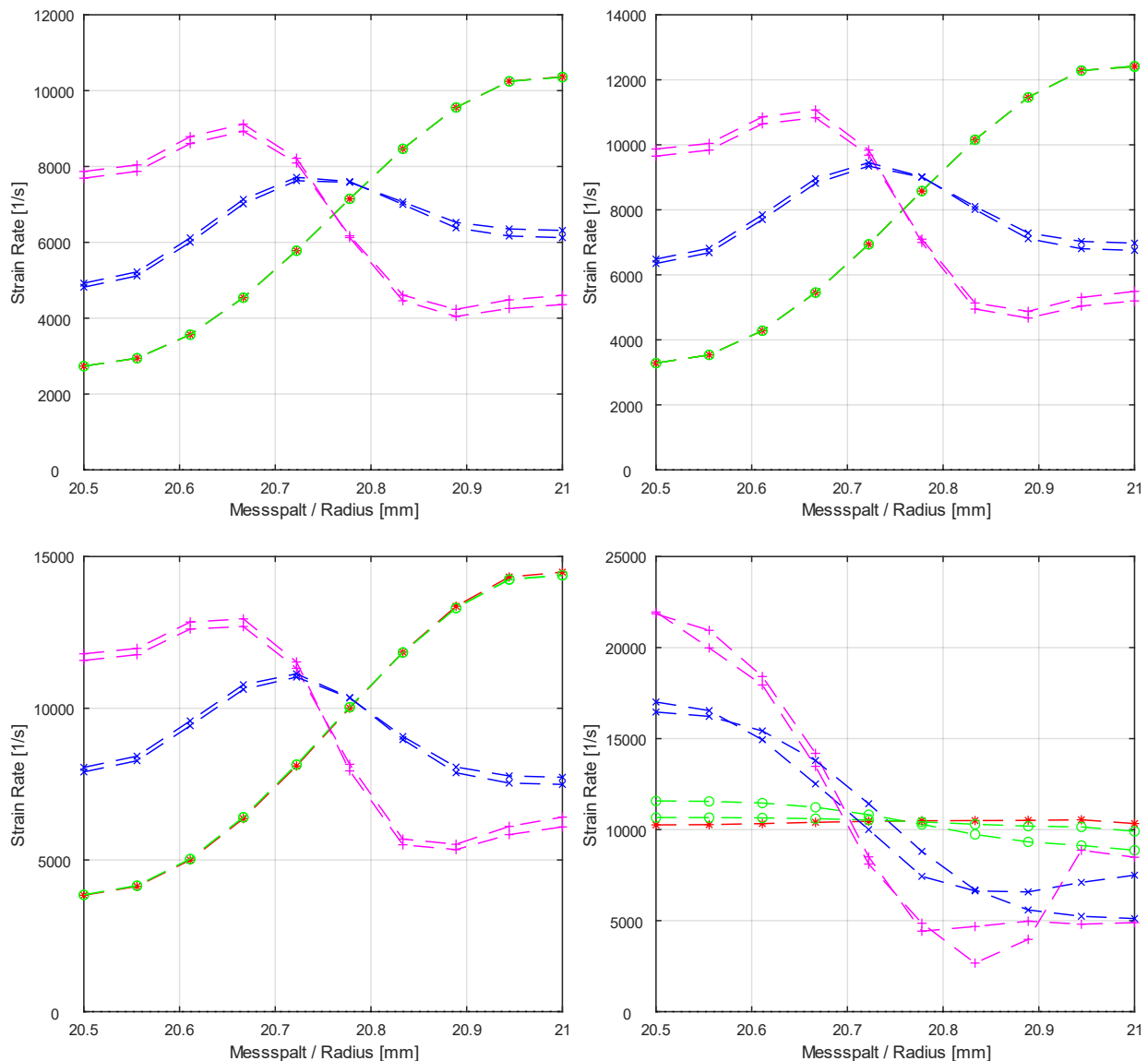


Abbildung 33: Verteilung der Scherrate im Messspalt für die Drehzahlen 1500 U/min (oben links), 1800 U/min (oben rechts), 2100 U/min (unten links) und 2400 U/min (relaminarisiert, unten rechts)

Entsprechend den Geschwindigkeitsprofilen in Abbildung 31 sehen auch die Scherratenprofile über den Messspalt bei den geringen Drehzahlen in Abbildung 33 sehr ähnlich aus, mit höherer Drehzahl lediglich auf höherem Niveau. Da das Geschwindigkeitsprofil bei 2400 U/min (relaminarisiert) sich bereits deutlich von den anderen laminaren Geschwindigkeitsprofilen unterscheidet, hat auch das Profil der Scherrate einen deutlich anderen Verlauf, außerdem variiert sie über den Spalt mit ca. 3000-22000 1/s fast doppelt so stark wie bei den anderen laminaren Drehzahlen 1500 U/min, 1800 U/min und 2100 U/min. Diese Verläufe der Scherrate über den Spalt, isoliert betrachtet, könnten zu dem Schluss führen, dass die Ungleichheit der Scherrate bei 2400 U/min (relaminarisiert) höher ist als bei den geringeren Drehzahlen.

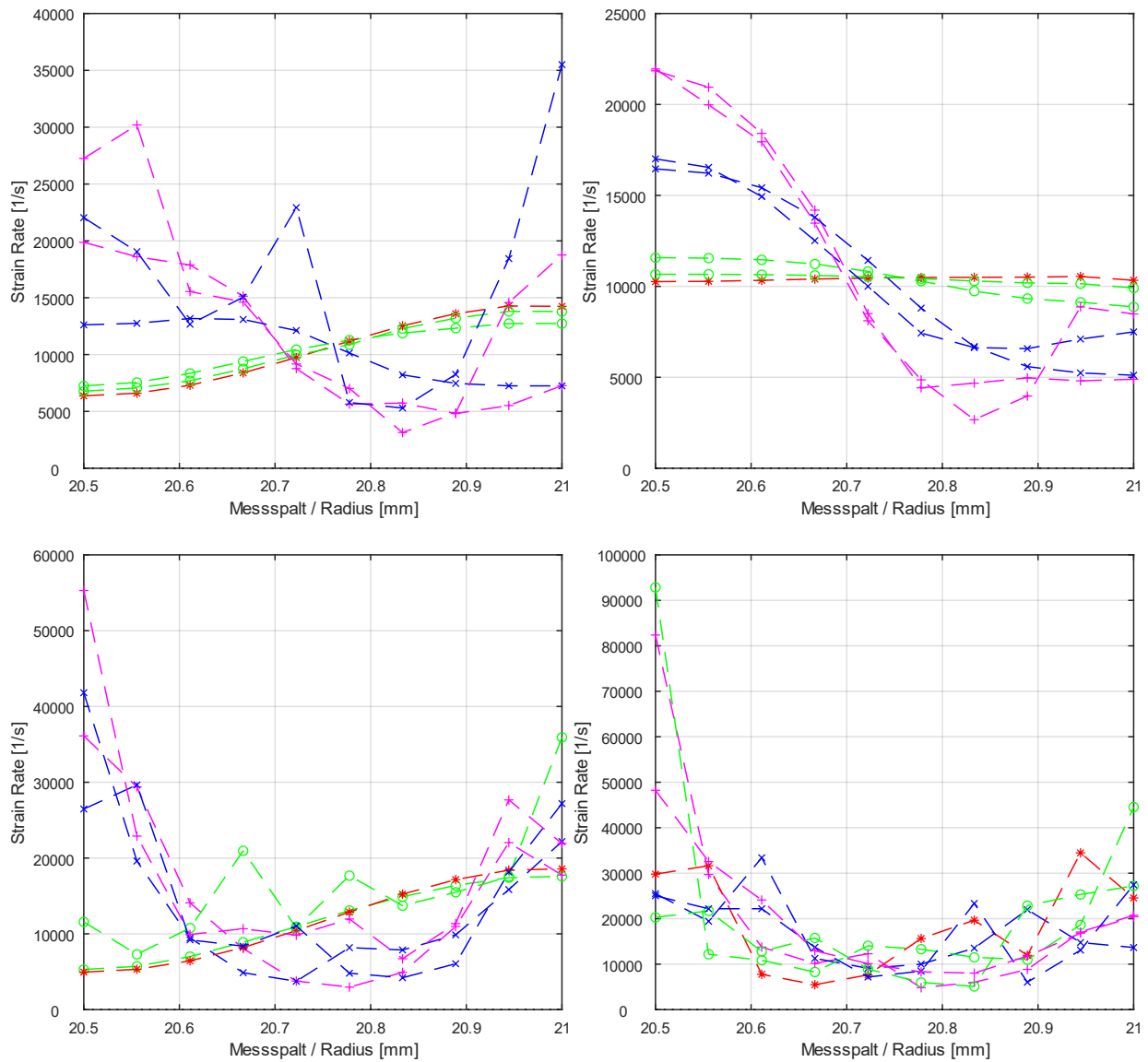


Abbildung 34: Profil der Scherrate im Messspalt für die Drehzahlen 2400 U/min (turbulent, oben links und relaminarisiert, oben rechts), sowie 2700 U/min (unten links) und 3000 U/min (unten rechts)

Die Verläufe der Scherrate für die Drehzahlen, bei denen die Strömung turbulent wird, sind in Abbildung 34 abgebildet. Am Innenzylinder treten mit steigender Drehzahl immer größere Scherraten auf, siehe Abbildung 34 unten links und unten rechts. Aber auch im Rest des Spaltes variiert die Scherrate mit zunehmender Drehzahl immer stärker. Die sehr hohen Scherraten bei 2700 U/min und 3000 U/min treten im Histogramm in Abbildung 36 allerdings so vereinzelt auf, dass sie dort aufgrund zu kleinem Volumenanteil gar nicht mehr aufgeführt sind.

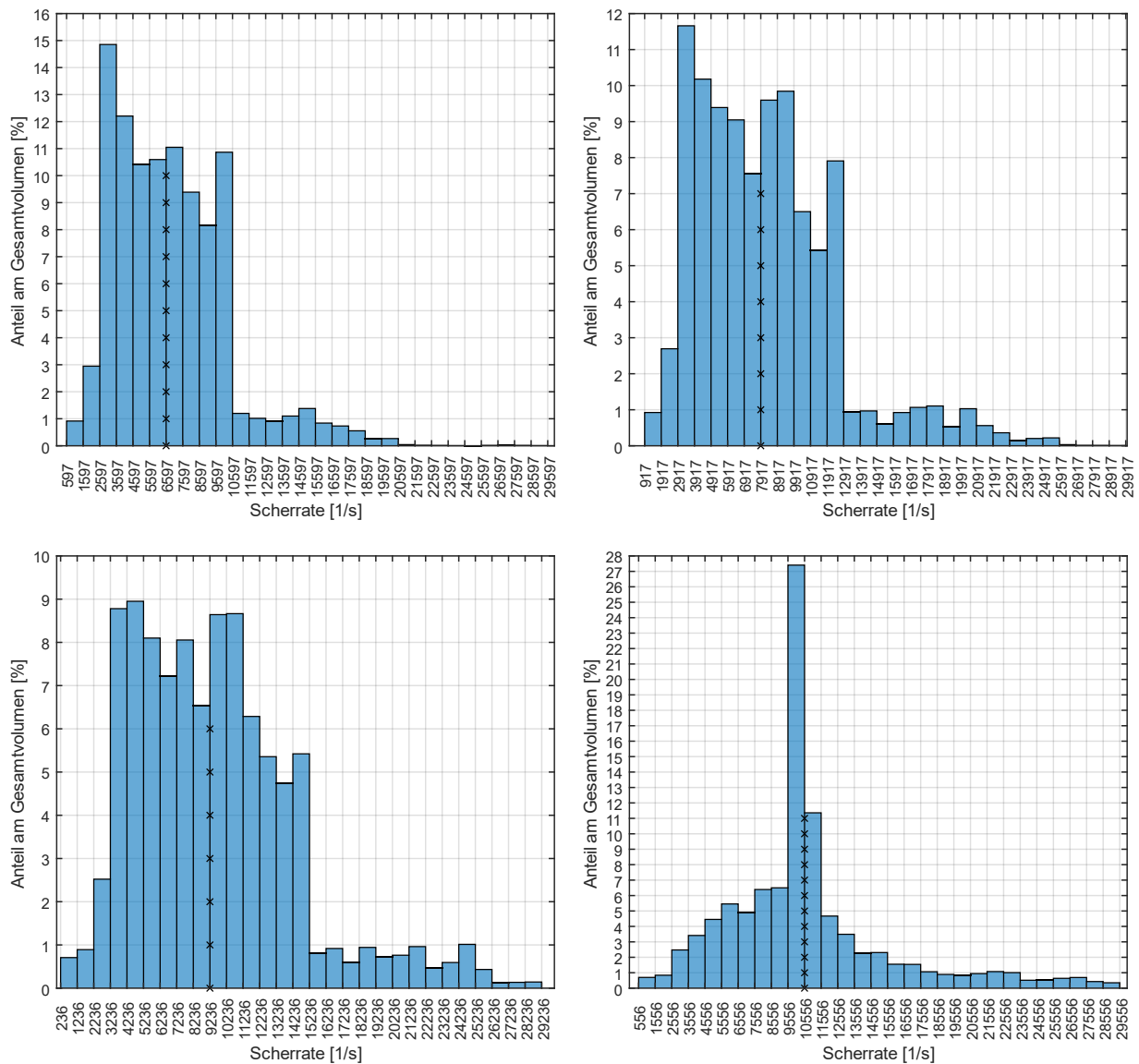


Abbildung 35: Histogramme zur Verteilung der Scherrate im Messvolumen: 1500 U/min (oben links); 1800 U/min (oben rechts); 2100 U/min (unten links); 2400 U/min relaminarisiert (unten rechts); globale Scherrate mit Kreuzen markiert

Um quantitativ abschätzen zu können, in welchem Umfang die Zellen welcher Scherrate ausgesetzt sind, sind die reinen Verläufe der Scherrate über den Messspalt um Histogramme der Scherrate (s. Abbildung 35 und Abbildung 36) ergänzt, sodass der Volumenanteil in Prozent, in dem Scherraten in einem Intervall (Bin) von jeweils 1000 1/s wirken, abgelesen werden kann. Die Intervalle sind jeweils um die globale Scherrate der entsprechenden Drehzahl nach Gl. (41) angeordnet, d.h. die Grenzen der Intervalle liegen in 1000er-Schritten um die globale Scherrate bei entsprechender Drehzahl. Bei 1500 U/min ist die globale Scherrate z.B. 6597 1/s, bei 1800 U/min entsprechend 7917 1/s und in den Histogrammen jeweils durch Kreuze markiert.

Die ersten vier Histogramme in Abbildung 35 zeigen die Verteilung der Scherrate bei 1500, 1800, 2100 und 2400 U/min. Die ersten drei Fälle blieben die Simulationen grundsätzlich laminar, während bei 2400 U/min

(rechts unten) die Strömung am Anfang turbulent wurde und mit zunehmender Simulationsdauer relaminarisiert.

Während sich bei 1500, 1800 und 2100 U/min die Histogramme ähneln, mit einem hohen Volumenanteil an Scherraten nahe der theoretisch errechneten globalen Scherrate und mit steigender Drehzahl breiter werdendem Bereich, erscheint die Verteilung der Scherrate bei 2400 U/min nach Relaminarisierung auf einen sehr geringen Bereich um die globale Scherrate eingeeengt worden zu sein. So liegen bei 1500 U/min große Bereiche des gesamten Messvolumens bei +/- 4000 1/s um die globale Scherrate von 6597 1/s mit fast 90% des gesamten Messvolumens. Bei 1800 U/min sind es auch knapp 90%, jedoch in einem etwas breiteren Bereich von +/- 5000 1/s um die globale Scherrate von 7917 1/s, ebenso wie bei 2100 U/min, wo in circa 90% des Messvolumens Scherraten in einem (noch etwas breiteren) Bereich von +/- 6000 1/s um die globale Scherrate von 9236 1/s auftreten. Lediglich bei 2400 U/min, nach einiger Simulationszeit, wenn die Strömung relaminarisiert ist, sieht die Verteilung der Scherrate völlig anders aus als bei den ersten drei Histogrammen. Hier gibt es einen schmalen Bereich von -1000 1/s um die globale Scherrate von 10556 1/s, der sich über fast 27 % des Messvolumens erstreckt und einen kleineren Bereich von +1000 1/s, der sich über ca. 11 % des Messvolumens erstreckt. Es liegen damit also ca. 38% des Messvolumens in Bereichen mit +/- 1000 1/s um die globale Scherrate, die per Drehzahl eingestellt wird und weitere circa 40 % im Bereich von +/- 1000 1/s bis +/- 6000 1/s.

Abbildung 36 zeigt hingegen die Histogramme der Scherrate für die turbulenten Drehzahlen 2400 U/min turbulent (oben links) und relaminarisiert (oben rechts) sowie 2700 U/min (unten links) und 3000 U/min (unten rechts). Der Bereich mit ähnlich großer Scherrate ist bei 2400 U/min (turbulent) ähnlich den laminaren Zuständen in Abbildung 35 und unterscheidet sich signifikant sowohl vom relaminarisierten Zustand bei 2400 U/min als auch von den turbulenten Fällen bei 2700 und 3000 U/min. Gemein haben alle drei turbulenten Fälle, dass die Symmetrie der lokalen Scherratenverteilung um die jeweilige globale Scherrate verlorengeht. So erstreckt sich bei 2400 U/min der Bereich geringerer Scherraten (4556 bis 10556 1/s) insgesamt über 45 Prozent des gesamten Messvolumens, während sich der Bereich höherer Scherraten (10556 bis 16556 1/s) lediglich über ca. 34 Prozent des Messvolumens erstreckt.

Auch der Anstieg, der in den laminaren Fällen (mit 1000 1/s – Intervallen) abrupt von ca. 1-2 Prozent bei den kleinen Scherraten auf 5 Prozent des Messvolumens bei den Scherraten nahe der globalen Scherrate, teilweise aber auch bis hinauf auf 15 Prozent des Messvolumens steigt, steigt in den turbulenten Fällen in deutlich kleineren Schritten an. Bei den höheren Drehzahlen mit turbulenter Strömung (2700 U/min und 3000 U/min) fällt die Scherrate zusätzlich äußerst flach ab, sodass noch große Bereiche des Messvolumens und damit die Zellen selbst Scherraten weit entfernt von der globalen Scherrate erfahren.

Mit Hilfe der Histogramme in Abbildung 35 und Abbildung 36 können die Verläufe der Scherrate im Messspalt besser eingeordnet werden. So kann mit Hilfe der Histogramme die Erkenntnis gewonnen werden, dass die hohen Scherraten, die beispielsweise bei 2400 U/min (relaminarisiert) nahe des Innenzylinders auftreten, nur ganz vereinzelt vorkommen. Insgesamt treten bei 2400 U/min (relaminarisiert) die Scherraten ab 20000 1/s in deutlich unter 10 % des Schervolumens auf.

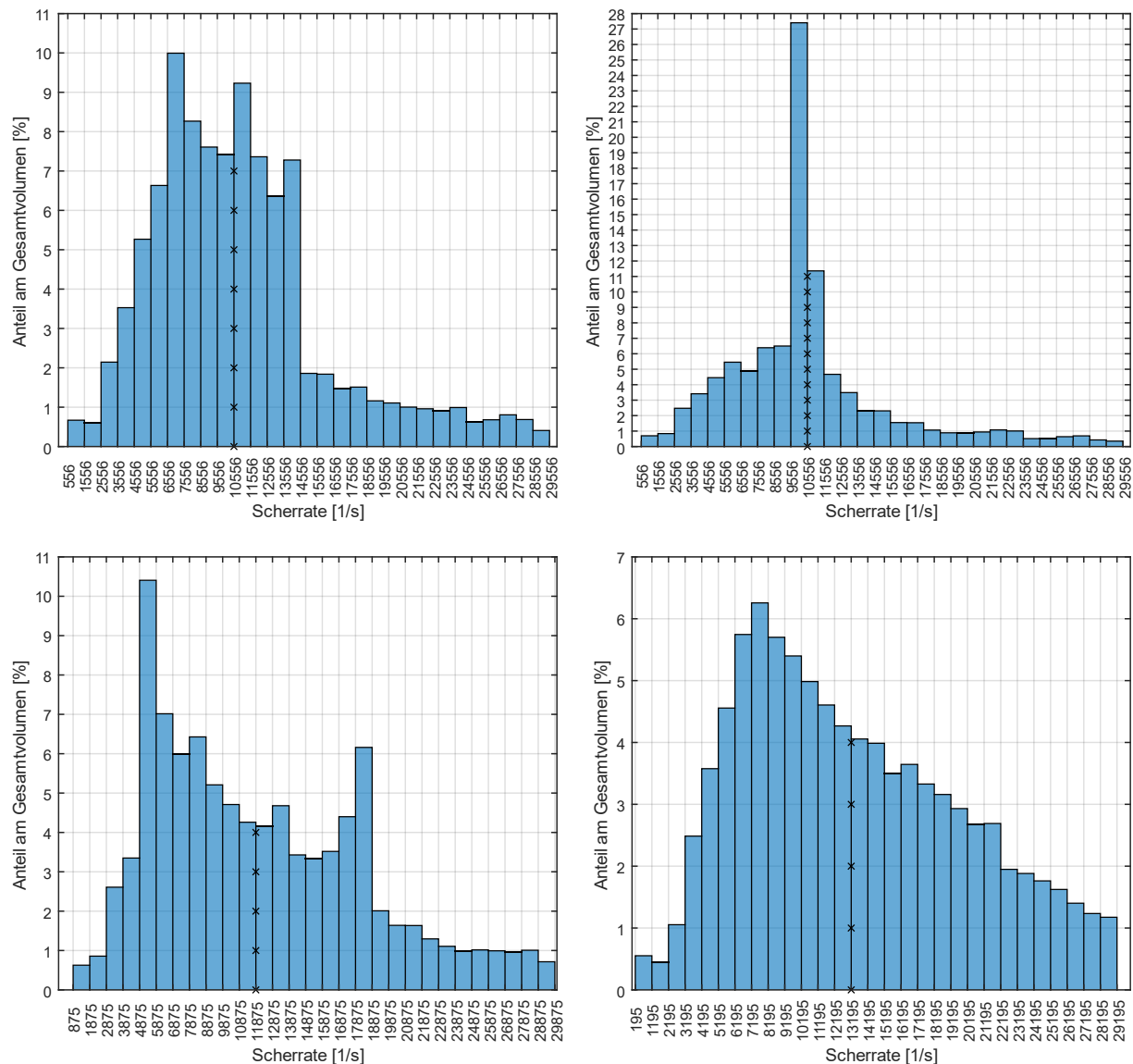


Abbildung 36: Histogramme zur Verteilung der Scherrate im Messvolumen: 2400 U/min turbulent (oben links); 2400 U/min relaminarisiert (oben rechts); 2700 U/min (unten links); 3000 U/min (unten rechts); globale Scherrate mit Kreuzen markiert

Um die Ergebnisse in Abbildung 35 und Abbildung 36 besser deuten zu können, sind die Contourplots der Strain Rate noch einmal in Abbildung 37 dargestellt.

