

# Schonende Förderung von Biofluiden

Dr. Dorothee M. Runge\*)

Wie groß darf die mechanische Belastung auf Biofluide sein und kann ein möglichst zerstörungsfreier Transport von Zellsuspensionen in industriellen Verfahren erfolgen? Mit Hilfe der einzelligen Alge *Euglena gracilis* wurde die Eignung von Mikrozahlringpumpen für die schonende Förderung empfindlicher Flüssigkeiten überprüft.

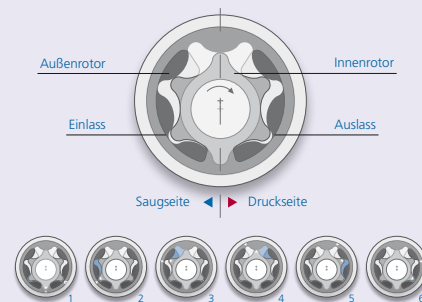


## Scherarmes Förderprinzip

Industrielle Verfahren und eine zunehmende Automatisierung von Laborprozessen im Bereich der weißen Biotechnologie sind angewiesen auf eine exakte Dosierung und eine zerstörungsfreie Förderung von Zellsuspensionen, zum Beispiel in der prozessbegleitenden Analytik. Aus der Vielzahl von Dosiersystemen und -pumpen kommen jedoch nur wenige in Frage, wenn empfindliche Flüssigkeiten gefördert und eine schonende Produktion sowie die Nachhaltigkeit von Zellen gewährleistet werden müssen. Häufig kommen dann Mikrozahlringpumpen von HNP Mikrosysteme zum Einsatz.

Mikrozahlringpumpen gehören zur Gruppe der rotatorischen Verdrängerpumpen, bei denen der Verdränger aus zwei Bauteilen besteht: Einem Innenrotor und einem Außenrotor, die sich um ihre exzentrisch versetzten Rotationsachsen drehen. Dabei vergrößern sich die Förderkammern auf der Saugseite, während sie sich auf der Druckseite gleichzeitig verkleinern. Zwischen den nierenförmigen Ein- bzw. Auslassöffnungen, die mehrere Förderkammern verbinden, entsteht so ein pulsations- und scherarmer Förderstrom.

Allerdings bringt das Pumpenprinzip mit sich, dass feine Spalten von etwa 2



Funktionsprinzip einer Mikrozahlringpumpe.

$\mu\text{m}$  zwischen den Rotoren existieren. Das wirft die Frage auf, ob die Förderung einer Zellsuspension mit einer Mikrozahlringpumpe eine zu hohe Beanspruchung der Zellen hervorruft. Zur experimentellen Untersuchung dieser Fragestellung werden das Verhalten und die Schädigung der Indikatorzelle *Euglena gracilis* betrachtet.

## Detektion der Zellschädigung

Die Größe und Form der einzelligen Alge *Euglena gracilis* hängt stark von ihren Lebensbedingungen ab. Mit einer Länge zwischen 30 und 100  $\mu\text{m}$  und einem

Tabelle 1: Auswertungsgrößen des ECOTOX-Systems.

Auswertungsgröße	Beschreibung
Motilität (in %)	Anteil der motilen <i>Euglena</i> bezogen auf die Gesamtzahl der wahrgenommenen Zellen. Als motil werden Zellen bezeichnet, die sich mindestens mit einer definierten Minimalgeschwindigkeit fortbewegen. Sie entspricht der Sedimentationsgeschwindigkeit verkapselter Zellen.
Up-Wert (in %)	Charakterisierung des gravitaktischen Bewegungsverhaltens. Anteil der motilen Zellen, die einen nach oben gerichteten Geschwindigkeitsvektor besitzen.
Formfaktor (ohne Wert)	Abweichung von einer Kugelgestalt (Formfaktor = 1). Verhältnis von Umfang zu Fläche der motilen Zellen.
Geschwindigkeit (in $\mu\text{m/s}$ )	Geschwindigkeit der motilen Zellen, berechnet aus gemessenem Geschwindigkeitsvektor der Länge $d$ und der Messzeit $\Delta t$ pro Vektor.

\*) HNP Mikrosysteme GmbH, Juri-Gagarin-Ring 4, 19370 Parchim, Tel. 03871/451-352, Fax 03871/451-333, E-Mail info@hnp-mikrosysteme.de, www.hnp-mikrosysteme.de.

Durchmesser von 8...12 µm kann sie von einem spindelförmigen langgestreckten in einen kreisrunden Zustand wechseln. Voraussetzung für dieses Verhalten ist das Fehlen einer starren Zellwand. Stattdessen ist sie von einer flexiblen Proteinhülle umgeben, die sie auf hydrodynamische Reize wie Scher- und Dehnströmungen äußerst sensibel reagieren lässt. Eine etwa körperlange Schleppgeißel befähigt die Alge zu einer selbständigen Fortbewegung. Die Geschwindigkeit beträgt maximal 100 µm/s.