Es wird ebenfalls deutlich, warum in der relaminarisierten Strömung bei 2400 U/min in Abbildung 36 oben rechts ein solch hoher Einzelwert bei (9556-10556 1/s), der mehr als 27% des gesamten Messvolumens einnimmt, auftritt. Anstatt über den gesamten Messspalt eine leicht variierende Scherrate zu haben, wird die Scherrate (vertikal gesehen) zu Mitte des Messspalts hin konstant, sogar konstanter als bei 1500 U/min (Abbildung 37 oben links). Die Bereiche mit turbulenter Strömung bei 2400 U/min und 3000 U/min sehen in den Contourplots ähnlich aus, jedoch sind laut dem Histogramm in Abbildung 36 bei 3000 U/min die höheren Scherraten sehr viel stärker vertreten als bei 2400 U/min, da die höheren Scherraten insbesondere in den turbulenten Bereichen der Strömung auftreten, die bei 3000 U/min größer sind.

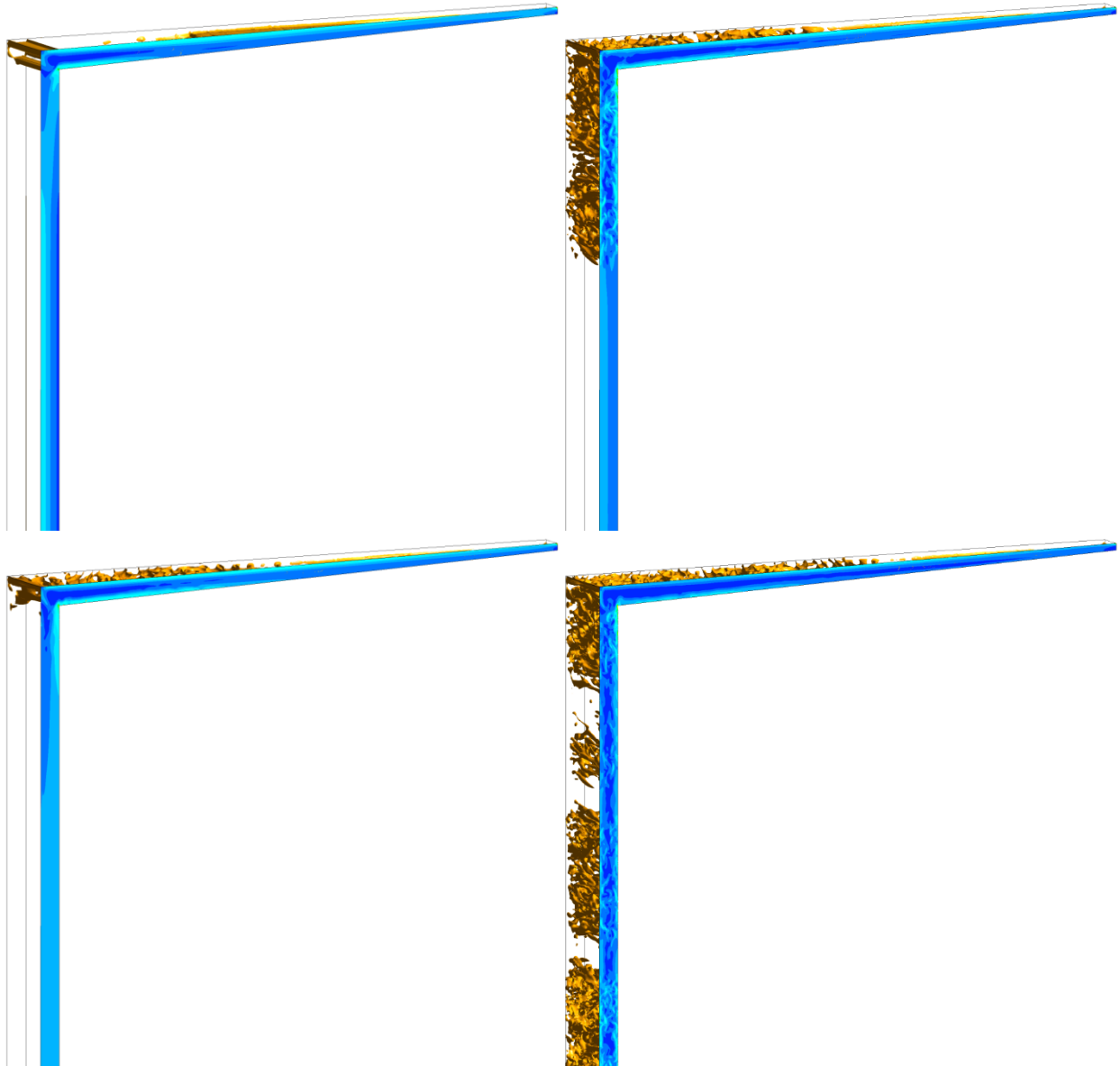


Abbildung 37: Contourplots der Scherrate für 1500 U/min (oben links), 2400 U/min turbulent (oben rechts), 2400 U/min relaminarisiert (unten links) und 3000 U/min (unten rechts), jeweils hinterlegt mit der Isofläche des Q-Kriteriums

In Abbildung 38 sind die Histogramme der Scherrate zusätzlich für PBS-LSM (oben) und PBS-Ficoll (unten) bei den Drehzahlen 1800 U/min und 2100 U/min abgebildet. Dabei wird besonders deutlich, dass mit zunehmender Viskosität des Mediums in immer größeren Bereichen des Schervolumens Scherraten nahe der globalen Scherrate auftreten. Während bei PBS-LSM sowohl für 1800 U/min als auch 2100 U/min in fast 80 % des Schervolumens Scherraten um ± 2000 1/s um die globale Scherrate auftreten, ist der Bereich für PBS-Ficoll noch schmaler geworden, mit Scherraten von ± 1000 1/s um die globale Scherrate in 85 % des Schervolumens. Auch der Vergleich mit destilliertem Wasser in Abbildung 35 bestätigt dieses Verhalten. Hier sind bei den Drehzahlen 1800 U/min und 2100 U/min die Scherraten um ± 5000 bis 6000 1/s um die globale Scherrate verteilt, während sie sich über etwa 85 % des Schervolumens erstrecken.

Diese Ergebnisse zeigen, dass höherviskose Medien wie PBS-Ficoll nicht nur die Strömung bis zu höheren Drehzahlen laminar halten, sondern auch die Scherrate enger um die globale und damit über die Drehzahl eingestellte Scherrate anordnen.

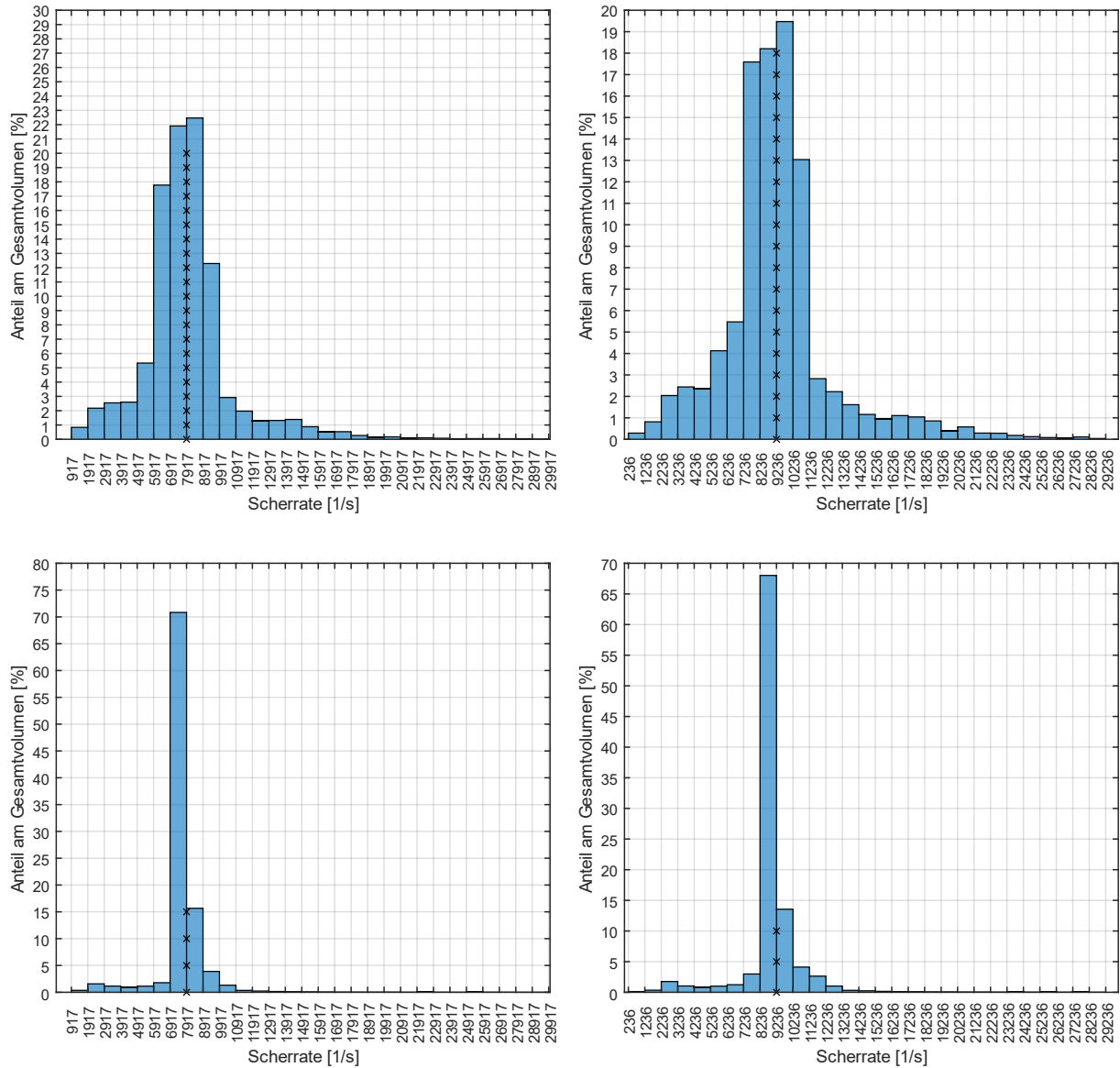


Abbildung 38: Histogramme zur Verteilung der Scherrate im Messvolumen; PBS-LSM 1800 U/min (oben links); PBS-LSM 2100 U/min (oben rechts); PBS-Ficoll 1800 U/min (unten links); PBS-Ficoll 2100 U/min (unten rechts); globale Scherrate mit Kreuzen markiert

4.6 Bestimmung der Probenerwärmung aufgrund und während der Scherung

Um sicherzustellen, dass die untersuchten mesenchymalen Stammzellen nicht durch die übermäßige Erwärmung der Probe geschädigt werden, sondern rein durch die Scherung, wurde eine Versuchsreihe zur Messung der Schererwärmung durchgeführt. Die Temperatur-Messwerte für die Probenerwärmung sind in Abbildung 39 aufgetragen.

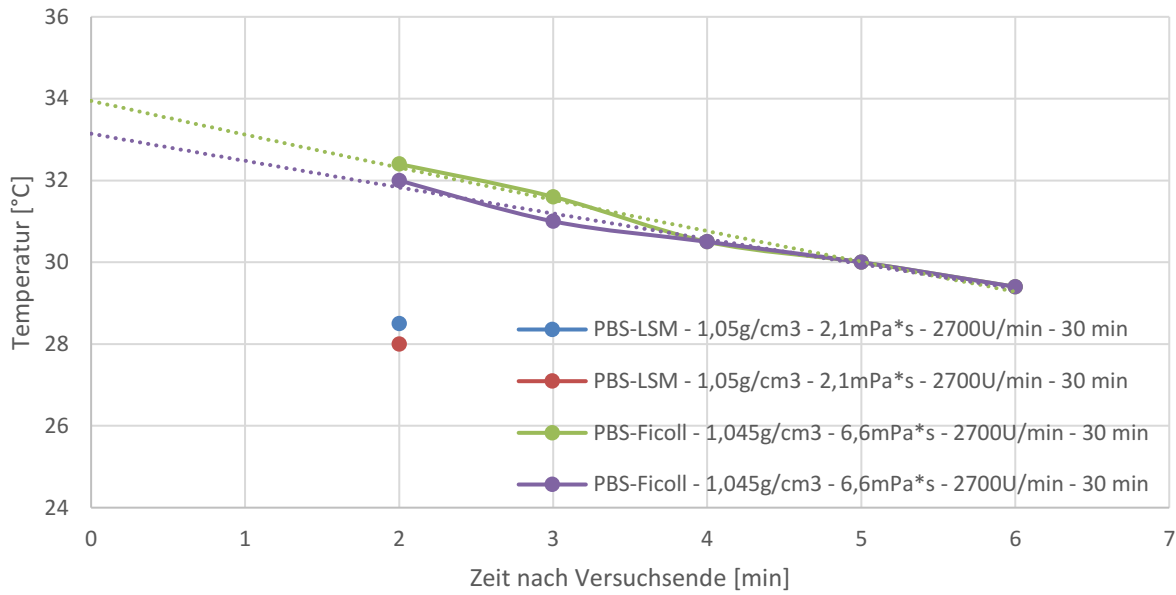


Abbildung 39: Erwärmung der Probe bei 2700 U/min nach 30 Minuten mit zwei unterschiedlichen Temperatursensoren (Typ-K-Thermoelemente) für PBS-LSM (rot, blau) und PBS-Ficoll (lila, grün). Für PBS-Ficoll wurde zusätzlich mit beiden Sensoren nach Öffnen des Deckels (2 min) eine Zeitreihe der Temperatur aufgenommen und jeweils exponentiell zurück auf das Versuchsende (0 min) extrapoliert

Für PBS-LSM wurde nach 30 min mit 2700 U/min die Temperatur mit zwei Typ-K-Thermoelementen aufgenommen und auf 28 bis 29 °C bestimmt.

Für PBS-Ficoll wurde mit beiden Thermoelementen zusätzlich jeweils eine Reihe von vier weiteren Messwerten im Abstand von jeweils einer Minute genommen, über die dann exponentiell zurück auf das Versuchsende nach 30 Minuten extrapoliert wurde, da Temperaturabfälle typischerweise exponentiell verlaufen. Dabei zeigte sich, dass für die sich höher erheizende PBS-Ficoll-Probe die Temperaturen deutlich unter der kritischen Temperatur von 40°C bleiben und sogar unter den bei Menschen üblichen 37°C Körpertemperatur. Allerdings kann die Probenerwärmung durch die Scherung bei Drehzahlen jenseits der 3000 U/min kritisch für Zellen werden, da die Probe sich stärker erwärmen wird.

Dieser Versuch gilt entsprechend auch für andere Medien gleicher Viskosität, die 30 min bei 2700 U/min im Scherapparat mit 0,5 mm-Spalt geschert wurden.

Dieser Untersuchung zufolge ist es sehr unwahrscheinlich, dass bei den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Zellversuchen die Zellen höhere Temperaturen als 40°C erfahren haben und damit die Ergebnisse zur Scherung verfälscht wurden.

4.7 Bestimmung der Scherbelastbarkeit mesenchymaler Stammzellen im Scherapparat

In diesem Abschnitt werden schließlich die Ergebnisse zur Aufprägung von Scherung auf Zellen, für die der Scherapparat entwickelt wurde, am Beispiel mesenchymaler Stammzellen vorgestellt. Die durchgeführten Zellversuche sind in Abschnitt 3.7 in Tabelle 8 aufgelistet. Da die untersuchten Zellen nicht aus einer Zelllinie, sondern von menschlichen Spendern, bei denen eine Liposuktion durchgeführt wurde, stammen, ist die Menge des Zellmaterials und entsprechend der Versuchsumfang beschränkt. Weiterhin schwankt das Geschlecht, das Alter sowie die Region, aus der abgesaugt wurde, zwischen den Spendern. Entsprechend große Schwankungen in den Ergebnissen sind zu erwarten. Eine statistische Auswertung ist aufgrund der geringen Versuchsanzahl ebenso schwer möglich. Diese Untersuchung ist nicht als fertige Studie zu sehen, sondern als Teil der Validierung der im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Apparatur.

Weiterhin wird das Drehmoment entsprechend Abschnitt 3.4.2 überwacht, um sicherzustellen, dass tatsächlich eine laminare Strömung mit einem annähernd linearen Geschwindigkeitsprofil und einer möglichst homogenen Verteilung der Scherrate vorliegt. Bei allen neun nachfolgend beschriebenen Messläufen liegt tatsächlich über die gesamte Dauer eine laminare Strömung vor.

Vitalität der Zellen abhängig von der Scherbelastung und der Einwirkdauer

In Tabelle 15 ist die Vitalität der im Scherapparat gescherten mesenchymalen Stammzellen, jeweils normiert auf eine ungescherte Kontrollprobe, nach den vier unterschiedlichen Varianten berechnet worden, die in Abschnitt 3.7 beschrieben wurden. Die Messdaten, auf denen die Berechnungen basieren, stammen alle jeweils aus der selben Probe und dem Zellzähler ChemoMetec NucleoCounter NC-200.

Tabelle 15: Zellvitalität (normalisiert) errechnet mit Hilfe der vier Varianten aus Abschnitt 3.7 aus Zellzahl, Viabilität und Durchmesserverteilung. Alle Werte wurden dabei gemessen mit dem ChemoMetec NucleoCounter NC-200. Der größte Wert für eine Messung ist jeweils rot, der kleinste Wert blau markiert. Weiterhin ist das arithmetische Mittel über alle vier Methoden und das α -getrimmte Mittel (mit $\alpha=50\%$ Trimmung, sodass der kleinste und größte Wert entfallen; siehe auch Henze, 2013) angegeben.

Messung	Trägerlösung	Zellvitalität (normalisiert) errechnet aus Absch. 3.7				Mittelwert	
		Var. 1: Zell- zahlen (viabel)	Var. 2: Zell- viabilität	Var. 3: Zell- trümmern Ø 0-10µm	Var. 4: Zellen mit Ø 17-18µm ± 3µm	arith- metisch	getrimmt ($\alpha=50\%$)
1800 15	PBS-LSM 1,05 2,1	104 %	96 %	81 %	108 %	97 %	100 %
2400 9	PBS-LSM 1,05 2,1	69 %	88 %	89 %	79 %	81 %	84 %
1800 24	PBS-LSM 1,05 2,1	89 %	94 %	93 %	79 %	89 %	91 %
2100 30	PBS-LSM 1,05 2,1	84 %	90 %	90 %	90 %	89 %	90 %
1200 18	PBS-Ficoll 1,05 6,6	111 %	99 %	89 %	94 %	98 %	97 %
1800 24	PBS-Ficoll 1,05 6,6	74 %	90 %	85 %	87 %	84 %	86 %
2400 9	PBS-Ficoll 1,05 6,6	88 %	98 %	75 %	86 %	87 %	87 %
2100 30	PBS-Ficoll 1,05 6,6	83 %	79 %	84 %	135 %	95 %	84 %
3000 30	PBS-Ficoll 1,05 6,6	70 %	74 %	81 %	67 %	73 %	72 %

Bemerkenswert ist zunächst, dass alle vier Zellvitalitäten, trotz der unterschiedlichen Größen, auf denen sie basieren, im gleichen Bereich liegen und lediglich um 10-20 Vitalitäts-% zueinander schwanken. Der jeweils kleinste Wert eines Messlaufs, der sich aus den unterschiedlichen Berechnungen ergibt, ist in Tabelle 15 blau markiert, der jeweils größte Wert rot. Dabei fällt auf, dass keine der Methoden immer den kleinsten oder immer den größten Wert produziert, sondern die unterschiedlichen Berechnungsmethoden basierend auf unterschiedlichen Größen der gleichen Probe über die Proben schwanken. Durch Nutzen der vier Varianten zur Berechnung und anschließendes Mitteln kann bereits mit dem relativ kleinen Datensatz von nur 10 Messläufen ein etwas feineres Bild gewonnen werden. Insbesondere Ausreißer nach einer der Berechnungen in einem Lauf, wie z.B. die 135 % Vitalität im vorletzten Lauf, berechnet mit der Zelldurchmesser-Methode, sorgen sonst für ein verzerrtes Bild. Doch nicht nur, wenn man sich in der Auswertung ausschließlich auf genau diese Methode beschränkt hätte, würde ein Ausreißer wie die 135 % Probleme bereiten. Auch das arithmetische Mittel dieses Messlaufs mit 2100 U/min für 30 min, welches über alle vier Berechnungsmethoden 95 % beträgt, wird durch diesen Ausreißer um 13 % gegenüber dem arithmetischen Mittelwert der drei übrigen Werte (82 %) nach oben gezogen. Aus diesem Grund wurde noch ein weiterer Mittelwert errechnet, das α -getrimmte Mittel, mit in diesem Fall $\alpha=50$ %, sodass der jeweils größte und kleinste Wert entfallen. Hier wird letztlich jeder Mittelwert nur aus zwei Werten berechnet, die aber oft auch noch sehr nah beieinanderliegen. Welche beiden der vier berechneten Werte jeweils in den getrimmten Mittelwert eingehen, ist auch wie die beiden Extremwerte über die Messpunkte und Vitalitäts-Berechnungsmethoden relativ gleichverteilt: Dreimal geht die Zelltrümmermethode in die Berechnung des getrimmten Mittels ein, die anderen drei Methoden gehen jeweils fünfmal ein.

Vitalität der Zellen aufgetragen über der Drehzahl und der Einwirkdauer

Die Zellvitalität als Funktion von Drehzahl und Einwirkdauer für die vier unterschiedlichen Berechnungsvarianten nach Tabelle 15 Spalte 3 bis 6 ist in Abbildung 40 dargestellt. Die durch blaue Punkte markierten Messwerte sind stückweise linear gefittet. Aus dem Fit wurde ein Contourplot konstruiert, dessen Farbkodierung ein Maß für die Zellvitalität ist. In diesem Plot sind kombiniert die Messungen mit den beiden Medien PBS-LSM sowie PBS-Ficoll abgebildet, also sämtliche Messungen aus Tabelle 15.

Generell ist in Abbildung 40 nach allen vier Varianten zur Berechnung der Zellvitalität ein Abfall mit steigender Drehzahl zu erkennen. Weiterhin scheint es für die Vitalität berechnet nach Variante 1 und 2 (Abbildung 40 oben links, oben rechts) einen Abfall der Zellvitalität mit steigender Einwirkdauer der Scherung zu geben. In diesen beiden Berechnungsvarianten hat die Viabilität einen großen Einfluss. Eine hohe Viabilität kann aber bei Variante 1 durch geringe totale Zellzahlen (also der Summe aus viablen und nicht-viablen Zellen) ausgeglichen werden, wie ein Vergleich der ersten beiden Berechnungsmethoden im Messpunkt 1800 U/min für 24 min für PBS-Ficoll deutlich macht. Die Zellvitalität nach Variante 1 ist nämlich bei 1800 U/min für 24 min mit 74 % auch im Vergleich zur Messung 2100 U/min für 30 min mit höherer Drehzahl und Einwirkdauer mit 83 % relativ gering. Dies führt dazu, dass sich in Abbildung 40 (oben links) um 1800 U/min bei 24 min ein Becken bildet. Das tatsächliche Verhalten an dieser Stelle lässt sich nur mit Hilfe weiterer Messungen bestimmen. Die Vitalität nach Variante 2 (Abbildung 40, oben rechts) sinkt an dieser Stelle jedoch nicht ab, sodass lediglich weniger Zellen vorhanden sind, die jedoch nicht weniger vital sind.

Der Abfall der Zellvitalität über der Einwirkdauer ist weiterhin bei der nach Variante 2 berechneten Zellvitalität deutlich höher als bei der Berechnung nach Variante 1.

In den unteren beiden Plots in Abbildung 40 wirken die Ergebnisse uneindeutig: Bei den Varianten 3 und 4 tritt die höhere Vitalität bei hohen Einwirkdauern ab 18 min auf und ist niedriger bei geringen Einwirkdauern und hohen Drehzahlen. Dabei ist aber zu beachten, dass die Ergebnisse im Plot nach Variante 3 in Abbildung 40 (unten rechts) lediglich zwischen 81 und 89 % schwanken, also durch Messfehler begründet sein können. Auch in Abbildung 40 (unten rechts) fällt nur die Messung 1800 U/min für 24 min heraus, bei der die Vitalität deutlich abfällt. Ansonsten steigt die Vitalität mit steigender Einwirkdauer entgegen der Erwartung leicht an.

Am schlüssigsten sehen bei dieser geringen Anzahl an Messpunkten die Abbildungen aus, die auf der Zellvitalität nach Variante 1, aber vor allem auf der Zellvitalität nach Variante 2 beruhen.

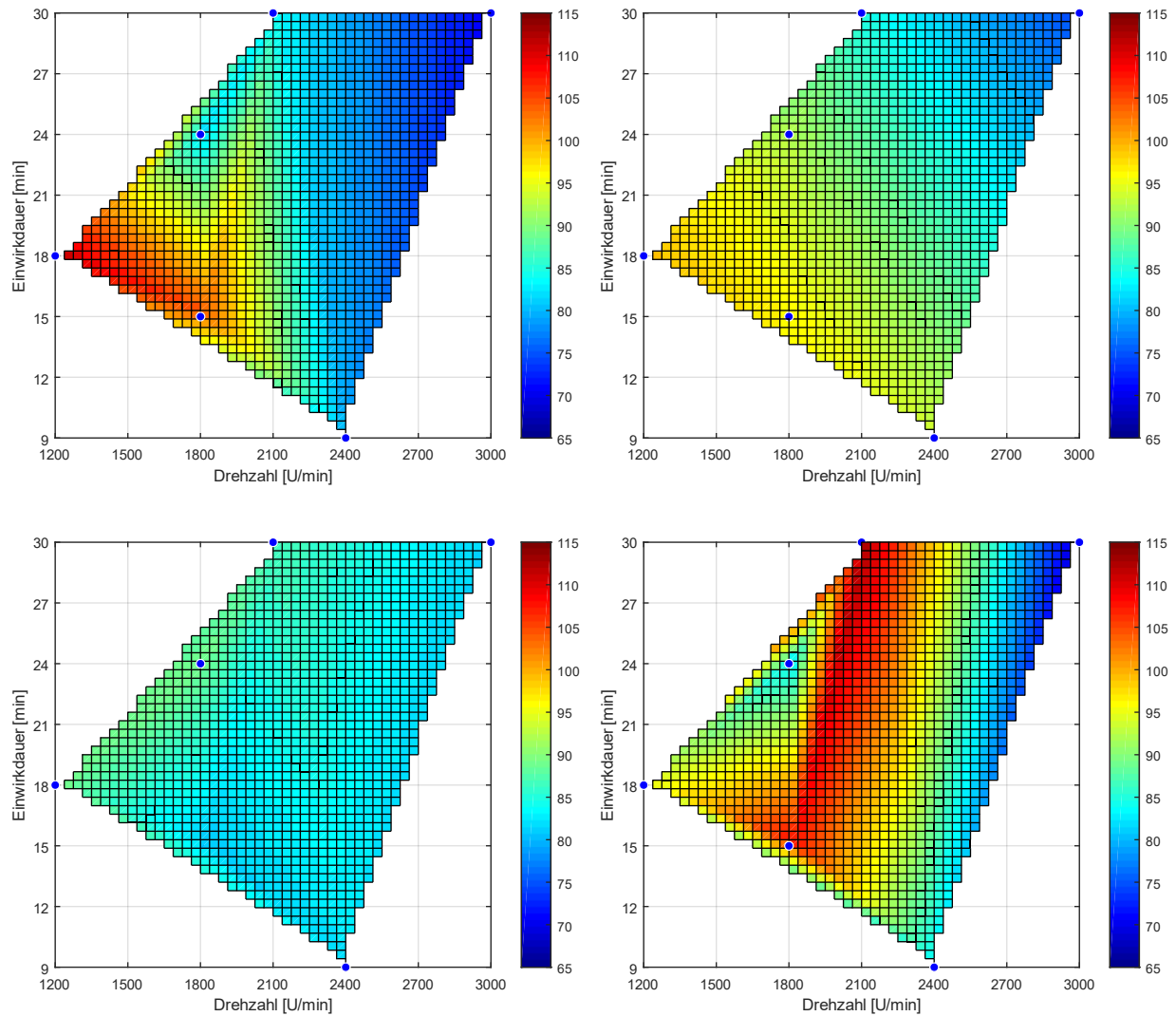


Abbildung 40: Vitalität mesenchymaler Stammzellen in Prozent (%) zur nicht-gescherten Probe, berechnet mit vier verschiedenen Methoden, über Drehzahl und Zeit in Scherapparat Entwurf 2 mit 0,5 mm Spalt und in PBS-LSM 1,05/2,1 und FicollPM400 1,045/6,6 kombiniert; Messpunkte der Zellvitalität für V4 und V5 blau markiert; dazwischen stückweise linearer Fit; links oben: Vitalität basierend auf der Zahl viabler Zellen nach Gl. (48) bzw. Spalte 3 in Tabelle 15; rechts oben: Vitalität basierend auf der normierten Viabilität nach Gl. (49) bzw. Spalte 4 in Tabelle 15; links unten: Vitalität basierend auf der Zahl der Zelltrümmer von 0 bis 10 μm nach Gl. (50) bzw. Spalte 5 in Tabelle 15; rechts unten: Vitalität der Zellen in der gescherten Probe basierend auf der Zahl der Zellen mit Durchmesser von 14 bis 21 μm in der gescherten Probe im Verhältnis zur Zahl der Zellen mit Durchmesser von 14 bis 21 μm in der ungescherten Probe nach Gl. (51) bzw. Spalte 6 in Tabelle 15

Doch auch die Zellvitalität, die nach Variante 2 berechnet wird und hier die scheinbar schlüssigsten Ergebnisse liefert, kann fehlgedeutet werden. Um dies zu veranschaulichen, soll ein Gedankenexperiment dienen: Vor der Scherung befinden sich in einer Probe 100 Zellen mit einer Viabilität von 100%. Unabhängig von Größe und Vitalität sind das bei der Messung im NucleoCounter NC-200 genau 100 Events. Werden jetzt durch eine bestimmte Scherbelastung 50 der vorher 100 vitalen Zellen zweigeteilt, entstehen 100 zusätzliche Zelltrümmer, also Events in der Messung, die aber nicht mehr vital sind. Bleiben die

anderen 50 Zellen vital, sinkt dennoch die Viabilität auf $50/150 = 33\%$. Werden die Zellen durch die Scherbelastung sogar dreigeteilt, sinkt die Viabilität auf $50/200 = 25\%$. Die Viabilität als Maß der Scherbelastung ist also nicht nur davon abhängig, wie viele Zellen die Scherbelastung tötet, sondern auch davon, was die Scherbelastung mit den getöteten Zellen anstellt, also in wie viele Teile sie geschert werden.

Aus diesem Grund sollte die Berechnung nach Variante 1, die die Zahl viable Zellen als das Produkt aus totaler Zellzahl ZZ (also vitalen und nicht-vitalen Events) und Viabilität liefert, grundsätzlich sinnvoller zur Bewertung der Scherung sein, da die durch die Scherung zusätzlich auftretenden Events die übermäßig geringer werdende Viabilität exakt ausgleichen.

Abbildung 41 zeigt die Berechnungsergebnisse im arithmetischen Mittel (links) und im getrimmten Mittel (rechts). Zusammen mit Variante 2 entsprechen diese Plots am ehesten der Erwartung, nämlich eine mit steigender Drehzahl und steigender Einwirkdauer abnehmende Zellvitalität.

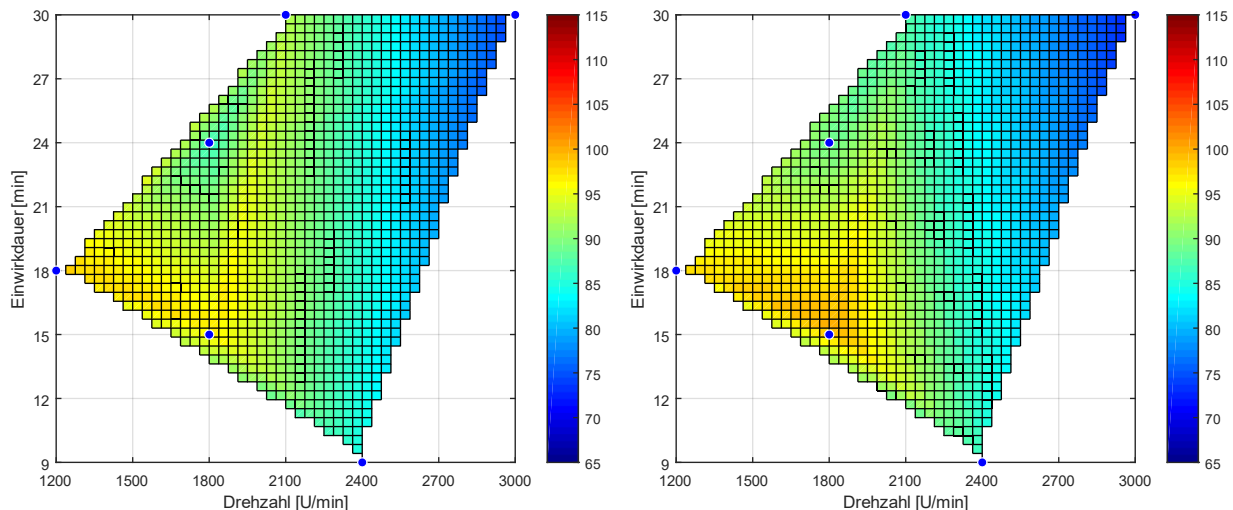


Abbildung 41: Mittelwerte der Zellvitalität über der Drehzahl; Arithmetisches Mittel (links) und getrimmtes Mittel (rechts), bei dem der größte und kleinste Wert entfallen

Der Abfall der Zellvitalität mit der Einwirkdauer ist in den Plots für das arithmetische Mittel und das getrimmte Mittel jedoch nicht so stark wie der Abfall nach Variante 2, da nach Variante 3 und Variante 4 teilweise sogar ein Anstieg der Zellvitalität mit der Einwirkdauer erfolgt. Weitere Messungen müssen zeigen, ob die Viabilität auch bei vielen Messpunkten einen so starken Abfall über der Einwirkdauer hat.

Vitalität der Zellen aufgetragen über der Schubspannung und der Einwirkdauer

Abbildung 40 und Abbildung 41 lassen außerdem vermuten, dass die Viskosität des Mediums keinerlei Einfluss auf die Zellvitalität hat. Die Messwerte für die Zellvitalität, die mit PBS-Ficoll, also dreimal so hoher Viskosität wie PBS-LSM, bestimmt wurden, insbesondere 1200 U/min bei 18 min, hätten sonst deutlich niedriger sein müssen, denn die Schubspannung, die sich als Produkt aus Scherrate und Viskosität ergibt, ist bei 1200 U/min bei 18 min und PBS-Ficoll höher als bei allen Messungen mit PBS-LSM. Um die Frage zu

klären, ob die Zellvitalität mit der Drehzahl bzw. Scherrate oder der Schubspannung skaliert, soll die Zellvitalität ebenfalls über der Schubspannung aufgetragen werden.

Abbildung 42 zeigt eine kombinierte Ansicht der Zellvitalität für die beiden untersuchten Medien PBS-LSM und PBS-Ficoll, aufgetragen über der Schubspannung und der Einwirkdauer. Die Schubspannungen für die vier mit PBS-LSM untersuchten Testläufe von 1800 bis 2400 U/min erstrecken sich von 16,6 bis 22,2 Pa, sind also allesamt kleiner als der PBS-Ficoll-Messlauf mit der geringsten Drehzahl, der mit 1200 U/min, also 34,9 Pa, durchgeführt wurde.

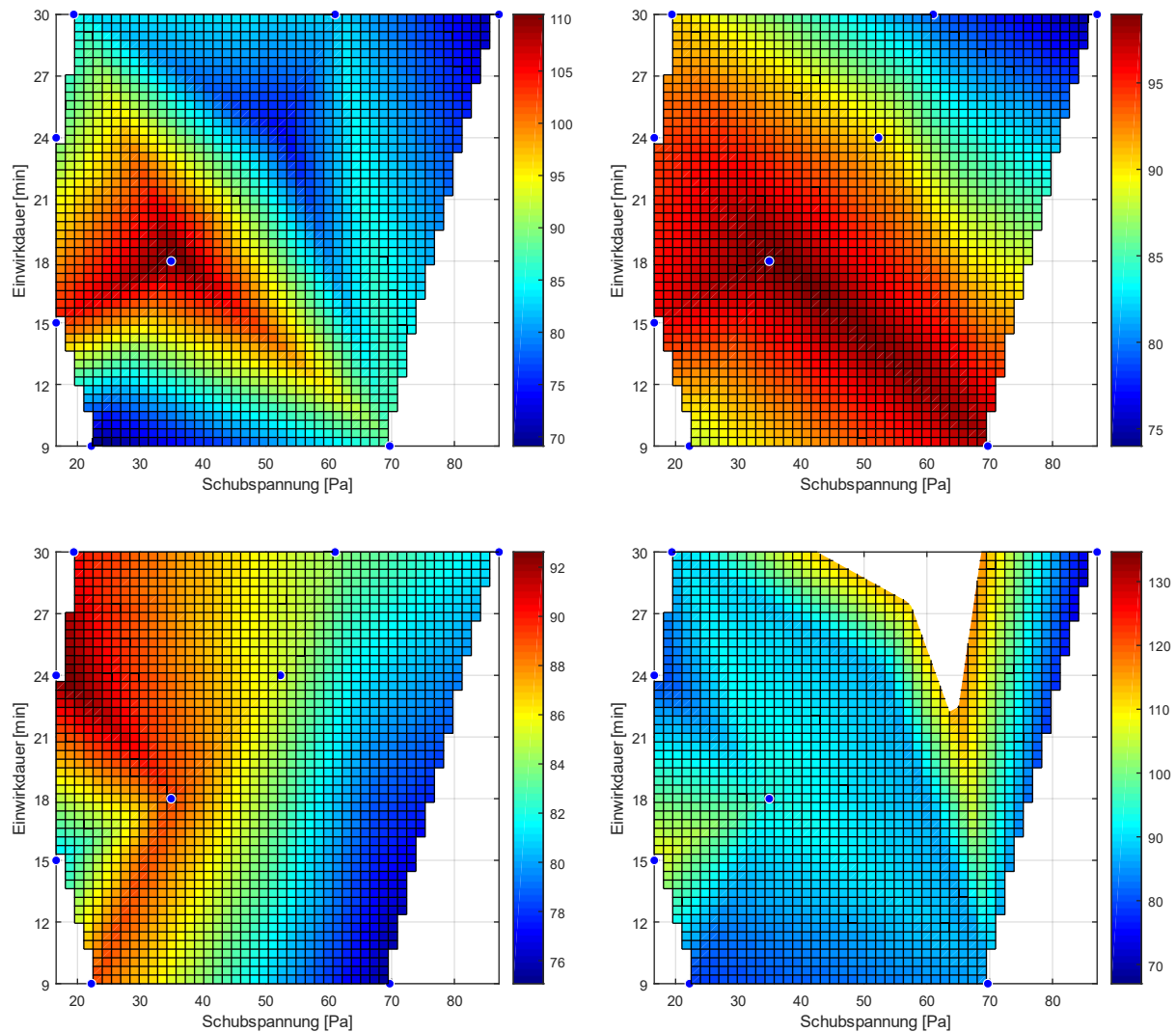


Abbildung 42: Vitalität mesenchymaler Stammzellen in Prozent (%) zur nicht-gescherten Probe; über Schubspannung und Zeit in Scherapparat Entwurf 2 mit 0,5 mm Spalt und in PBS-LSM 1,05/2,1 und FicollPM400 1,045/6,6 kombiniert

Wesentlicher ist der Messpunkt 1200 U/min für 18 min bei PBS-Ficoll, bei dem eine Schubspannung von 34,9 Pa auftritt. Dies ist nicht nur die kleinste Schubspannung aus den PBS-Ficoll-Messungen, sondern mit 1200 U/min auch die kleinste Drehzahl aller Messungen sowohl mit PBS-LSM als auch PBS-Ficoll. In allen vier Plots von Abbildung 42 sticht dieser Messpunkt jedoch trotz seiner hohen Schubspannung durch seine

hohe Vitalität im Vergleich zu seiner Umgebung hinaus, auch in den arithmetisch und getrimmt gemittelten Plots in Abbildung 43.

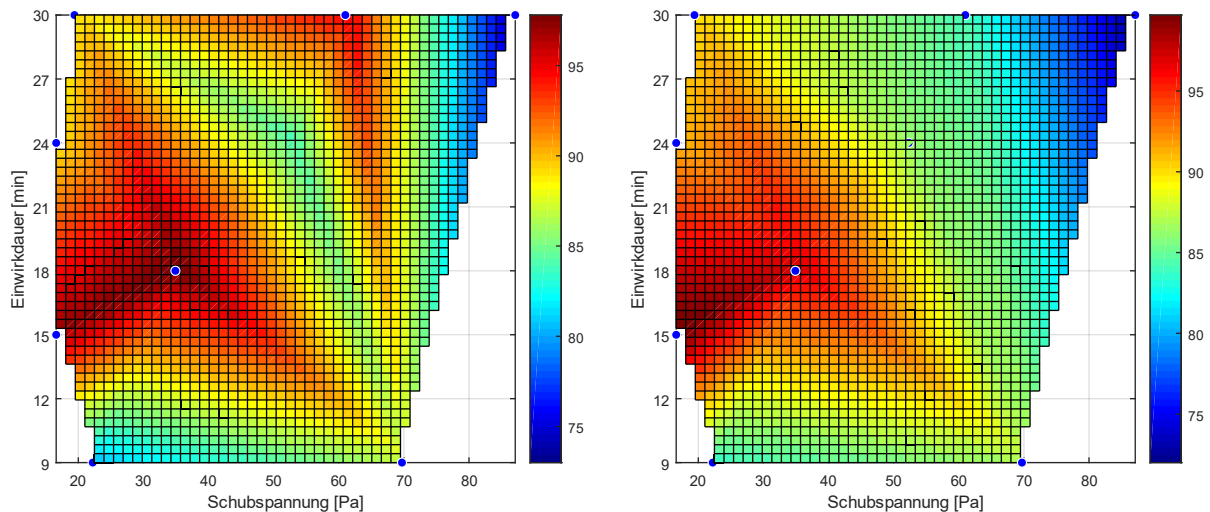


Abbildung 43: Mittelwerte der Zellvitalität über der Schubspannung; Arithmetisches Mittel (links) und getrimmtes Mittel (rechts), bei dem der größte und kleinste Wert entfallen

Vitalität der Zellen – grundsätzlicher Verlauf - Anstiege

Um eine grundsätzliche Tendenz für den Abfall der Zellvitalität über der Drehzahl und der Einwirkdauer bzw. über der Schubspannung und der Einwirkdauer zu ermitteln, wurden in Abbildung 44 jeweils die getrimmten Mittelwerte linear, also durch ein Polynom erster Ordnung, gefittet. Dadurch liegen zwar einzelne Punkte weiter vom Fit entfernt, jedoch lässt sich so ein allgemeiner Trend, wenigstens in erster Ordnung, über alle Punkte ableiten.

Neben dem Abfall der Vitalität über der Drehzahl/Scherrate ist der Abfall der Vitalität über der Einwirkdauer deutlich erkennbar, aber auch viel geringer als der Einfluss der Drehzahl bzw. Scherrate. Bemerkenswert ist der deutliche flachere Abfall der Zellvitalität mit der Schubspannung (Abbildung 44, rechts) als mit der Drehzahl bzw. Scherrate (Abbildung 44, links). Im linken Plot konzentrieren sich Messpunkte mit ähnlich hoher Vitalität gleicher Drehzahl beieinander. Im rechten Plot in Abbildung 44 sind die Messpunkte statt nach Drehzahl nach der Schubspannung sortiert, sodass die gleichen Messpunkte mit weiterhin hoher Zellvitalität bei mehr als dreimal so hoher Schubspannung auftreten und den Anstieg des Fits damit deutlich abflachen. Über der Drehzahl nimmt das getrimmte Mittel der Zellvitalität etwa 4 % pro 300 U/min bzw. 1 % pro 3 min ab, während das getrimmte Mittel der Zellvitalität über der Schubspannung etwa 2 % pro 10 Pa bzw. 0,5 % pro 3 min abnimmt.

Dieser deutlich flachere Abfall der Vitalität über der Schubspannung kann während weiterer Versuche relativ einfach im Auge behalten werden, um die Frage abschließend zu klären, ob die Zellvitalität von der Drehzahl und damit von der Scherrate abhängig ist oder von der Viskosität und damit von der Schubspannung.