Unter normalen Bedingungen lebt *Euglena gracilis* photoautotroph. Ein fein ausbalanciertes Zusammenspiel von Photo- und Gravitaxis dient der Suche nach Habitaten mit optimalen Bedingungen für Licht und Nahrung. Als Gravitaxis wird die Orientierung im Schwerfeld der Erde, als Phototaxis die auf eine Lichtquelle bezogene Bewegung bezeichnet. Um in Bereiche der Wassersäule zu gelangen, in der die Photosynthese am effektivsten ist, schwimmen die Zellen gesteuert durch ihre negative Gravitaxis nach oben. Diese Reaktion wird durch geringen Lichteinfall unterstützt.



Vermehrung von *Euglena gracilis* im Erlenmeyerkolben.

Ungünstige Lebensbedingungen, wie limitierte Nährstoffmengen oder strömungsmechanische Kräfte, führen zu einer Veränderung der Geschwindigkeit und Gerichtetheit ihrer Bewegungen sowie zu Veränderungen des Zelläußeren. Bei steigender hydrodynamischer Belastung wird die Alge langsamer, verändert ihre Form zu einer kugelförmigen Gestalt und verliert die Fähigkeit zur Orientierung, bis sie ihre Geißel abwirft und sich in einer Gallerthülle verkapselt.

## ECOTOX Monitoring-System

Die Schädigung kann mit dem speziell für die Indikatorzelle *Euglena gracilis* entwickelten ECOTOX Monitoring-System untersucht werden. Es handelt sich dabei um ein Echtzeit bildverarbeitendes Analysesystem, welches verschiedene Bewegungs- und Formparameter des Einzellers quantifizieren kann. Hierbei werden Veränderungen der spezifischen Eigenschaften der Indikatorzelle ausgewertet, die auf mechanische Reize äußerst sensibel mit Veränderungen der Zellform, dem Verlust der Orientierungsfähigkeit und der Motilität reagiert. So kann einfach und schnell die Inhibierung der Zellen aufgrund mechanischer Belastung bestimmt werden.

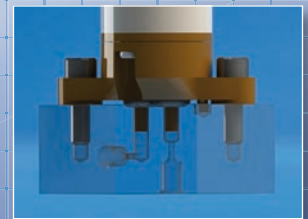
Das Herzstück des Systems ist eine kleine Küvette, in die die Probe gepumpt wird. Über ein Miniaturmikroskop und eine CCD-Kamera wird ein Videosignal generiert, welches digitalisiert und ausgewertet wird. Zunächst wird eine unbelastete Vergleichsprobe mit Hilfe einer Peristaltikpumpe in die Küvette gepumpt und die Bewegungsparameter der Zellen über einen gleichbleibenden Zeitraum aufgenommen. Anschließend wird die beanspruchte Probe in die Küvette gefördert. Die Daten der Probe werden mit den Kontrollmessungen verglichen und ausgewertet. So gelingt es nicht nur, verkapselte von aktiven Zellen zu unterscheiden, es ist auch möglich, die Schädigung der weniger beeinträchtigten Algen abgestuft zu quantifizieren.

Entwickelt wurde das automatisierte biologische Testsystem ECOTOX zur kontinuierlichen Gewässerüberwachung. Es können aber auch Messungen mit bekannten Substanzen wie Schadstoffen und Hemmstoffen durchgeführt werden. Der Fachbereich Chemische und Biologische Prozesstechnik der Universität Erlangen-Nürnberg nutzt das System, um die mechanische Belastung von Biofluiden in biotechnologischen Prozessen zu untersuchen. Beispielsweise gibt ein Vergleich der Parameter vor und nach dem Durchströmen einer Pumpe Aufschluss über deren Wirkung auf die Zellen.

Die Untersuchungen zur Zellschädigung wurden mit der Mikrozahnring-

# EXAKT DOSIEREN

## Die neuen Miniatur-Membranpumpen Typ LPL2 für Flüssigkeiten



- Mediengetrennte Bauform
- Leistungsaufnahme nur 2,5 W
- Elektrischer Steckeranschluss
- Kein Totvolumen
- Verschiedene Typen verfügbar: 25 µl oder 50 µl pro Impuls, ± 6%
- 12 VDC oder 24 VDC
- Schaltfrequenz 2 Hz max.