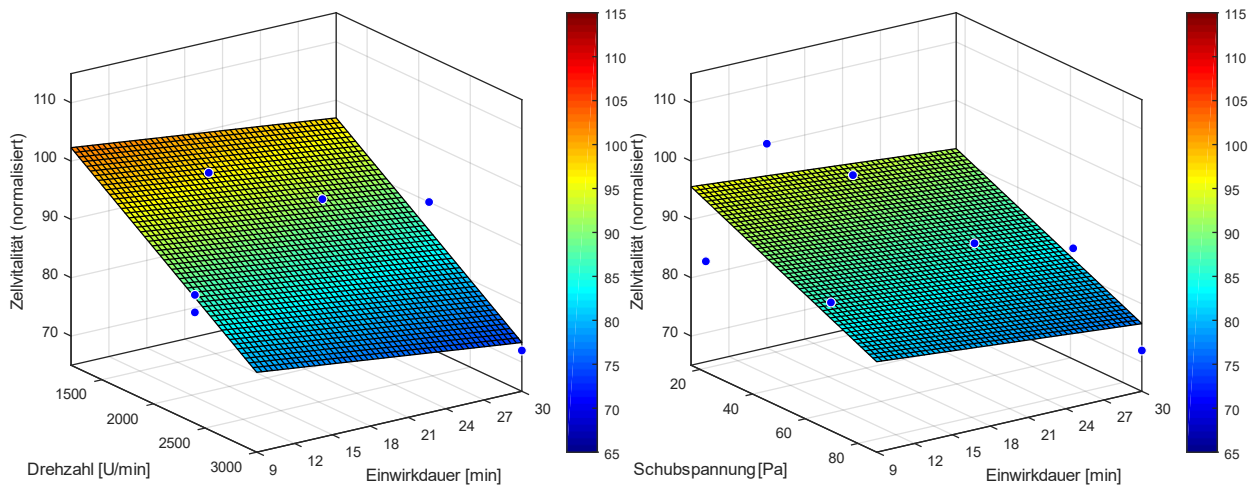


Abbildung 44: Zellvitalität (getrimmtes Mittel) über Drehzahl und Einwirkdauer (links) bzw. Schubspannung und Einwirkdauer (rechts), Fit mit linearem Polynom über gesamten Messraum

Korrelation der lokalen Scherratenverteilung (kumuliert) und der Zellvitalität (α -getrimmtes Mittel)

Die lokale Scherratenverteilung aus den Grobstruktursimulationen wurde in Abschnitt 4.5 in Abbildung 38 für die untersuchten Drehzahlen dargestellt. In Abbildung 45 und Abbildung 46 ist die Verteilung der Scherrate kumuliert dargestellt, damit direkt abgelesen werden kann, in welchem Prozentanteil des Schervolumens eine bestimmte maximale Scherrate wirkt.

Stellt man für diese Auswertung nun die These auf, dass die Zellen bei laminarer Strömung entsprechend ihres Zelldurchmessers und ihrer Massendichte immer auf der gleichen Bahn, wie auf einem Orbit, zwischen Innen- und Außenzylinder um den Mittelpunkt kreisen sowie ihre vertikale Position im Messspalt nicht ändern, also nicht aufsteigen oder absinken, dann folgt daraus, dass jede Zelle während der Einwirkdauer der Scherbelastung immer die gleiche Scherrate erfährt. Ob dies tatsächlich so ist, können nur numerische Strömungssimulationen mit Partikelbewegung oder experimentelle Untersuchungen der Zelltrajektorien, wie beispielsweise tomografische Hochgeschwindigkeits-PIV-Messungen, zeigen.

Mit der Annahme der immergleichen Scherrate während der Einwirkdauer der Scherbelastung bewegen sich einige Zellen entsprechend in Bereichen des Schervolumens, wo immer geringe Scherraten herrschen und andere Zellen in Volumenbereichen, in denen immer so hohe Scherraten herrschen, dass diese Zellen durch Scherung beschädigt werden.

Vergleicht man nun unter der oben beschriebenen Annahme für einen bestimmten Messlauf die Zellvitalität (z.B. im getrimmten Mittel) mit der lokalen Verteilung der Scherrate (in der kumulierten Darstellung), so lässt sich ungefähr ermitteln, bei welchen lokalen Scherraten Zellen geschädigt werden. Die Vorgehensweise soll für 2100 U/min für 30 min mit PBS-Ficoll beispielhaft erläutert werden: Trägt man die 84 % Zellvitalität aus Tabelle 15 nun in Abbildung 46 (links) auf der Ordinate mit dem Gesamtvolumen ab und betrachtet, welche maximale Scherrate in 84 % des Schervolumens geherrscht haben, ergibt sich ein Wert von 10236 1/s. Für 3000 U/min ergibt sich analog 13195 1/s. Die tatsächlich Scherrate, bei der eine mesenchymale Stammzelle zerstört wird, würde entsprechend etwa zwischen etwa 10000 und 13000 1/s liegen.

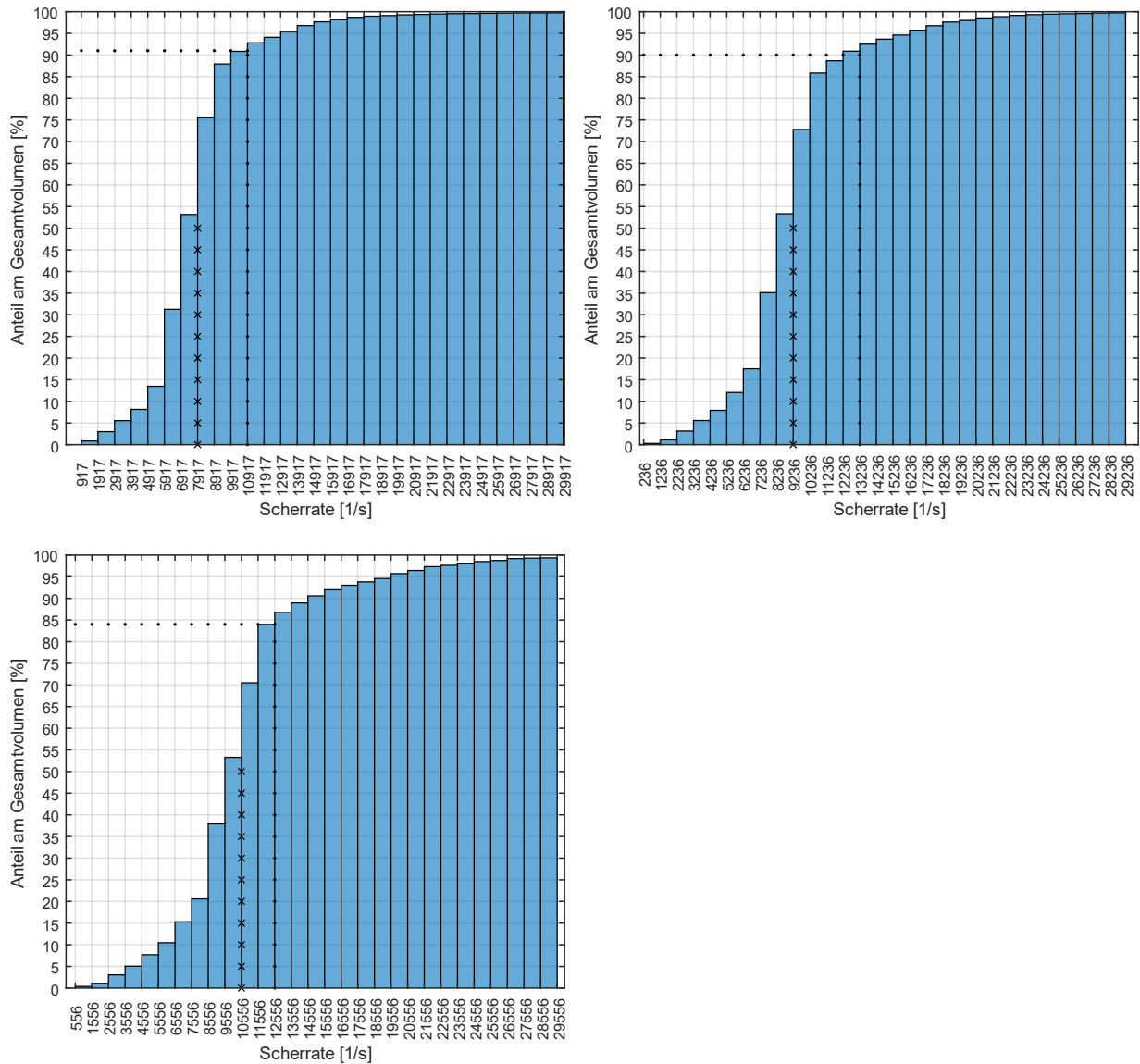


Abbildung 45: Histogramme zur Verteilung der Scherrate (kumuliert) für PBS-LSM mit 1800 U/min (oben links), 2100U/min (oben rechts) und 2400 U/min (unten links), α -getrimmtes Mittel der Zellvitalität nach Tabelle 15 eingezeichnet

Die auf diesem Weg ermittelten lokalen Scherraten liegen in allen untersuchten Fällen nur knapp über der globalen/repräsentativen Scherrate.

Da sich die Zellvitalität in den Zellversuchen als zeitabhängig erwiesen hat, stellt sich die Frage, ob die Vitalität der Zellen mit der Zeit sinkt, weil die Zellen nach einer gewissen Zeit bei gleicher Scherung nachgeben, oder ob sich die Zellen doch nicht immer auf der gleichen Bahn bewegen und deshalb mit längerer Einwirkdauer öfter in Bereichen höherer Scherrate aufhalten und dann geschädigt werden.

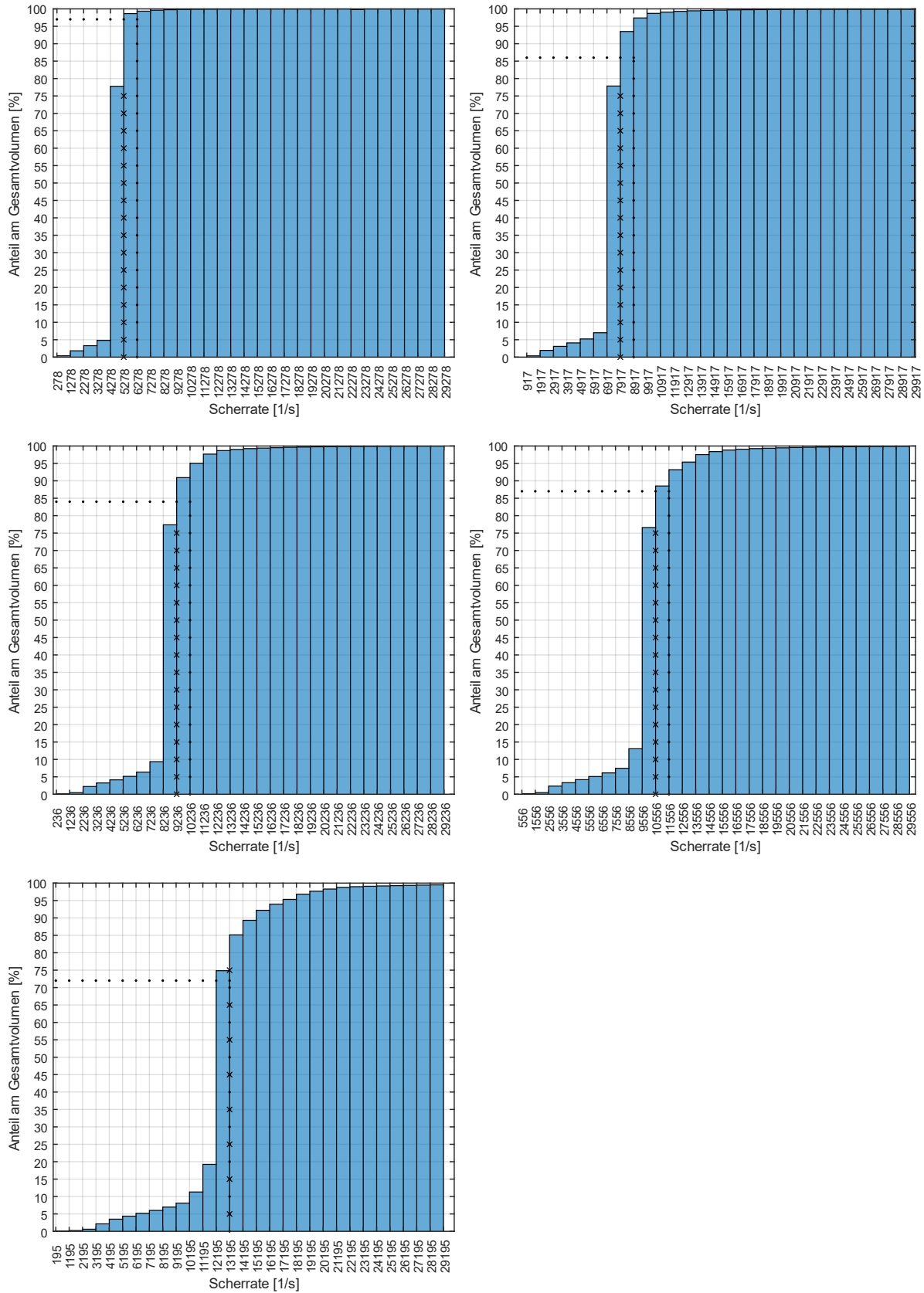


Abbildung 46: Histogramme zur Verteilung der Scherrate (kumuliert) für PBS-Ficoll mit 2100 U/min (links) und 3000U/min (rechts), getrimmtes Mittel der Zellvitalität eingezeichnet

Vor allem aber könnte diese Interpretation der Ergebnisse aus den CFD-Simulationen und den Zellversuchen in Kombination die Frage beantworten, warum bei einer bestimmten Scherbelastung einige Zellen vital bleiben und andere zerstört werden. Entweder die zerstörten Zellen sind weniger belastbar gewesen oder sie haben sich tatsächlich hauptsächlich in den Bereichen des Schervolumens aufgehalten, in denen sie Scherraten oberhalb ihrer Belastbarkeit ausgesetzt waren. Diese Frage kann zum jetzigen Zeitpunkt mit dieser Datenlage und Methodik nicht beantwortet werden.

Für PBS-LSM liegt die auf diese Weise ermittelte Scherrate in einem Bereich von ca. 8000 bis 13000 1/s, für PBS-Ficoll im Bereich von 9000 bis 13000 1/s sowie einem Ausreißer mit 5000 1/s bei 1200 U/min. Hier ist die Zellvitalität sehr hoch, sodass die einzelnen Balken des Histogramms sehr nah beieinander liegen.

4.8 Abschließende Betrachtung der Ergebnisse

Die experimentellen Untersuchungen zur Ermittlung des laminar-turbulenten Umschlags, bei denen sowohl die Strömung sichtbar gemacht wurde als auch das Drehmoment bestimmt wurde, haben übereinstimmend einen laminar-turbulenten Umschlag bei ca. 1500 U/min für destilliertes Wasser und ca. 2700 U/min für PBS-LSM ermittelt, was einem Reynolds-Zahl-Bereich von 1500 bis 1600 entspricht. Für PBS-Ficoll konnte mit der Apparatur der laminar-turbulente Umschlag aufgrund der begrenzten Leistung des Antriebsmotors nicht ermittelt werden. Entsprechend der Reynolds-Zahl der laminar-turbulenten Umschläge bei destilliertem Wasser und PBS-LSM sollte dieser jedoch bei ca. 8000 U/min liegen.

Mit PBS-LSM sind deshalb Zellversuche bis 2400 U/min möglich, ohne dass die Strömung nach turbulent umschlägt. Mit PBS-Ficoll sind Zellversuche bis zur maximal untersuchten Drehzahl von 6600 U/min möglich. Für höhere Drehzahlen als 2700 bis 3000 U/min mit PBS-Ficoll muss die durch die Scherung entstehende Wärme jedoch mit einer zusätzlichen Kühlvorrichtung (z.B. Lüfter) abgeführt werden.

Weiterhin wurden mit der Beobachtung des Drehmomentsprungs bzw. des Drehzahl-Drehmoment-Kennlinie die Grundlage gelegt, um einen erfolgten laminar-turbulenten Umschlag während der Zellversuche zu erkennen und die Ergebnisse entsprechend zu bewerten.

Die Erkenntnisse aus den CFD-Simulationen waren nur teilweise hilfreich. Während die Grobstruktursimulationen den laminar-turbulenten Umschlag erst für deutlich höhere Reynolds-Zahlen vorhersagten als dieser in den experimentellen Untersuchungen tatsächlich auftrat, haben die aus den Grobstruktursimulationen extrahierten Verteilungen der Geschwindigkeit und der Scherrate einen guten zusätzlichen Eindruck über die Strömungsverhältnisse vermittelt. Insbesondere die Histogramme der Scherratenverteilung haben gezeigt, dass mit zunehmender Viskosität des Mediums die im Schervolumen auftretenden Scherraten enger um die globale Scherrate verteilt sind.

Die beschriebenen Zellversuche zeigen im Rahmen dieser Arbeit bereits die praktische Anwendbarkeit des Scherapparats zur Aufbringung von Scherung. Aufgrund der begrenzten Verfügbarkeit des humanen Zellmaterials konnten nur neun erfolgreiche Messläufe mit Zellen bei unterschiedlichen Drehzahlen und Einwirkdauern sowie den beiden Medien PBS-LSM und PBS-Ficoll durchgeführt werden. Während dieser Datensatz für die abschließende Bewertung der Scherbelastbarkeit von mesenchymalen Stammzellen zu gering und statistisch nicht verlässlich ist, zeigen die Ergebnisse aber bereits die Eignung von Apparatur und Methode, sodass die in dieser Arbeit beschriebene Methodik zusammen mit der Scherapparatur

direkt und ohne weitere Änderungen für eine umfangreiche Studie genutzt werden kann, um aussagekräftige Ergebnisse zu erzielen.

Zusätzlich zur Auswertung der Zellvitalität für die entsprechenden Drehzahlen bzw. Scherraten und Einwirkdauern wurden die Ergebnisse der Zellversuche mit den aus den CFD-Simulationen gewonnenen kumulierten Histogrammen zur Scherrate unter der Annahme korreliert, dass sich die Zellen immer auf den selben Bahnen um den Innenzylinder bewegen und so über die gesamte Einwirkdauer die gleiche Scherung erfahren. Diese Interpretationsweise liefert eine Erklärung dafür, dass bei einer bestimmten Scherrate nur einige der Zellen geschädigt wurden und andere nicht.

5 Zusammenfassung und Ausblick

Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurde entsprechend den Anforderungen und basierend auf dem Stand der Technik eine Apparatur zur Beaufschlagung von hohen Scherbelastungen auf Zellen in Suspension entwickelt. Dabei wurde auf ein System konzentrischer Zylinder (Taylor-Couette-Spalt) mit einem feststehenden Innenzylinder und einem angetriebenen Außenzylinder zurückgegriffen, da dieses Setup eine homogenere Verteilung der Scherrate erlaubt als andere Systeme und aufgrund der hier auftretenden unterkritischen Transition bis zu höheren Drehzahlen eine laminare Strömung gewährleistet wird als bei angetriebenem Innenzylinder und feststehendem Außenzylinder.

Um einen Betrieb bei rein laminarer Strömung gewährleisten zu können, wurden experimentelle Untersuchungen zum laminar-turbulenten Umschlag durchgeführt. Dabei wurde die Strömung mit Partikeln sichtbar gemacht und das vom Antriebsmotor aufzubringende Drehmoment wurde bestimmt. Der laminar-turbulente Umschlag in der Apparatur wurde für destilliertes Wasser und das Medium PBS-LSM auf einen Reynolds-Zahl-Bereich von 1500 bis 1600 bestimmt, was bei destilliertem Wasser maximale Drehzahlen von 1200 U/min und bei PBS-LSM maximale Drehzahlen von 2400 U/min mit laminarer Strömung erlaubt. Die entsprechende Drehzahl von mutmaßlich 8000 U/min wird bei PBS-Ficoll mit dem untersuchten Antriebsmotor nicht erreicht, sodass für PBS-Ficoll die Strömung im gesamten Drehzahlbereich laminar bleibt.

Weiterhin wurden mit der sprunghaften Erhöhung des Drehmomentes und der Vergrößerung des Anstiegs der Drehzahl-Drehmoment-Kennlinie zwei charakteristische Kennzeichen ermittelt, um während späterer Zellversuche einen laminar-turbulenten Umschlag identifizieren zu können und Ergebnisse zur Zellvitalität unter Einbeziehung dieses Wissens entsprechend zu bewerten.

Im Gegensatz zur experimentellen Ermittlung des laminar-turbulenten Umschlags waren die numerischen Untersuchungen hinsichtlich der korrekten Bestimmung des laminar-turbulenten Umschlags nicht erfolgreich. Zwar sagten auch die Grobstruktursimulationen einen laminar-turbulenten Umschlag voraus, jedoch trat dieser bei erst Reynolds-Zahlen um 2600 auf. Da aber sowohl die Strömungssichtbarmachung als auch die Drehmomentmessung übereinstimmend auf eine Transitions-Reynolds-Zahl von 1600 in der Apparatur deuten, werden die durchgeführten Grobstruktursimulationen hinsichtlich der korrekten Vorhersage des laminar-turbulenten Umschlags angezweifelt. Auch verschiedene Methoden zur Aufprägung einer Störung auf das Anfangsfeld sowie auf die Ränder des Strömungsfeldes haben zu keinem früheren Umschlag geführt.

Jedoch waren die aus den Grobstruktursimulationen ermittelten Geschwindigkeits- und Scherratenprofile und insbesondere die Histogramme der Scherrate nützlich, um ein tieferes Verständnis über die Strömungsverhältnisse im Schervolumen zu gewinnen. Die Histogramme der Scherratenverteilung haben gezeigt, dass mit zunehmender Viskosität des Mediums die im Schervolumen auftretenden Scherraten enger um die globale Scherrate verteilt sind.

Die beschriebenen Zellversuche zeigen im Rahmen dieser Arbeit bereits, dass der entwickelte Scherapparat wie geplant funktioniert. Da das humane Zellmaterial allerdings nur begrenzt zur Verfügung stand, konnten nur neun erfolgreiche Messläufe mit Zellen bei unterschiedlichen Drehzahlen und

Einwirkdauern sowie den beiden Medien PBS-LSM und PBS-Ficoll durchgeführt werden. Die gewonnenen Ergebnisse sind für die abschließende Bewertung der Scherbelastbarkeit von mesenchymalen Stammzellen noch nicht ausreichend und statistisch nicht verlässlich. Die in dieser Arbeit beschriebene Methodik zusammen mit der Scherapparatur kann aber direkt und ohne weitere Änderungen für eine umfangreiche Studie genutzt werden kann, um aussagekräftige Ergebnisse zur Scherbelastbarkeit von mesenchymalen Stammzellen zu erzielen.

Ausblick

Um die Aussagekraft der in dieser Arbeit vorgestellten Ergebnisse zu erhöhen, kann der in dieser Arbeit vorgestellte Entwicklungsstand des Scherapparats sowie die vorgestellte Auswertemethodik direkt für weitere Messungen verwendet werden. Mit PBS-LSM und PBS-Ficoll kann der nur grob untersuchte Parameterbereich mit weiteren Messpunkten untersucht werden bzw. bereits gemessene Punkte wiederholt werden. Insbesondere mit PBS-Ficoll können deutlich höhere Drehzahlen als die hier untersuchten 3000 U/min bei laminarer Strömung angefahren werden. Für höhere Drehzahlen als 3000 U/min bei PBS-Ficoll muss jedoch eine Lüftung installiert und die Schererwärmung, entweder durch Temperaturmessungen oder über das Absinken der Viskosität und entsprechendes Abflachen der Drehmoment-Reynolds-Zahl-Kurve, überwacht werden.

Der Scherapparat wird momentan nicht aktiv gekühlt. Zwar sorgt der angetriebene Außenzylinder für eine gewisse Luftbewegung, dennoch kann die Temperatur einer höherviskosen Probe nicht schnell genug abgeführt werden. Um höhere Drehzahlen zu fahren, kann ein Lüfter genutzt werden, der den angetriebenen Außenzylinder zusätzlich kühlt und die Wärme abtransportiert.

Um definitiv zu bestätigen, dass die Zellvitalität nicht von der Viskosität abhängt und damit nicht sinnvoll über der Schubspannung aufgetragen werden kann, müssen weitere Messungen mit PBS-Ficoll im Bereich von 20 bis 30 Pa durchgeführt werden, da mit PBS-LSM höhere Werte als 22,2 Pa bei gleichzeitig laminarer Strömung nicht erreicht werden können.

Aber auch das Verhalten bei Einwirkdauern von 9 min und weniger kann noch mal genauer untersucht werden. Zum einen macht die erneute Wiederholung der Messung bei 22,2 Pa (2400 U/min) für 9 min Sinn, zum anderen liegt die Zellvitalität bei geringen Einwirkdauern und gleichzeitig höheren Schubspannungen wie 60 bis 70 Pa bereits unter 90 % und kann noch genauer aufgelöst werden.

Es ist weiterhin vorstellbar, PBS-LSM und PBS-Ficoll in verschiedenen Verhältnissen zu mischen, um neue Medien mit weiteren Viskositäten bei gleichbleibender Dichte zu erhalten. So ist es beispielsweise möglich, durch Mischen von PBS-LSM und PBS-Ficoll den laminar-turbulenten Umschlag zu Drehzahlen zu verschieben, die der Motor gerade noch anfahren kann. Dieser Umschlag könnte dann näher untersucht werden. Gleichzeitig wird durch die geringere Viskosität des Mediums im Vergleich zu PBS-Ficoll auch ohne Lüftung weniger Schererwärmung erzeugt.

Sollen zukünftig mit Hilfe der Scherapparatur weitere Untersuchungen zum laminar-turbulenten Umschlag bei höherviskosen Flüssigkeiten durchgeführt werden, sollte der verwendete Antriebsmotor Faulhaber 2057B durch einen Motor mit höherem Drehmoment ersetzt werden. Um die bisherige Motorsteuerung *Faulhaber MCBL3006S-RS* sowie die Steuerungssoftware *Faulhaber Motion Manager 6* oder das selbst entwickelte MATLAB-Skript mit grafischer Benutzeroberfläche weiterzuverwenden, bietet sich ein

stärkerer Motor von Faulhaber an. Der *Faulhaber 2264 BP4* mit einem Dauerdrehmoment von 59 mNm bei einem Durchmesser von 22 mm und einer Länge von 64 mm ist nur etwas größer als der verwendete *Faulhaber 2057 B* mit einem Durchmesser von 20 mm und einer Länge von 57 mm und dem Dauerdrehmoment von 17 mNm. Dieser neue Antriebsmotor könnte vom Durchmesser her problemlos verbaut werden, jedoch passt dieser von der Länge nicht ohne Weiteres unten in den Scherapparat. Dafür müssen die vertikalen Stangen sowie die vier seitlichen Abdeckungen um etwa 7 bis 10 mm verlängert werden.

Um den laminar-turbulenten Umschlag auch mit Hilfe numerischer Strömungssimulationen korrekt vorherzusagen, können Direkte Numerische Simulationen (DNS) durchgeführt werden. Hierbei wird jedoch ein deutlich feineres Gitter benötigt, sodass nur ein noch kleinerer Ausschnitt des Scherapparats aufgelöst werden kann.

Weiterhin können CFD-Simulationen mit Partikelbewegung nach der Euler-Lagrange-Methode durchgeführt werden, um zu überprüfen, ob die Zellen tatsächlich auf immer gleichen Orbits um den Innenzylinder schwimmen und so die immer gleiche Scherung erfahren.

Die entwickelte Scherapparatur kann weiterhin für andere Zelltypen genutzt werden. Dafür müssen lediglich Medien angemischt werden, die der Massendichte dieser Zelltypen entsprechen.

Außerdem soll die Eignung des Scherapparats zur kollagenasenfreien Separation mesenchymaler Stammzellen aus abgesaugtem menschlichen Unterhautfettgewebe untersucht werden. Dabei sollen die im Taylor-Couette-Spalt entstehenden Scherkräfte die Verbindungen zwischen den Zellmembranen lösen, ohne die Zellen selbst zu beschädigen. Diese Versuche können ohne weitere Änderungen am Scherapparat durchgeführt werden.

6 Literaturverzeichnis

- Ali ME, Mitra D, Schwille JA, Lueptow RM (2002) Hydrodynamic stability of a suspension in cylindrical Couette flow. *Physics of Fluids* 14:1236-1243. DOI: 10.1063/1.1449468
- Andereck CD, Liu SS, Swinney, H (1986) Flow regimes in a circular Couette system with independently rotating cylinders. *Journal of Fluid Mechanics* 164:155-183. DOI: 10.1017/S0022112086002513
- Ansys 17 Fluent Theory Guide (2016) Ansys Fluent Theory Guide Release 17.0. Ansys Inc, Canonsburg
- Ansys CFD Post Documentation (2016) Ansys CFD Post Documentation Release 17.0. Ansys Inc, Canonsburg
- Anton Paar (2017) Betriebsanleitung DSA 5000 M, Version 11. Mai 2017. Anton Paar, Graz.
- Avila K, Moxey D, de Lozar A, Avila M, Barkley D, Hof B (2011) The onset of turbulence in pipe flow. *Science* 333:192-196. DOI: 10.1126/science.1203223
- Bacher RP, Williams MC (1970) Hemolysis in capillary flow. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 76:485-496
- Baggett JS, Trefethen LN (1997) Low-dimensional models of subcritical transition to turbulence. *Physics of Fluids* 9:1043-1053. DOI: 10.1063/1.869199
- Bessis M, Mohandas N, Feo C (1980) Automated ektacytometry: a new method of measuring red cell deformability and red cell indices. *Blood Cells* 6:315-327
- Borrero-Echeverry D, Crowley CJ, Riddick TP (2018) Rheoscopic fluids in a post-Kalliroscope world. *Physics of Fluids* 30:87103. DOI: 10.1063/1.5045053
- Burin MJ, Czarnocki CJ (2012) Subcritical transition and spiral turbulence in circular Couette flow. *Journal of Fluid Mechanics* 709:106-122. DOI: 10.1017/jfm.2012.323
- Busser H, Bruyn C de, Urbain F, Najar M, Pieters K, Raicevic G, Meuleman N, Bron D, Lagneaux L (2014) Isolation of adipose-derived stromal cells without enzymatic treatment: expansion, phenotypical, and functional characterization. *Stem Cells and Development* 23:2390-2400. DOI: 10.1089/scd.2014.0071
- Chmiel H, Takors R, Weuster-Botz D (2018) *Bioprozesstechnik*. 4. Aufl. Springer Spektrum, Berlin. ISBN: 978-3-662-54042-8, DOI: 10.1007/978-3-662-54042-8
- Coles D (1965) Transition in circular Couette flow. *Journal of Fluid Mechanics* 21:385-425. DOI: 10.1017/S0022112065000241
- Couette MM (1890) Etudes sur le frottement des liquides. *Annales de chimie et de physique* 6:433-510.
- Deguchi K, Meseguer A, Mellibovsky F (2014) Subcritical equilibria in Taylor-Couette flow. *Physical Review Letters* 112:184502. DOI: 10.1103/PhysRevLett.112.184502
- Donnelly RJ (1991) Taylor-Coette Flow: The Early Days. *Physics Today* 44:32-39. DOI: 10.1063/1.881296
- Drobek C, Seitz H (2013) Simulation of Cell-Laden Flow in a Cell Mixer Using Computational Fluid Dynamics. *Biomedizinische Technik* 58:S1. DOI: 10.1515/bmt-2013-4350

- Dubrulle B, Hersant F (2002) Momentum transport and torque scaling in Taylor-Couette flow from an analogy with turbulent convection. *The European Physical Journal B - Condensed Matter and Complex Systems* 26:379-386. DOI: 10.1140/epjb/e20020103
- Dubrulle B, Dauchot O, Daviaud F, Longaretti P-Y, Richard D, Zahn J-P (2005) Stability and turbulent transport in Taylor–Couette flow from analysis of experimental data. *Physics of Fluids* 17:95103. DOI: 10.1063/1.2008999
- Eckhardt B, Grossmann S, Lohse D (2007) Torque scaling in turbulent Taylor–Couette flow between independently rotating cylinders. *Journal of Fluid Mechanics* 581:221-250. DOI: 10.1017/S0022112007005629
- Eckhardt B (2018) Transition to turbulence in shear flows. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications* 504:121-129. DOI: 10.1016/j.physa.2018.01.032
- Forstrom RJ (1969) Ph.D. Thesis. University of Minnesota, Minneapolis
- Frisch U (1995) *Turbulence*. 1. Aufl. Cambridge University Press, Cambridge. ISBN: 978-0-5214-5713-2
- Fröhlich J (2006) *Large Eddy Simulation turbulenter Strömungen*. 1. Aufl. Teubner, Wiesbaden. ISBN: 978-3-8351-0104-3
- Giersiepen M, Wurzinger LJ, Opitz R, Reul H (1990) Estimation of Shear Stress-related Blood Damage in Heart Valve Prostheses - in Vitro Comparison of 25 Aortic Valves. *The International Journal of Artificial Organs* 13:300-306. DOI: 10.1177/039139889001300507
- Gorman M, Swinney HL (1982) Spatial and temporal characteristics of modulated waves in the circular Couette system. *Journal of Fluid Mechanics* 117:123-142. DOI: 10.1017/S0022112082001554
- Grossmann S (2000) The onset of shear flow turbulence. *Reviews Of Modern Physics* 72:603-618. DOI: 10.1103/RevModPhys.72.603
- Henze N (2013) *Stochastik für Einsteiger*. 10. Aufl. Springer Spektrum, Wiesbaden. ISBN: 978-3-658-03076-6, DOI: 10.1007/978-3-658-03077-3
- Henzler H-J, Biedermann A (1996) Modelluntersuchungen zur Partikelbeanspruchung in Reaktoren. *Chemie Ingenieur Technik* 68:1546-1561. DOI: 10.1002/cite.330681205
- Henzler H-J (2000) Particle Stress in Bioreactors. 67:35-82. Springer, Berlin Heidelberg. DOI: 10.1007/3-540-47865-5_2
- Hunt JCR, Wray AA, Moin P (1988) Eddies, Streams, and Convergence Zones in Turbulent Flows. *Proceedings of the 1988 Summer Program Center for Turbulence Research* 193-207. Stanford, California
- Kim W-W, Menon S (1995) 33rd Aerospace Sciences Meeting and Exhibit. American Institute of Aeronautics and Astronautics, Reston, Virginia. DOI: 10.2514/6.1995-356
- Kim W-W, Menon S (1997) Application of the localized dynamic subgrid-scale model to turbulent wall-bounded flows. In: 35th Aerospace Sciences Meeting and Exhibit. American Institute of Aeronautics and Astronautics, Reston, Virginia, p 51. DOI: 10.2514/6.1997-210
- Kuhlmann H (2014) *Strömungsmechanik*, 2. Aufl. Pearson, Hallbergmoos. ISBN: 978-3-86894-253-8

- Lathrop DP, Fineberg J, Swinney HL (1992) Turbulent flow between concentric rotating cylinders at large Reynolds number. *Physical Review Letters* 68:1515-1518. DOI: 10.1103/PhysRevLett.68.1515
- Laurien E & Oertel jr. H (2009) *Numerische Strömungsmechanik*. 3. Aufl. Vieweg+Teubner, Wiesbaden. ISBN: 978-3-8348-0533-1
- Leverett LB, Hellums JD, Alfrey CP, Lynch EC (1972) Red Blood Cell Damage by Shear Stress. *Biophysical Journal* 12:257-273. DOI: 10.1016/S0006-3495(72)86085-5
- Lewis GS, Swinney HL (1999) Velocity structure functions, scaling, and transitions in high-Reynolds-number Couette-Taylor flow. *Physical Review E* 59:5457-5467. DOI: 10.1103/PhysRevE.59.5457
- Mallock A (1896) *Experiments on Fluid Viscosity*. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series A, Containing Papers of a Mathematical or Physical Character 187:41-56. DOI: 10.1098/rsta.1896.0003
- Matisse P, Gorman M (1984) Neutrally buoyant anisotropic particles for flow visualization. *Physics of Fluids* 27:759-760. DOI: 10.1063/1.864702
- Meyer J, Salamon A, Herzmann N, Adam S, Kleine H-D, Matthiesen I, Ueberreiter K, Peters K (2015) Isolation and differentiation potential of human mesenchymal stem cells from adipose tissue harvested by water jet-assisted liposuction. *Aesthetic Surgery Journal* 35:1030-1039. DOI: 10.1093/asj/sjv075
- Muller SJ, Larson RG, Shaqfeh ESG (1989) A purely elastic transition in Taylor-Couette flow. *Rheologica Acta* 28:499-503. DOI: 10.1007/BF01332920
- Nagata M (1990) Three-dimensional finite-amplitude solutions in plane Couette flow: bifurcation from infinity. *Journal of Fluid Mechanics* 217:519-527. DOI: 10.1017/S0022112090000829
- Oertel jr. H (2012) *Prandtl - Führer durch die Strömungslehre*. 13. Aufl. Springer Vieweg, Wiesbaden. ISBN: 978-3-8348-1918-5, DOI: 10.1007/978-3-8348-2315-1
- Ostilla-Mónico R, Verzicco R, Lohse D (2016) Turbulent Taylor–Couette flow with stationary inner cylinder. *Journal of Fluid Mechanics* 799:R1. DOI: 10.1017/jfm.2016.400
- Paul R, Apel J, Klaus S, Schugner F, Schwindke P, Reul H (2003) Shear Stress Related Blood Damage in Laminar Couette Flow. *Artificial Organs* 27:517-529. DOI: 10.1046/j.1525-1594.2003.07103.x
- Poncet S, Da Soghe R, Bianchini C, Viazzo S, Aubert A (2013) Turbulent Couette–Taylor flows with endwall effects: A numerical benchmark. *International Journal of Heat and Fluid Flow* 44:229-238. DOI: 10.1016/j.ijheatfluidflow.2013.05.018
- Rooney JA (1970) Hemolysis Near an Ultrasonically Pulsating Gas Bubble. *Science* 169:869-871. DOI: 10.1126/science.169.3948.869
- Song X, Throckmorton AL, Wood HG, Antaki JF, Olsen DB (2003) Computational Fluid Dynamics Prediction of Blood Damage in a Centrifugal Pump. *Artificial Organs* 27:938-941. DOI: 10.1046/j.1525-1594.2003.00026.x
- Sarkar S, Lund SP, Vyzasatya R, Vanguri P, Elliott JT, Plant AL, Lin-Gibson S (2017) Evaluating the quality of a cell counting measurement process via a dilution series experimental design. *Cytotherapy* 19:1509-1521. DOI: 10.1016/j.jcyt.2017.08.014

- Schlichting H, Gersten K (2006) Grenzsichttheorie. 10. Aufl. Springer, Berlin Heidelberg. ISBN: 978-3-540-23004-5, DOI: 10.1007/3-540-32985-4
- Schmid-Schönbein H, Wells R (1969) Fluid Drop-Like Transition of Erythrocytes under Shear. Science 165:288-291. DOI: 10.1126/science.165.3890.288
- Schultz-Grunow F (1959) Zur Stabilität der Couette-Strömung. Zeitschrift für Angewandte Mathematik und Mechanik 39:101-110. DOI: 10.1002/zamm.19590390303
- Shin et al. (2004) Measurement of red cell deformability and whole blood viscosity using laser-diffraction slit rheometer. Korea-Australia Rheology Journal 16:85-90.
- Stokes GG (1848) On the Theories of the Internal Friction of Fluids in Motion, and of the Equilibrium and Motion of Elastic Solids. Transactions of the Cambridge Philosophical Society. Reprinted in Stokes GG (1880) Mathematical and Physical Papers 1:102. Cambridge University Press, Cambridge. DOI: 10.1017/CBO9780511702242
- Taylor GI (1923) Stability of a Viscous Liquid contained between Two Rotating Cylinders. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series A, Containing Papers of a Mathematical or Physical Character 223:289-343. DOI: 10.1098/rsta.1923.0008
- Taylor GI (1936) Fluid friction between rotating cylinders. I. Torque measurements. Proceedings of the Royal Society of London. Series A - Mathematical and Physical Sciences 157:546-564. DOI: 10.1098/rspa.1936.0215
- Waleffe F (1995) Transition in shear flows. Nonlinear normality versus non-normal linearity. Physics of Fluids 7:3060-3066. DOI: 10.1063/1.868682
- Wendt F (1933) Turbulente Strömungen zwischen zwei rotierenden konaxialen Zylindern. Ingenieur-Archiv 4:577-595. DOI: 10.1007/BF02084936
- Williams AR, Hughes DE, Nyborg WL (1970) Hemolysis Near a Transversely Oscillating Wire. Science 169:871-873. DOI: 10.1126/science.169.3948.871
- Zhang T, Taskin ME, Fang H-B, Pampori A, Jarvik R, Griffith BP, Wu ZJ (2011) Study of flow-induced hemolysis using novel Couette-type blood-shearing devices. Artificial Organs 35:1180-1186. DOI: 10.1111/j.1525-1594.2011.01243.x25-1594.2011.01243.x

Betreute studentische Arbeiten mit Bezug zur Dissertation:

Philip Töllner (2014) Entwicklung einer Apparatur zur Aufbringung definierter Scherbelastungen auf biologische Zellen. Studienarbeit, eingereicht am 24.03.2014

Redhwan Ebrahim Shaif Abdullah (2014) Konstruktion einer Versuchsapparatur zur Einstellung einer Scherbelastung für Fett- und Stammzellen. Studienarbeit, eingereicht am 09.09.2014

Denny Thiel (2016) Grobstruktursimulation der Strömung in einer Apparatur zur Aufbringung definierter Scherbelastungen auf Humanzellen. Masterarbeit, eingereicht am 14.03.2016

7 Anhang

7.1 Bedienungsanleitung

Befüllung des Scherapparats

Bei geöffnetem Deckel werden 3 ml der 3,4 ml Zellsuspension vorsichtig in den angetriebenen Außenzylinder des Scherapparats vorgelegt. Anschließend kann der Deckel mit Innenzylinder abgesenkt werden. Da es sehr wahrscheinlich ist, dass zwischen Innenzylinder und Boden des angetriebenen Außenzylinders noch eine Luftblase hängenbleibt, sollte der Innenzylinder unter leichtem Anwinkeln des gesamten Scherapparats um ca. 30-45° abgesenkt werden, damit die Luftblase nach oben aufsteigen kann. Mit Hilfe der drei M3-Stahlschrauben kann der Deckel auf den Außenzylinder gezogen werden, wodurch sich der Innenzylinder weiter absenkt. Nun sollte der komplette Spalt und der äußere Teil des Kegel-Platte-Bereichs luftfrei befüllt sein, sodass die drei äußeren M3x4 mm-Kunststoffschrauben eingedreht werden können. Dabei sollte darauf geachtet werden, dass in den 0,8 mm-Bohrungen unter den M3-Gewindebohrungen keine Luft mehr eingeschlossen ist, die dann durch das Eindrehen der M3-Kunststoffschrauben in das Innere des Couette-Systems gedrückt wird. Die Luft kann aus den 0,8 mm-Bohrungen mit Hilfe der 0,4mm-Kanüle Fluid gedrückt werden. Dabei wird die Luftschicht mit der unbedingt Luft-frei befüllten Kanüle durchstoßen und weitere Zellsuspension unter die Luft gesetzt, sodass der Flüssigkeitsstand (an allen noch offenen M3-Öffnungen) bis in den Bereich der M3-Gewindebohrungen ansteigt. Die Kanüle kann dabei so gedreht werden, dass die Spitze der Kanüle bequem auf dem Innenzylinder aufliegt. Nach und nach können so alle sechs M3x4 mm-Kunststoffschrauben eingedreht werden, bis der gesamte Scherspalt und der Kegel-Platte-Bereich luftfrei ist.

Steuerung

Nach der Befüllung des Scherapparats kann die Probe mit Scherkräften behandelt werden, indem in der Steuerungssoftware die Drehzahl eingestellt wird. Die Protokollierung der Messwerte für die spätere Auswertung muss ebenfalls gestartet werden. Als Steuerungssoftware kann entweder die Faulhaber-Steuerungssoftware oder das selbst entwickelte MATLAB-Skript mit grafischer Benutzeroberfläche dienen.

Entnahme der Probe

Nach der Behandlung wird die Probe entnommen. Zuerst werden die Kunststoff-Schrauben herausgedreht und danach der Deckel vom angetriebenen Außenzylinder abgedrückt, indem die M3x10mm-Edelstahlschrauben aus ihren jeweiligen Bohrungen herausgeschraubt werden und in die daneben liegenden Gewindebohrungen hineingeschraubt werden. Nun kann die Zellsuspension entnommen werden und es können im NucleoCounter NC-200 die Zellzahlen, Viabilitäten und Durchmesserverteilungen der gescherten und ungescherten Proben bestimmt werden.

Säuberung der medienberührenden Teile

Gesäubert werden alle zellberührenden Teile des Scherapparats bis auf die senkrechte Stange mit Lager durch 30-minütiges Einlegen in 2%iger Lysoformin-Lösung, anschließendem Wässern und finalem Abwischen mit EtOH (70%, vergällt). Die senkrechte Stange mit Lager wird zwischen den Versuchen nur mit EtOH (70%, vergällt) abgewischt, weil ein Einlegen das Lager beschädigen würde und so einen Vor-Ort-Wechsel erfordern würde. Stange und Lager werden aber am Ende eines Versuchstages eingelegt, um auch hier alle Zellen zu zerstören. Damit wird das Lager endgültig beschädigt, so dass es vor dem nächsten Versuchstag von der Stange heruntergeklopft werden muss und anschließend ein neues Lager im Schraubstock aufgezogen werden kann.

Die erneute Montage des Scherapparats erfolgt dann unter der Sterilbank.

7.2 Quellcode des MATLAB-Skripts zur Steuerung des Scherapparats und zur Live-Auswertung der Messdaten

```
clear screensize pixel_vertikal_schnellstartleiste_windows10
pixel_vertikal_statusleiste_fig1 fig1_width fig1_height;
clear fig1 ax1 ax2 ax3 ax4 plot1_1 plot1_2 plot2_1 plot2_2 plot3_1 plot3_2
plot4_1 allAxesInFigure drehzahl_panel drehzahl_knob drehzahl_edit
drehzahl_panel2 drehzahl_table ;
clear ans s go motordrehzahl motorstromaufnahme fread_bytes
fread_bytes_verschieben fread_n fread_I t;
clear motordrehzahl_movmean motorstromaufnahme_movmean schrittweite_polynomfit
start ende n_poly motorstromaufnahme_movmean_poly p;
clear threshold anstiege j abschnitt abschluss_des_abschnitts_erzwingen
neuen_abschnitt_erzwingen;
clc;

%% Initialisierung Serial Object
s = serial('COM4');
set(s, 'BaudRate', 9600);
fopen(s);

%% Einschalten Motorsteuerung, Motor und Trace-Funktion
fprintf(s, 'en')
fprintf(s, 'POR10')
fprintf(s, 'I4')

fprintf(s, 'v120')

fprintf(s, 'BINSEND 1')
fwrite(s, [200 0]);
pause(1)
fwrite(s, [202 4]);
pause(1)
```

```

%% Aufbauen des Anzeigefensters
fread_bytes = [0; 0; 0; 0; 0];
motordrehzahl = 0;
motorstromaufnahme = 0;

screensize = get(groot, 'Screensize');
pixel_vertikal_schnellstartleiste_windows10 = 30;
pixel_vertikal_statusleiste_fig1 = 30;
fig1_width = screensize(3);
fig1_height = screensize(4) - pixel_vertikal_schnellstartleiste_windows10 -
pixel_vertikal_statusleiste_fig1;

fig1_width = 1920;
fig1_height = 1000;

fig1 = uifigure('Name', 'Scherapparat', 'Position', [1
pixel_vertikal_schnellstartleiste_windows10 fig1_width fig1_height]);
ax1 = uiaxes(fig1, 'Position', [50 750 850 200]);
ax1.XLabel.String = 'Messpunkt [?]'; ax1.YLabel.String = 'Motordrehzahl
[1/min]';
ax2 = uiaxes(fig1, 'Position', [50 500 850 200]);
ax2.XLabel.String = 'Messpunkt [?]'; ax2.YLabel.String = 'Motorstromaufnahme
[mA]';
ax3 = uiaxes(fig1, 'Position', [1000 500 850 450]);
ax3.XLabel.String = 'Messpunkt [?]'; ax3.YLabel.String = 'Motordrehzahl
[1/min]';
ax4 = uiaxes(fig1, 'Position', [1000 50 850 400]);
ax4.XLabel.String = 'Motordrehzahl [1/min]'; ax4.YLabel.String =
'Motorstromaufnahme [mA]';

plot1_1 = plot(ax1, 1:10, 1:10);
hold(ax1);
plot1_2 = plot(ax1, 1:10, 1:10);

plot2_1 = plot(ax2, 1:10, 1:10);
hold(ax2);
plot2_2 = plot(ax2, 1:10, 1:10);

yyaxis(ax3, 'left')
plot3_1 = plot(ax3, 1:10, 1:10);
hold(ax3);
yyaxis(ax3, 'right')
plot3_2 = plot(ax3, 1:10, 1:10);
ax3.YLabel.String = 'Motorstromaufnahme [mA]';

plot4_1 = plot(ax4, [1 10], [1 10], 'blacko');

drehzahl_panel = uipanel(fig1, 'Title', 'Manuelle Einstellung der Drehzahl',
'Position', [50 50 400 400]);
drehzahl_knob = uiknob(fig1, 'Position', [105 120 180 180], 'Limits', [0
10000], 'parent', drehzahl_panel, 'ValueChangedFcn',
'drehzahl_knob.Value=round(drehzahl_knob.Value,-2);
drehzahl_edit.Value=drehzahl_knob.Value; fprintf(s, 'BINSEND 0');
fprintf(s, ['v' num2str(drehzahl_knob.Value)]); fprintf(s, 'BINSEND 1');
abschluss_des_abschnitts_erzwingen = 1');

```

```

drehzahl_knob.MajorTicks=0:500:10000;
drehzahl_knob.MajorTickLabels{21}='10000';
drehzahl_knob.MinorTicks=0:100:10000;
drehzahl_edit = uieditfield(fig1, 'numeric', 'parent', drehzahl_panel,
'Position', [170 30 60 30], 'FontSize', 18, 'ValueDisplayFormat', '%i');

drehzahl_panel2 = uipanel(fig1, 'Title', 'Drehzahl-Fahrprofile', 'Position',
[500 50 400 400]);
drehzahl_table = uitable(fig1, 'parent', drehzahl_panel2);
drehzahl_table.ColumnName = {'Drehzahl'; 'Zeit'};
drehzahl_table.RowName = {'1'; '2'; '3'; '4'; '5'; '6'; '7'};
drehzahl_table.Position = [100 100 200 200];

allAxesInFigure = findall(fig1, 'type', 'axes');

%% Hauptschleife
go = true;

schrittweite_polynomfit = 100; %300
threshold = 0.1; %max(I_movmean_diff_movmean) / 5;
abschnitt = zeros(100,2);
neuen_abschnitt_erzwingen = 0;
abschluss_des_abschnitts_erzwingen = 0;
j = 0;

while go

    fwrite(s, [201], 'int16');
    fread_bytes = [fread_bytes fread(s,5)];

    if fread_bytes(5,end) ~= 31 %
wenn fuenfte Byte nicht dem Timecode entspricht %
        fread_bytes_verschieben = fread(s,1); %
    einzelnd Byte abrufen und in andere Variable speichern %
        fread_bytes(:,end) = fread_bytes(:,end-1); %
    end %
um Bytes wieder in richtiger Reihenfolge zu empfangen

    fread_n = typecast(uint8(fread_bytes(1:2,end)), 'uint16');
    fread_I = typecast(uint8(fread_bytes(3:4,end)), 'uint16');
    motordrehzahl = [motordrehzahl fread_n];
    motorstromaufnahme = [motorstromaufnahme fread_I];

    motordrehzahl_movmean = movmean(motordrehzahl,100);
    motorstromaufnahme_movmean = movmean(motorstromaufnahme,100);

    if length(motorstromaufnahme_movmean)>schrittweite_polynomfit
        ende = length(motorstromaufnahme_movmean);
        start = ende - schrittweite_polynomfit;
        t=start:ende;
        n_poly = 1; %
    Ordnung des gewuenschten Polynoms %
        p = polyfit(t,motorstromaufnahme_movmean(start:ende),n_poly); %
    fuer n=1: y = px^n + px^0 = mx+n -> p(1) = m und p(2) = n

```

```

motorstromaufnahme_movmean_poly = polyval(p,t);
anstiege(length(motorstromaufnahme_movmean)) = abs(p(1));

    if anstiege(length(motorstromaufnahme_movmean)) < threshold &&
abschluss_des_abschnitts_erzwingen == 0

        if anstiege(length(motorstromaufnahme_movmean)-1) > threshold %
Beginn eines neuen Abschnitts
            j = j + 1;
            abschnitt(j,1) = length(motorstromaufnahme_movmean);
        end
        if anstiege(length(motorstromaufnahme_movmean)-1) < threshold %
wenn j noch Null ist, hat es mit Bereich geringen Anstiegs begonnen
            if j == 0
                j=1;
                abschnitt(j,1) = 1;
            end

            if j~= 0 && neuen_abschnitt_erzwingen == 1 %
zB wenn ueber lange Zeit konstant, damit Punkt nicht ewig Wackelt
                j = j + 1;
                abschnitt(j,1) = length(motorstromaufnahme_movmean);
                neuen_abschnitt_erzwingen = 0;
            end

            abschnitt(j,2) = length(motorstromaufnahme_movmean);
            abschnitt(j,3) =
mean(motordrehzahl(abschnitt(j,1):abschnitt(j,2))); % gemittelte
Drehzahl
            abschnitt(j,4) =
mean(motorstromaufnahme(abschnitt(j,1):abschnitt(j,2))); % gemittelte
Stromaufnahme
        end

    end

    if abschluss_des_abschnitts_erzwingen == 1 &&
anstiege(length(motorstromaufnahme_movmean)) > threshold % nachdem die
Kontrollstruktur if < threshold solange nicht durch-
        abschluss_des_abschnitts_erzwingen = 0; %
laufen wurde, wie der Anstieg noch unter dem Grenzwert war
abschluss_des_abschnitts_erzwingen wieder Null setzen
    end

end

%% Ausgabe
if length(motordrehzahl)<=200
    set(plot1_1,'XData',1:length(motordrehzahl),'YData',motordrehzahl(:));

set(plot1_2,'XData',1:length(motordrehzahl_movmean),'YData',motordrehzahl_movm
ean(:));

set(plot2_1,'XData',1:length(motorstromaufnahme),'YData',motorstromaufnahme(:)
);

```

```

set(plot2_2, 'XData', 1:length(motorstromaufnahme_movmean), 'YData', motorstromaufnahme_movmean(:));
else
    set(plot1_1, 'XData', length(motordrehzahl)-200:length(motordrehzahl), 'YData', motordrehzahl(end-200:end));
    set(plot1_2, 'XData', length(motordrehzahl_movmean)-200:length(motordrehzahl_movmean), 'YData', motordrehzahl_movmean(end-200:end));
    allAxesInFigure(4).XLim = [length(motordrehzahl)-200 length(motordrehzahl)];

    set(plot2_1, 'XData', length(motorstromaufnahme)-200:length(motorstromaufnahme), 'YData', motorstromaufnahme(end-200:end));
    set(plot2_2, 'XData', length(motorstromaufnahme_movmean)-200:length(motorstromaufnahme_movmean), 'YData', motorstromaufnahme_movmean(end-200:end));
    allAxesInFigure(3).XLim = [length(motorstromaufnahme)-200 length(motorstromaufnahme)];
end

set(plot3_1, 'XData', 1:length(motordrehzahl_movmean), 'YData', motordrehzahl_movmean(:));

set(plot3_2, 'XData', 1:length(motorstromaufnahme_movmean), 'YData', motorstromaufnahme_movmean(:));

if j>0 && abschnitt(j,1) ~= 0 && abschnitt(j,2) ~= 0
    set(plot4_1, 'XData', abschnitt(1:j,3), 'YData', abschnitt(1:j,4));
    allAxesInFigure(1).XLim = [0 round(max(abschnitt(:,3))*1.2,-2)];
    allAxesInFigure(1).YLim = [0 round(max(abschnitt(:,4))*1.2,-2)];
end
pause(0.03)

if length(motordrehzahl) == 300
    fprintf(s, 'BINSEND 0')
    fprintf(s, '\v300')
    fprintf(s, 'BINSEND 1')
elseif length(motordrehzahl) == 600
    fprintf(s, 'BINSEND 0')
    fprintf(s, '\v500')
    fprintf(s, 'BINSEND 1')
elseif length(motordrehzahl) == 900
    fprintf(s, 'BINSEND 0')
    fprintf(s, '\v700')
    fprintf(s, 'BINSEND 1')
elseif length(motordrehzahl) == 1200
    fprintf(s, 'BINSEND 0')
    fprintf(s, '\v900')
    fprintf(s, 'BINSEND 1')
elseif length(motordrehzahl) == 1500
    fprintf(s, 'BINSEND 0')
    fprintf(s, '\v1100')
    fprintf(s, 'BINSEND 1')
elseif length(motordrehzahl) == 1800
    fprintf(s, 'BINSEND 0')
    fprintf(s, '\v1300')

```

```

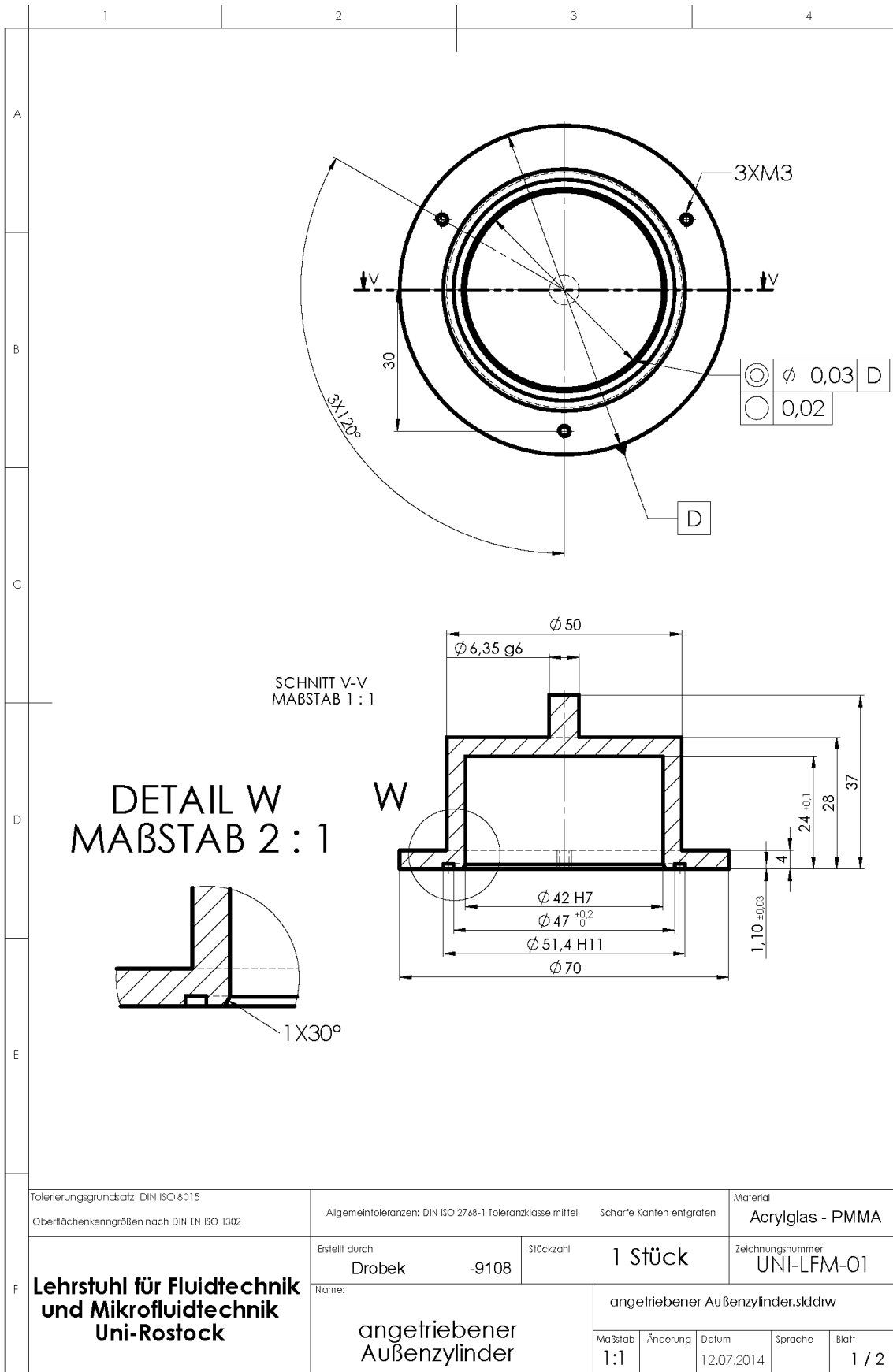
        fprintf(s, 'BINSEND 1')
elseif length(motordrehzahl) == 2100
    fprintf(s, 'BINSEND 0')
    fprintf(s, 'v1500')
    fprintf(s, 'BINSEND 1')
elseif length(motordrehzahl) == 2400
    fprintf(s, 'BINSEND 0')
    fprintf(s, 'v1700')
    fprintf(s, 'BINSEND 1')
elseif length(motordrehzahl) == 2700
    fprintf(s, 'BINSEND 0')
    fprintf(s, 'v1900')
    fprintf(s, 'BINSEND 1')
elseif length(motordrehzahl) == 3000
    fprintf(s, 'BINSEND 0')
    fprintf(s, 'v2100')
    fprintf(s, 'BINSEND 1')
elseif length(motordrehzahl) == 3300
    fprintf(s, 'BINSEND 0')
    fprintf(s, 'v2300')
    fprintf(s, 'BINSEND 1')
elseif length(motordrehzahl) == 3600
    fprintf(s, 'BINSEND 0')
    fprintf(s, 'v2500')
    fprintf(s, 'BINSEND 1')
elseif length(motordrehzahl) == 3900
    fprintf(s, 'BINSEND 0')
    fprintf(s, 'v2700')
    fprintf(s, 'BINSEND 1')
end
end

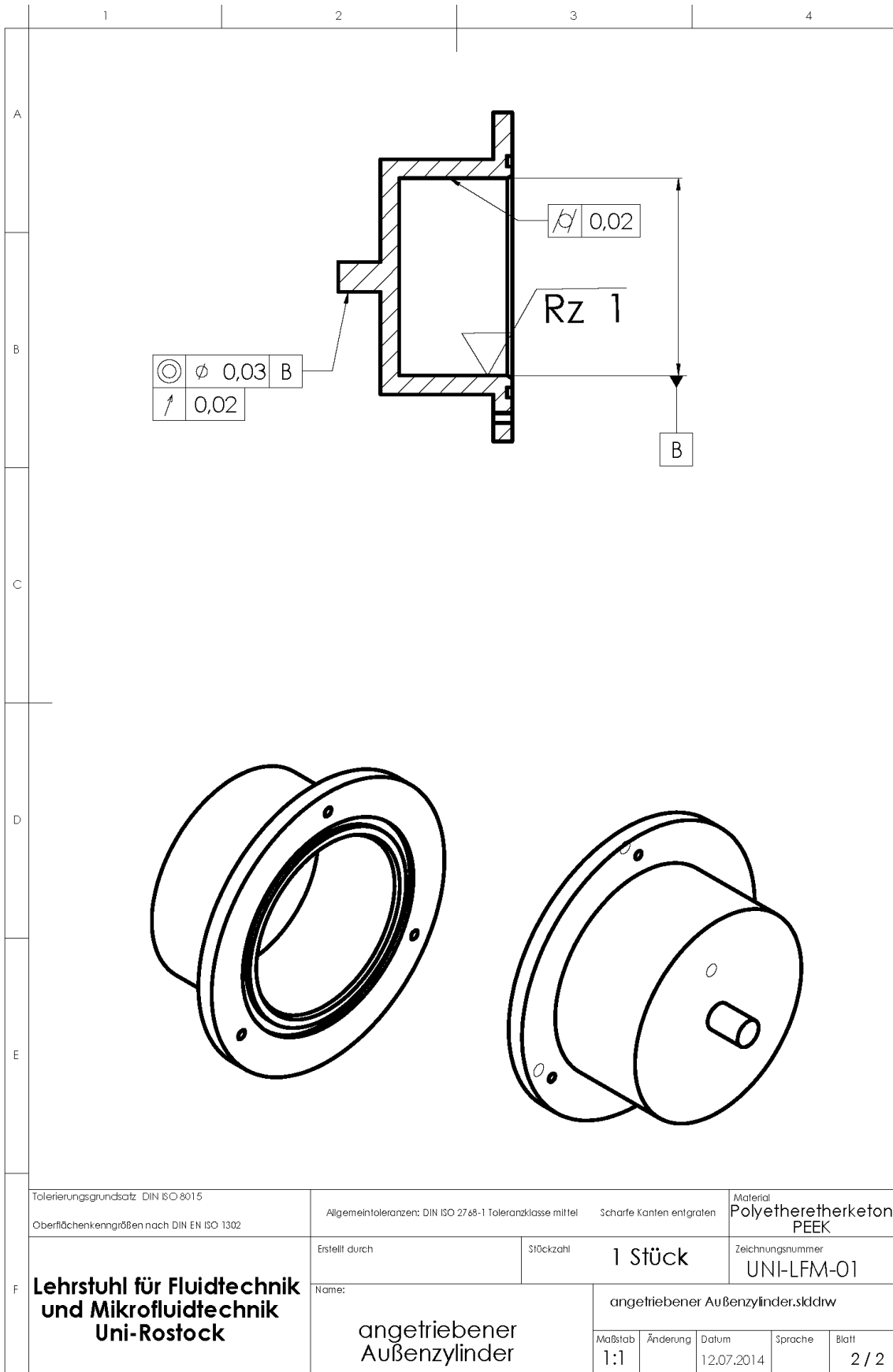
fprintf(s, 'v0')
fprintf(s, 'di')
fclose(s)

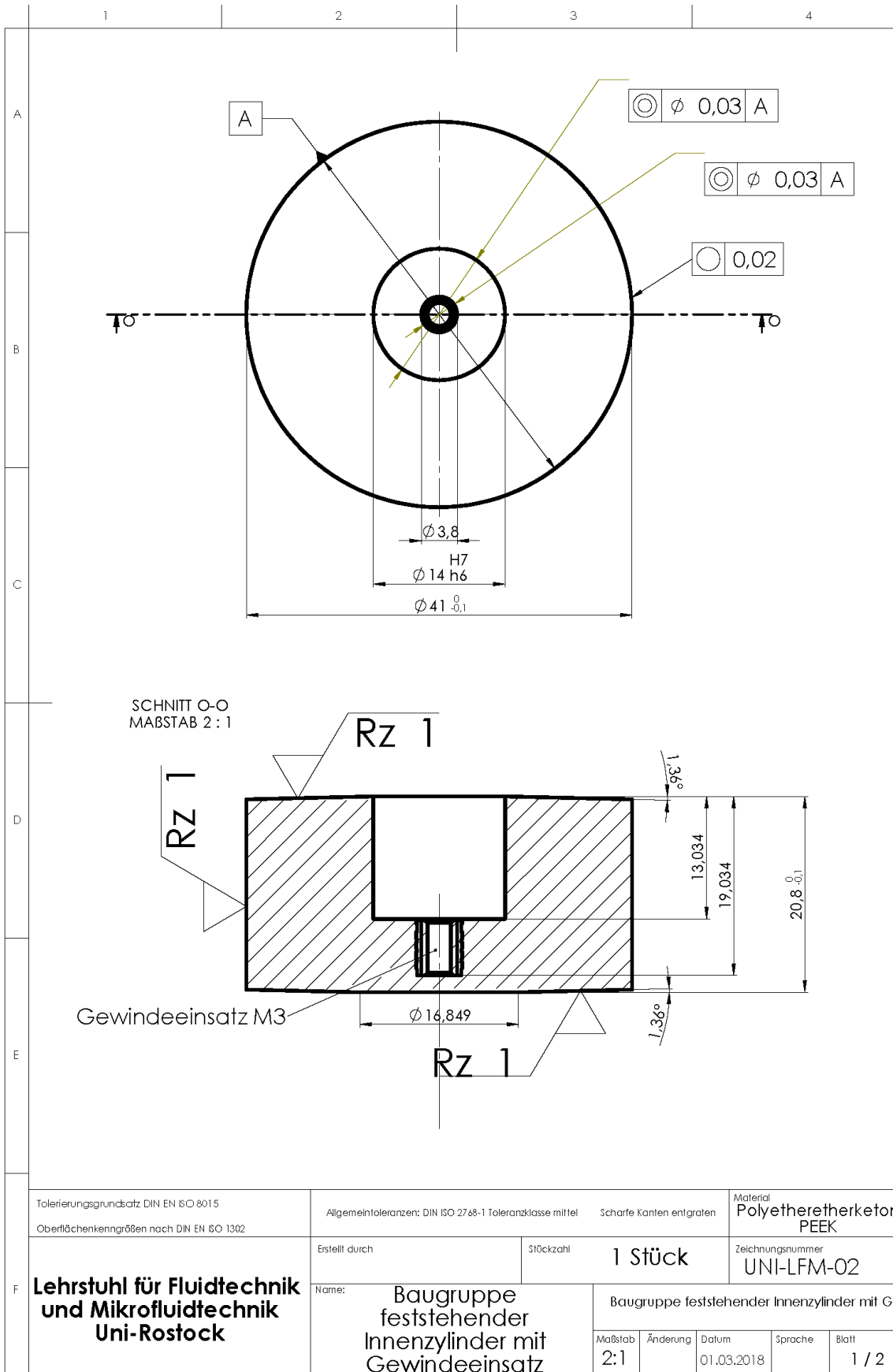
```

7.3 Technische Zeichnungen

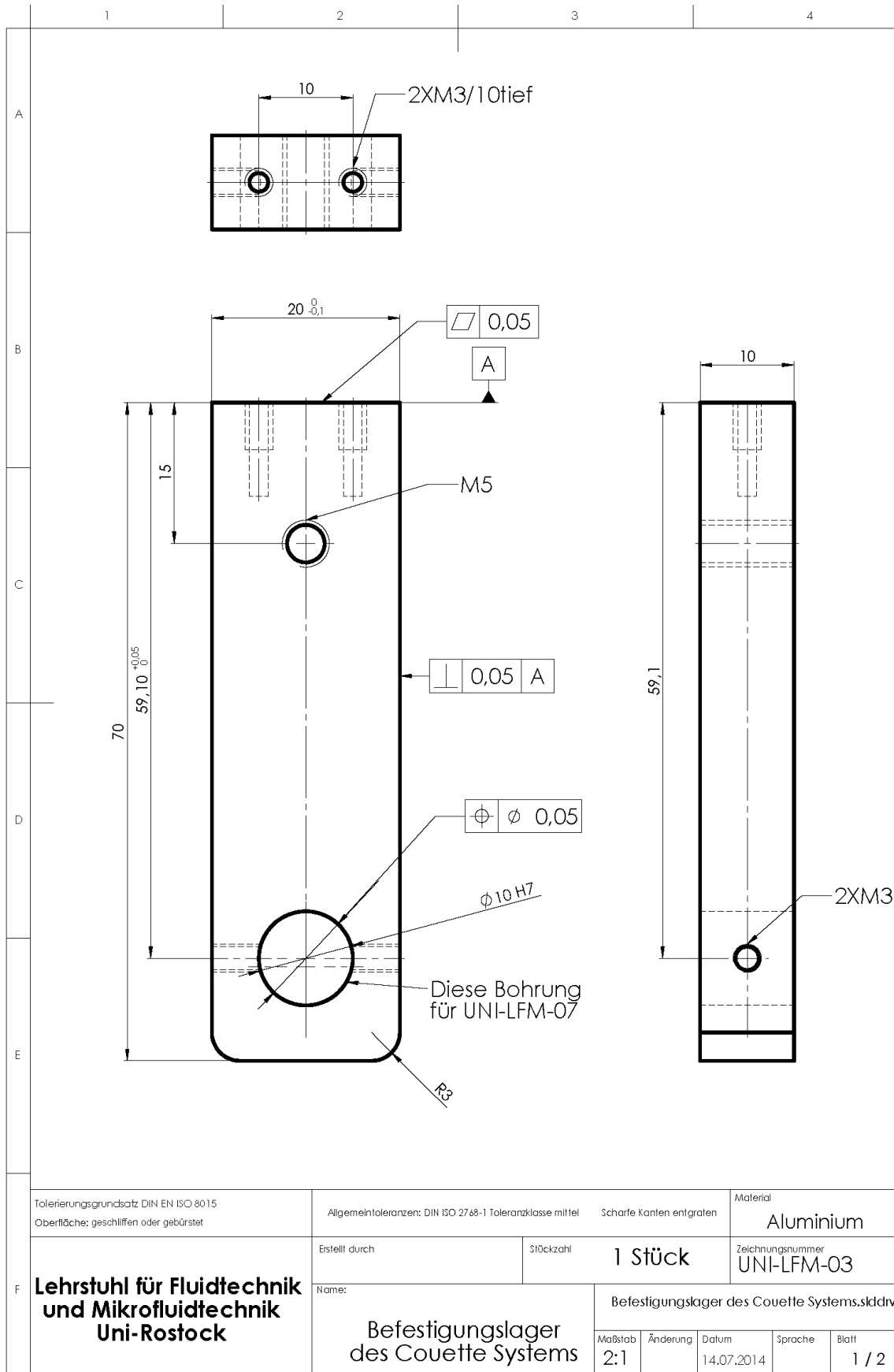
Die technischen Zeichnungen sind größtenteils im Rahmen der studentischen Arbeit von Redhwan Ebrahim Shaif Abdullah (2014) entstanden.



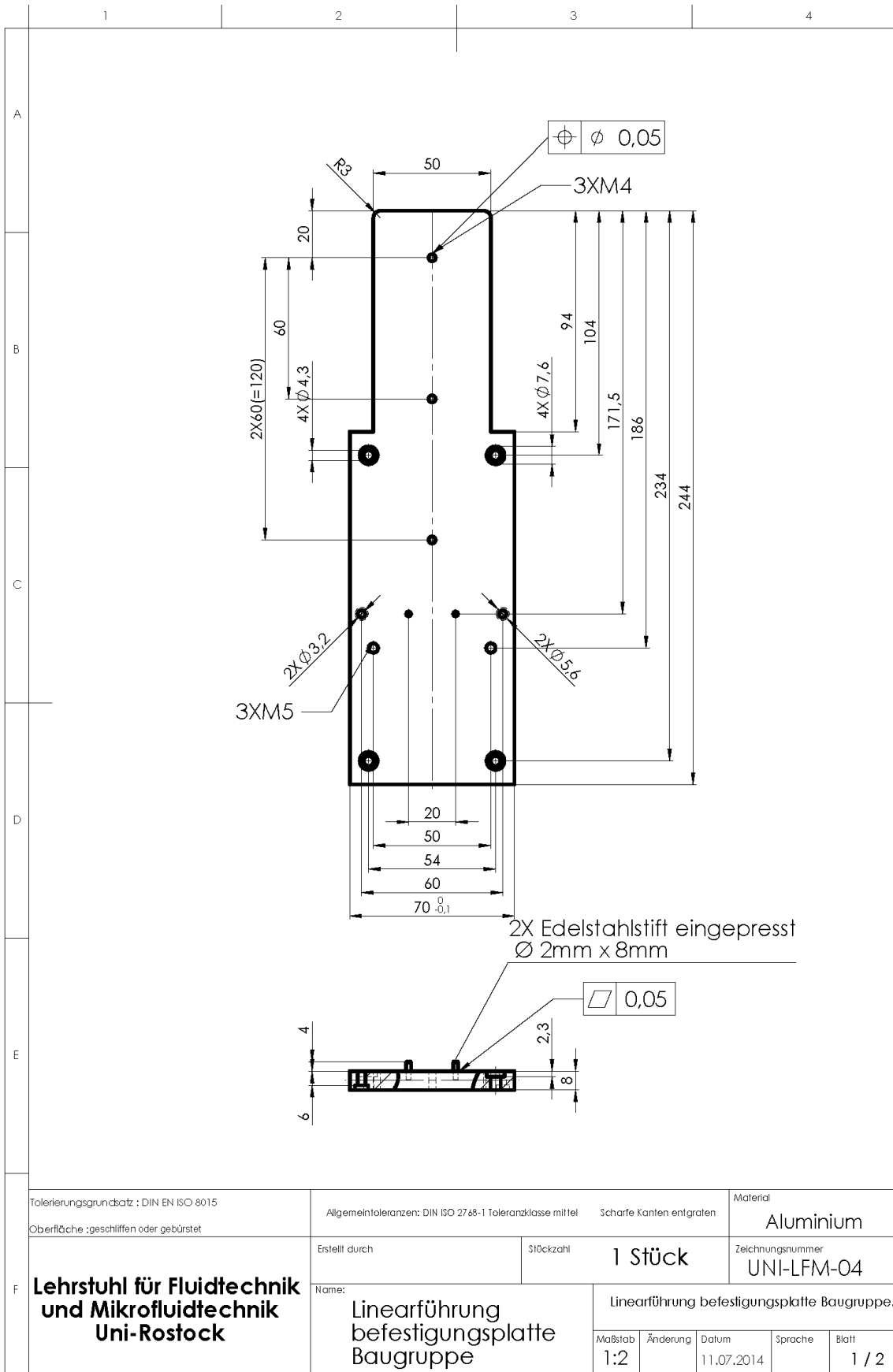




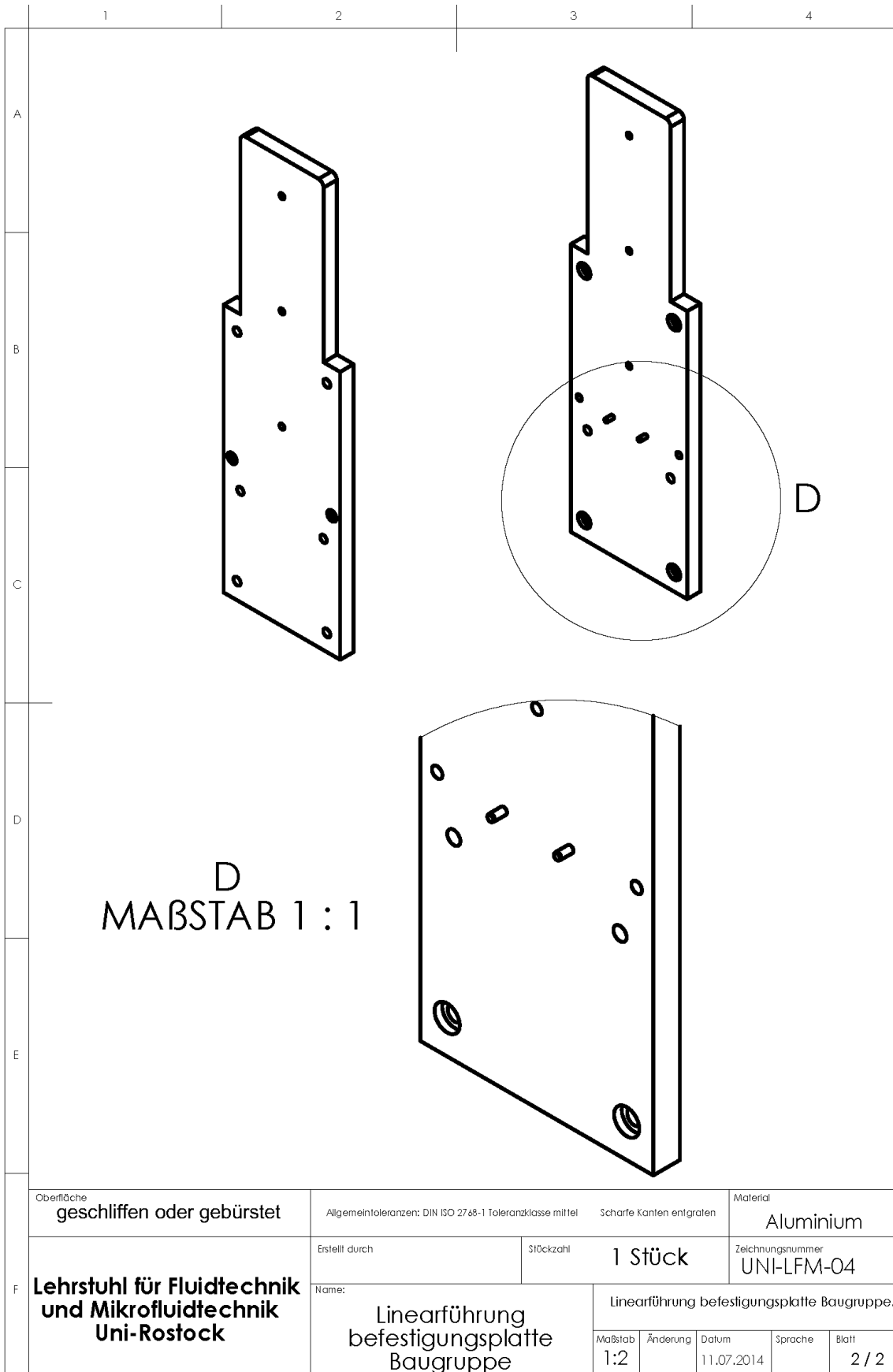
	1	2	3	4
A				
B				
C				
D				
E				
F	Oberfläche		Allgemeintoleranzen: DIN ISO 2768-1 Toleranzklasse mittel Scharfe Kanten entgraten	
			Material: Polyetheretherketon PEEK	
	Erstellt durch		Stückzahl: 1 Stück	
	Name: Lehrstuhl für Fluidtechnik und Mikrofluidtechnik Uni-Rostock		Zeichnungsnummer: UNI-LFM-02	
		Name: Baugruppe feststehender Innenzylinder mit Gewindeeinsatz		
		Baugruppe feststehender Innenzylinder mit Gewindeeinsatz		
		Maßstab: 2:1	Änderung:	Datum: 01.03.2018
			Sprache:	Blatt: 2 / 2



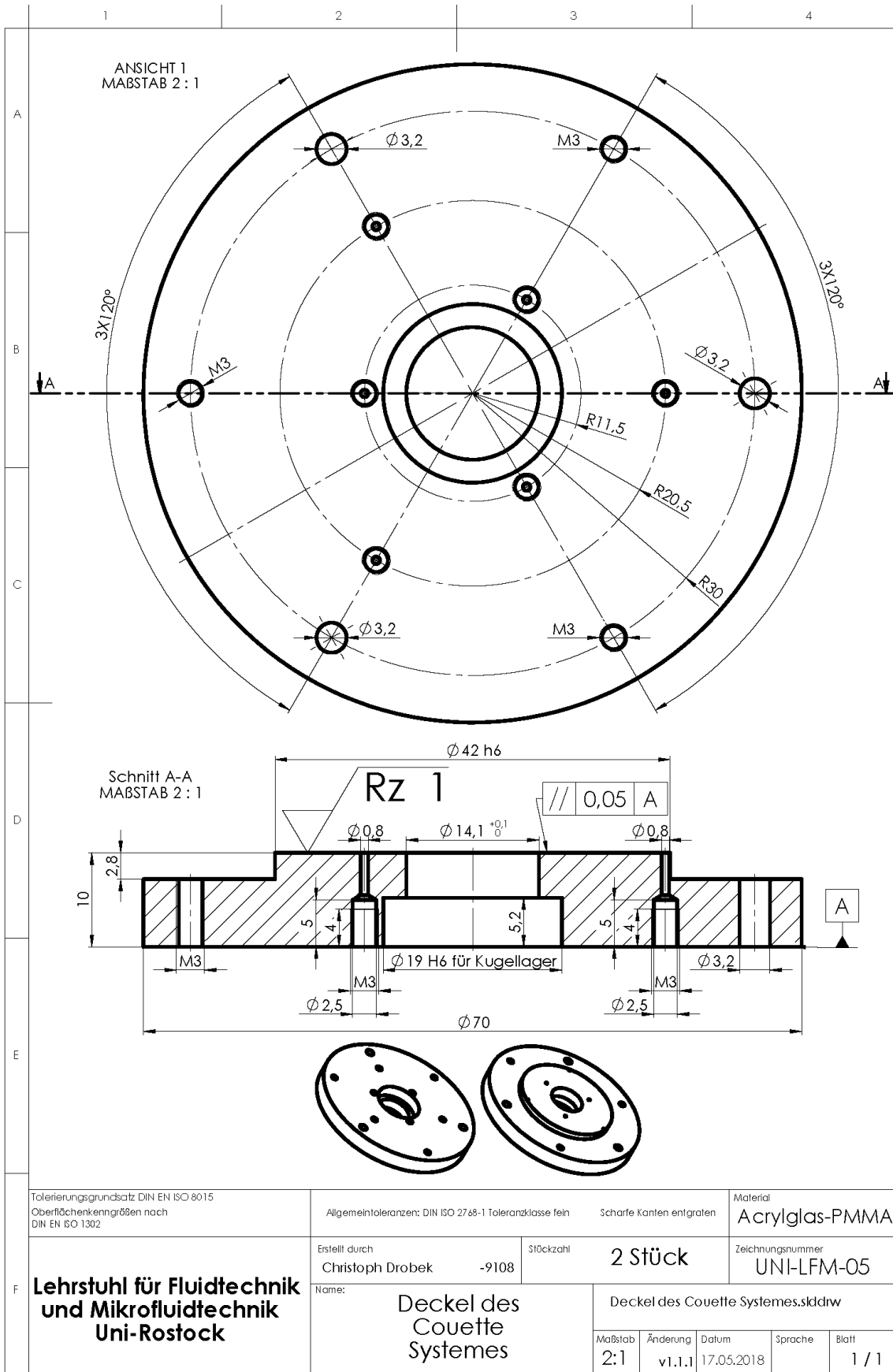
	1	2	3	4
A				
B				
C				
D				
E				
F	Oberfläche geschliffen oder gebürstet	Allgmeintoleranzen: DIN ISO 2768-1 Toleranzklasse mittel	Scharfe Kanten entgraten	Material Aluminium
	Erstellt durch	Stückzahl 1 Stück	Zeichnungsnummer UNI-LFM-03	
	Name: Lehrstuhl für Fluidtechnik und Mikrofluidtechnik Uni-Rostock		Befestigungslager des Couette Systems.skddrw	
	Befestigungslager des Couette Systems		Maßstab 2:1	Änderung
		Datum 14.07.2014	Sprache	Blatt 2 / 2

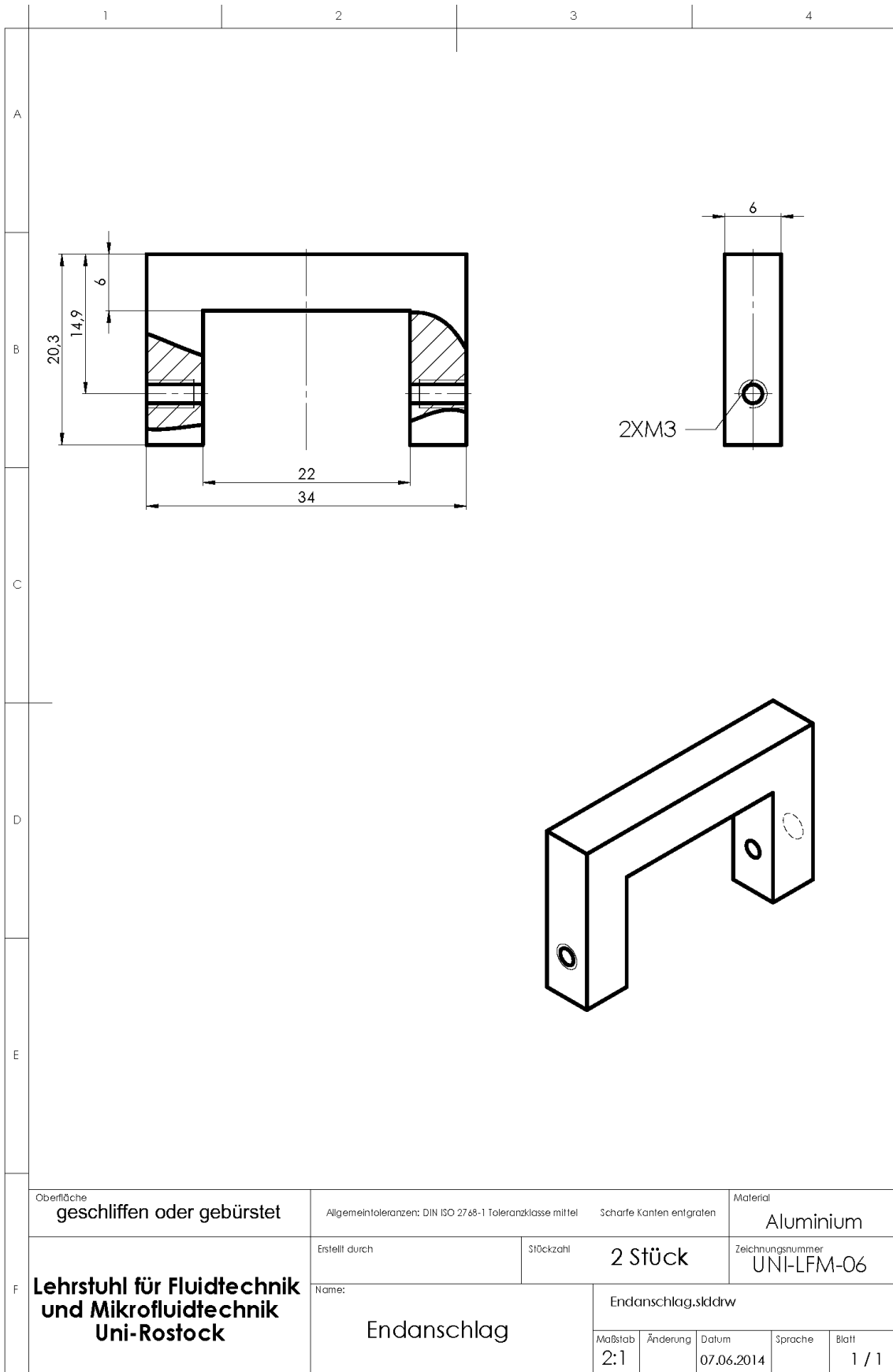


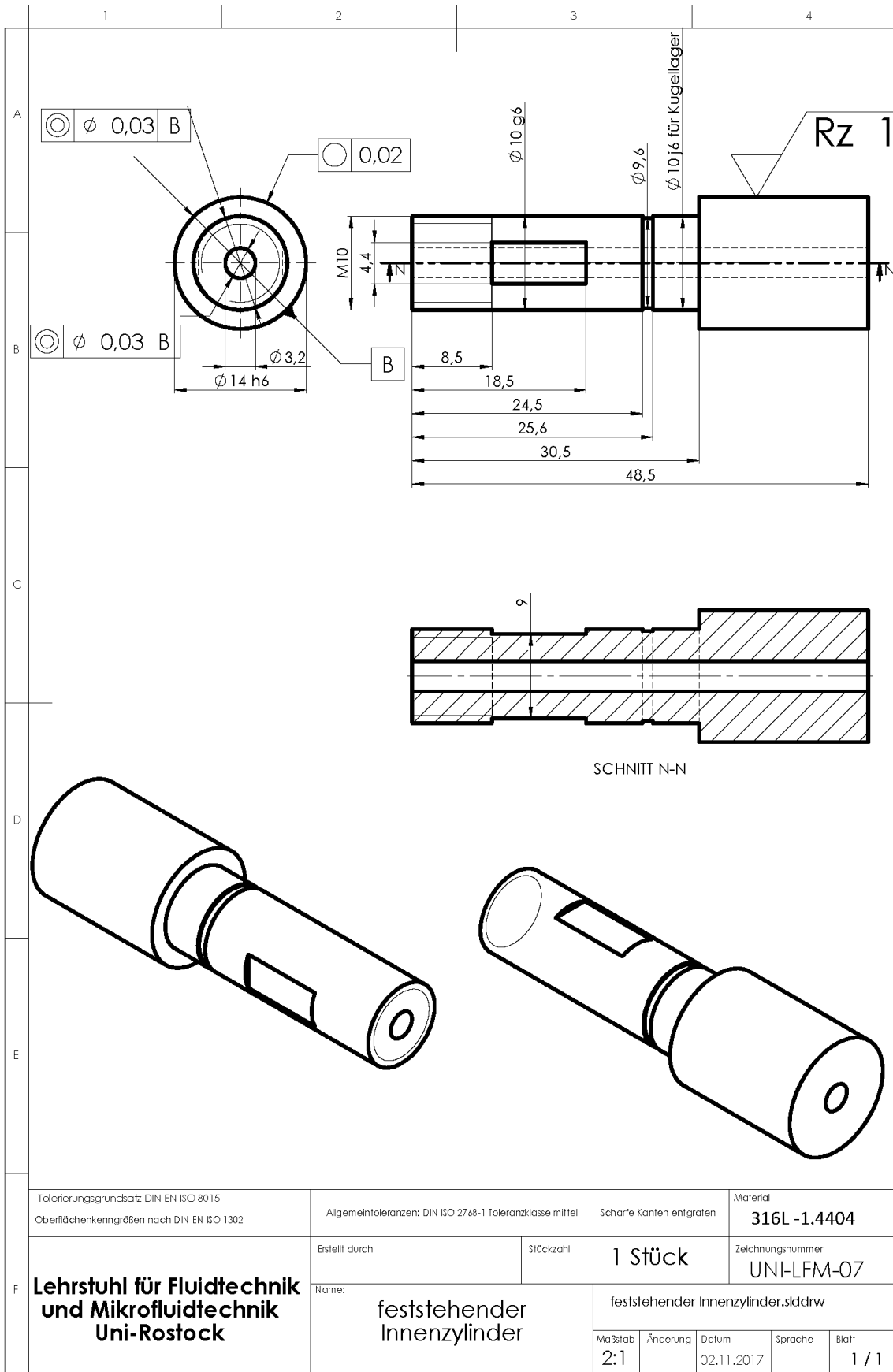
F	Tolerierungsgrundsatz : DIN EN ISO 8015		Allgemeintoleranzen: DIN ISO 2768-1 Toleranzklasse mittel		Scharfe Kanten entgraten		Material				
	Oberfläche :geschliffen oder gebürstet						Aluminium				
	Lehrstuhl für Fluidtechnik und Mikrofluidtechnik Uni-Rostock		Erstellt durch		Stückzahl		Zeichnungsnummer				
			Linearführung befestigungsplatte Baugruppe		1 Stück		UNI-LFM-04				
		Linearführung befestigungsplatte Baugruppe.slddrw									
		Maßstab		Änderung		Datum		Sprache		Blatt	
		1:2				11.07.2014				1 / 2	

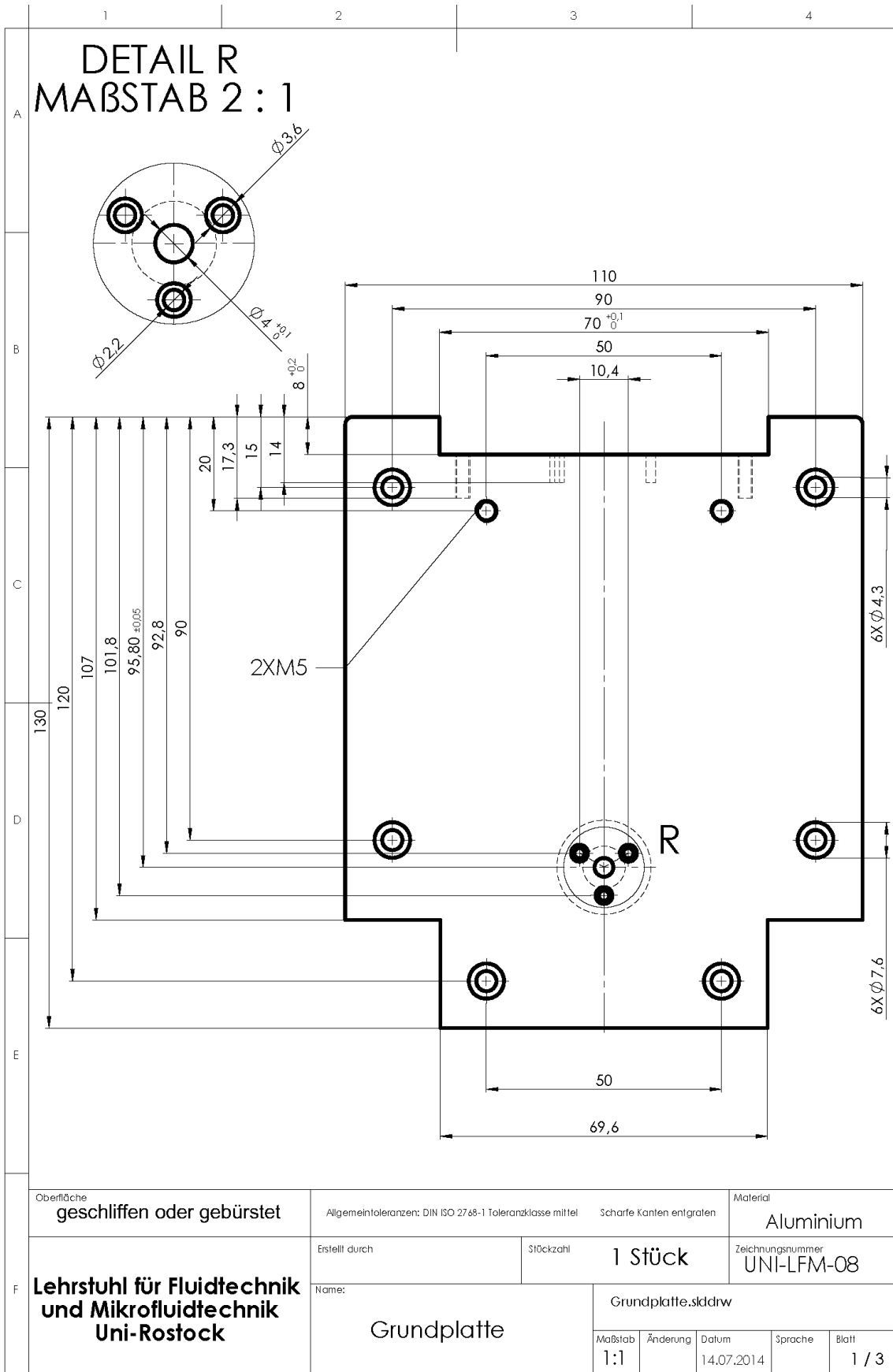


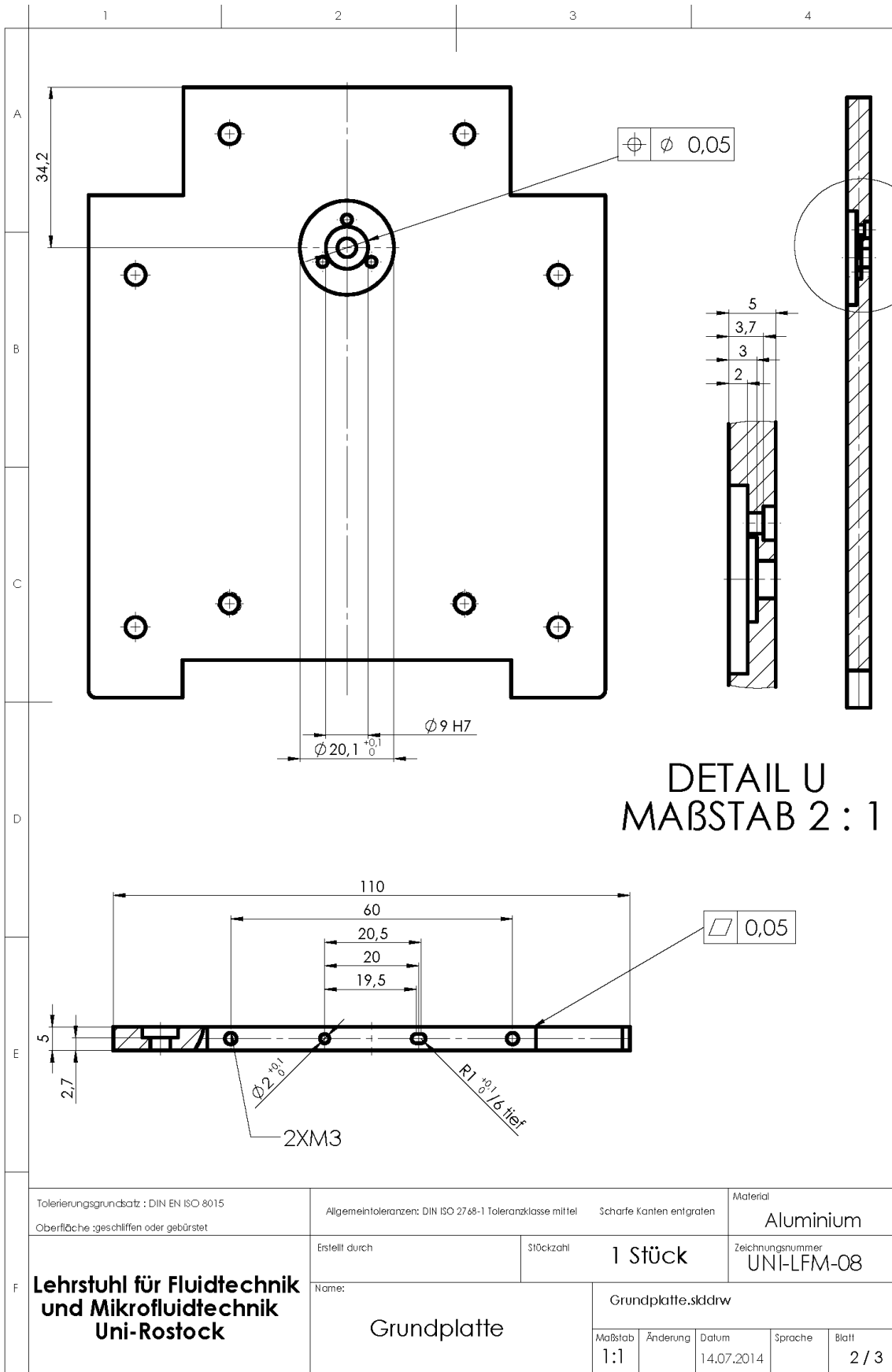
F	Oberfläche geschliffen oder gebürstet		Allgemeintoleranzen: DIN ISO 2768-1 Toleranzklasse mittel		Scharfe Kanten entgraten		Material Aluminium	
	Erstellt durch		Stückzahl		1 Stück		Zeichnungsnummer UNI-LFM-04	
	Lehrstuhl für Fluidtechnik und Mikrofluidtechnik Uni-Rostock		Name: Linearführung befestigungsplatte Baugruppe		Linearführung befestigungsplatte Baugruppe.sldrw			
					Maßstab 1:2	Änderung	Datum 11.07.2014	Sprache

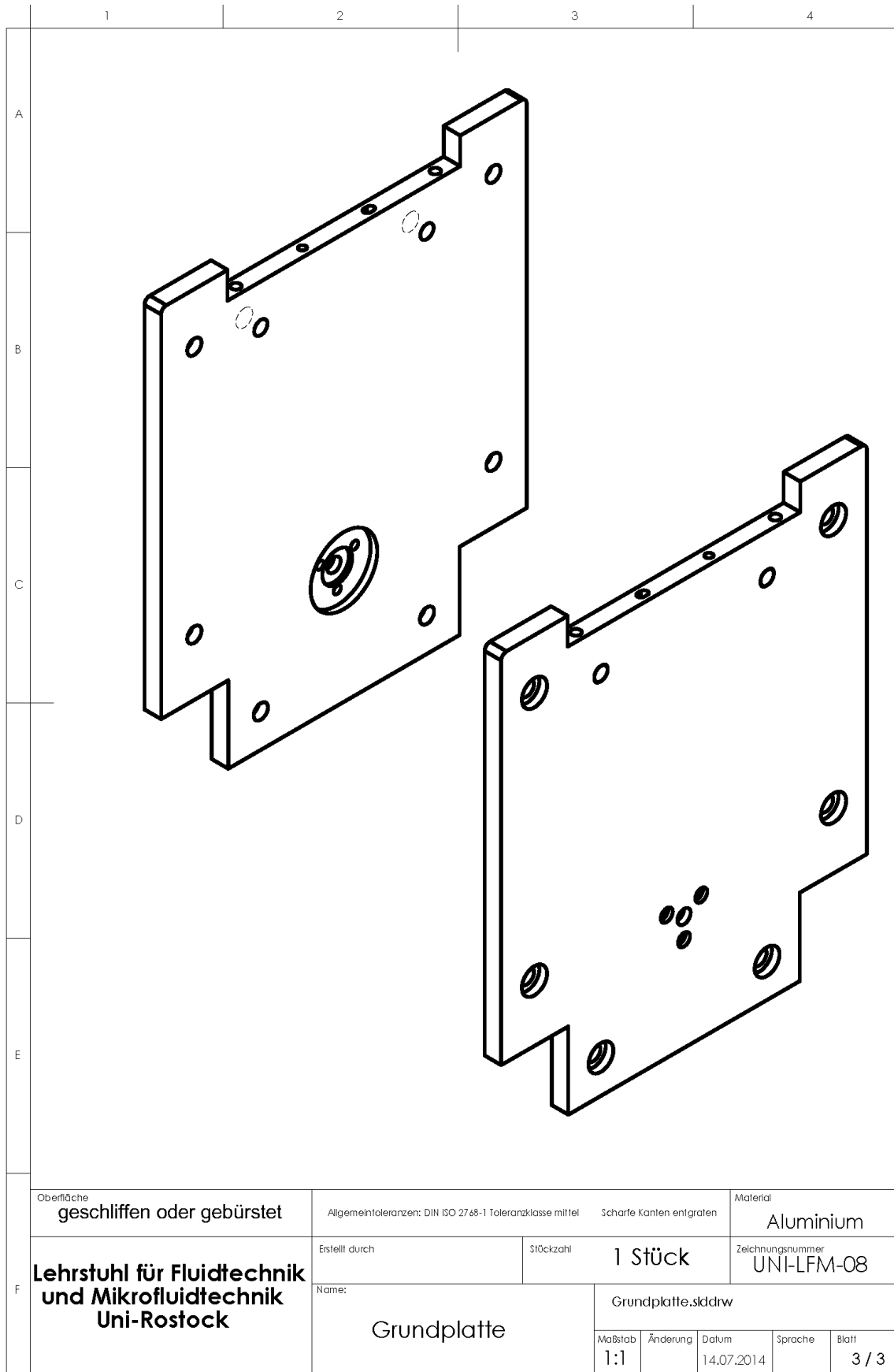


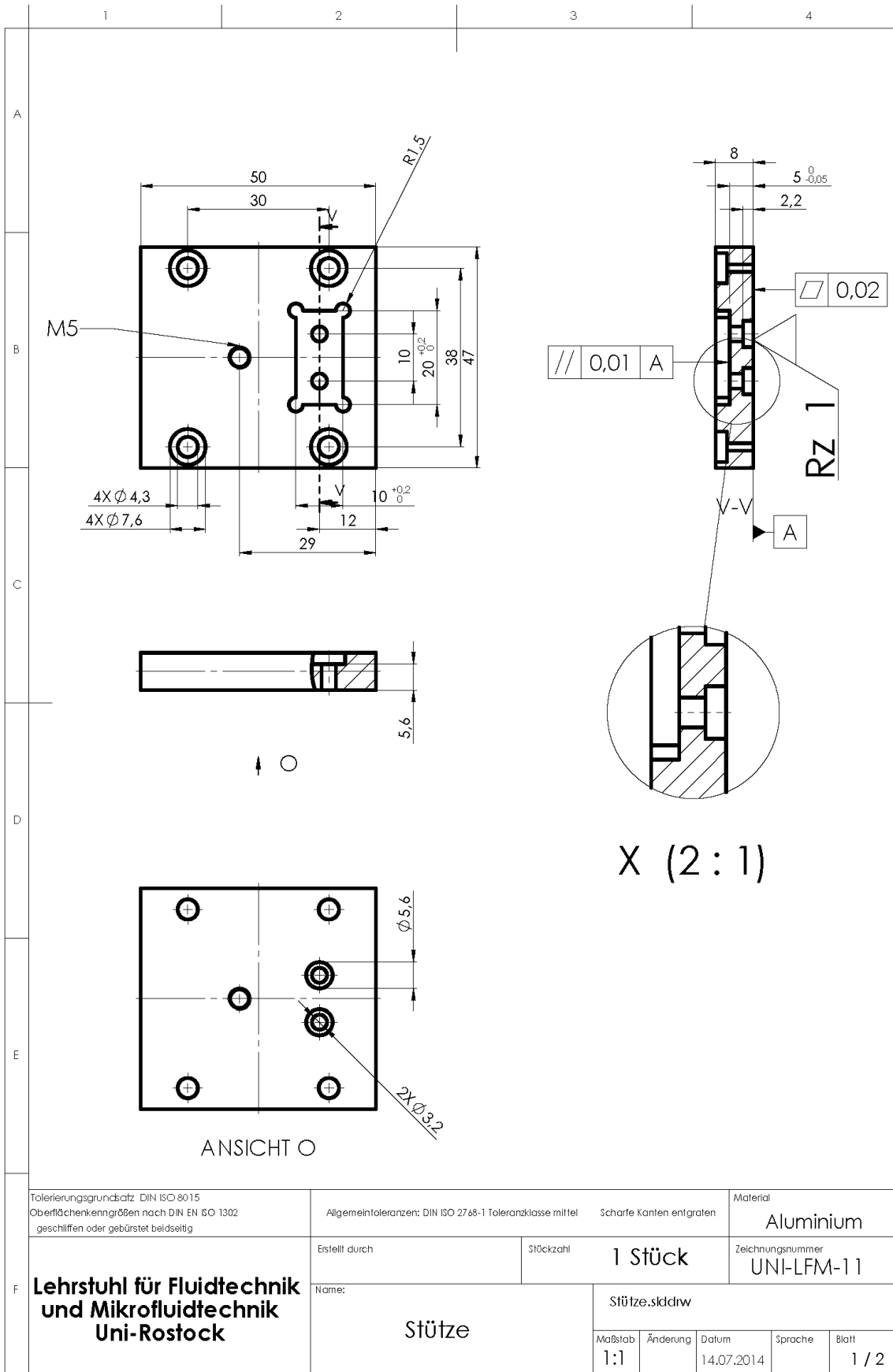












F	Tolerierungsgrundsatz: DIN ISO 8015 Oberflächenkenngrößen nach DIN EN ISO 1302 geschliffen oder gebürstet beidseitig		Allgemeintoleranzen: DIN ISO 2768-1 Toleranzklasse mittel		Scharfe Kanten entgraten		Material Aluminium				
	Erstellt durch		Stückzahl		1 Stück		Zeichnungsnummer UNI-LFM-11				
	Name:		Stütze		Stütze.skldrw						
	Lehrstuhl für Fluidtechnik und Mikrofluidtechnik Uni-Rostock		Maßstab		Änderung		Datum		Sprache		Blatt
		1:1				14.07.2014				1 / 2	

	1	2	3	4
A				
B				
C				
D				
E				
F	Oberfläche geschliffen oder gebürstet beidseitig	Allgemeintoleranzen: DIN ISO 2768-1 Toleranzklasse mittel Scharfe Kanten entgraten	Material Aluminium	
Lehrstuhl für Fluidtechnik und Mikrofluidtechnik Uni-Rostock		Erstellt durch	Stückzahl 1 Stück	Zeichnungsnummer UNI-LFM-11
		Name: Stütze		Stütze.skddrw
		Maßstab 2:1	Änderung	Datum 14.07.2014

8 Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Christoph Drobek
Geburtsdatum: 30.08.1984 in Rostock
Familienstand: ledig, 1 Kind

Beruflicher Werdegang:

Seit 09.2018 Universität Rostock, Lehrstuhl für Mikrofluidik
– wissenschaftlicher Mitarbeiter
02.2012 – 08.2018 Universität Rostock, Lehrstuhl für Fluidtechnik und Mikrofluidtechnik
– wissenschaftlicher Mitarbeiter

Studium:

10.2005 – 12.2011 Diplomstudium Maschinenbau an der Universität Rostock
Vertiefungsrichtung: Energie- und Umwelttechnik
Schwerpunkte im Hauptstudium:
- Thermische Prozesse
- Strömungstechnik
Diplomarbeit: „Simulation zyklischer Schwankungen in einer realen Motorgeometrie“
Studienarbeit: „Optimierung des Wärmeübergangs an 2D-Dellenoberflächen mit Hilfe von CFD und evolutionären Algorithmen“
Projektarbeit: “Simulation-based analysis of cavitating flow phenomena at a high-pressure hydraulic valve”
Industriepraktikum: Delphi Diesel Systems, London