ComPaMED  
Düsseldorf  
14-17.11.12  
Halle: 08A  
Stand: K09



LEE Hydraulische  
Miniaturkomponenten GmbH  
Am Limespark 2 · 65843 Sulzbach  
Telefon 06196 / 773 69-0  
E-Mail info@lee.de · www.lee.de

pumpe mzr-2921 bei vier verschiedenen Volumenströmen von 0,1...18 ml/min durchgeführt, das entspricht einem Drehzahlbereich von 33...6000 min<sup>-1</sup>.

Die Inhibierung der Motilität ändert sich mit steigendem Volumenstrom fast linear und erreicht einen Maximalwert von knapp 20 %. Das bedeutet, dass etwa vier Fünftel aller Zellen die Pumpe lebend passieren, ohne ihre Geißel zu verlieren.

Die Veränderungen der anderen Parameter verlaufen nicht linear. Der Up-Wert, der dem Prozentsatz an nach oben schwimmenden Zellen bezogen auf die Gesamtheit aller aktiven Zellen entspricht, erreicht eine Inhibierung von 10 %. Bei einer Standardabweichung von geringfügig unter 10 % ist der Einfluss der Mikrozahnringpumpe auf diesen Wert als gering einzustufen.

Weder der Formfaktor noch die Geschwindigkeit verändern sich im Vergleich zur Referenzprobe signifikant. Bei einem Volumenstrom von 0,1 ml/min wird die Form der Zellen etwas gestreckter, bei höheren Volumenströmen etwas rundlicher. Die Inhibierung der Geschwindigkeit verhält sich ähnlich. Bei der kleinsten Drehzahl ist sie negativ, das bedeutet, die Zellen schwimmen im Vergleich zur Kontrollmessung schneller, bei höheren Drehzahlen werden sie etwas langsamer.

Scher- und auch Dehnströmungen zurückzuführen ist.

## Pumpen im Vergleich

Um die Auswirkungen der Förderung von Zellen durch die Mikrozahnringpumpe mzr-2921 einordnen zu können, ist eine vergleichende Betrachtung mit anderen Pumpentypen geboten. Dazu wurde einerseits eine Zahnradpumpe und andererseits eine Schlauchpumpe herangezogen. Bei der Zahnradpumpe handelt es sich um eine selbstansaugende Kraftstoff- oder Wasserpumpe, bei der Schlauchpumpe um ein Model mit sechs Rollen. Die unterschiedlichen Drehzahlbereiche der Pumpen sind in Tabelle 2 aufgelistet.

Vergleicht man die Inhibierung der Motilität in Abhängigkeit vom Volumenstrom, so zeigt sich, dass die Zahnradpumpe, die allgemein als ungeeignet für schersensitive Suspensionen gilt, die Zellen am stärksten inhibiert. Mehr als 80 % der Zellen werden bei der höchsten Drehzahl so belastet, dass sie sich verkapseln oder völlig inaktiv werden. Die Anfangsdrehzahl von 2250 min<sup>-1</sup> führt dagegen unerwarteter Weise zur Aktivierung der Zellen.

Schlauchpumpen werden in der Forschung und Industrie häufig zur Förderung von Biofluiden eingesetzt. Sie haben den Ruf, besonders schonend zu empfindlichem Fördergut wie beispielsweise Blutzellen zu sein. Die Ergebnisse der für diesen Förderversuch eingesetzten Schlauchpumpe bestätigen dies jedoch nicht. Schon bei einer geringen Drehzahl von 60 min<sup>-1</sup> war eine Inhibierung der Algen im Bereich von 10 % zu beobachten, bei der höchsten Drehzahl von 200 min<sup>-1</sup> lag die Inhibierung bei ca. 35 % und damit deutlich unterhalb der Schädigungsrate der Zahnradpumpe. Die frühe Schädigung ist vermutlich auf Quetschungen von Zellen zurückzuführen, die sich im Schlauch durch das Zusammendrücken zwischen den Andruckführungen der Rollen ergeben.

Vergleicht man das Ergebnis von 20 % Inhibierung der Motilität durch die Mikrozahnringpumpe mit 70 % Inhibierung durch die Zahnradpumpe bei einer Drehzahl von 6000 min<sup>-1</sup>, so ist die Inhibierung der Motilität in der Mikrozahnringpumpe als gering einzustufen.

Ein ähnliches Bild zeigen die Ergebnisse zur Inhibierung des Up-Wertes: Während die maximale Inhibierung durch die Mikro-

Tabelle 2: In der Versuchsreihe verwendeter Pumpendrehzahlbereich [min<sup>-1</sup>].

	minimal	maximal
Zahnradpumpe	2250	11200
Schlauchpumpe	60	200
Mikrozahnringpumpe	33	6000

zahnringpumpe bei 10 % liegt, nimmt die Desorientierung der Zellen, die Zahnradpumpe passiert haben, mit steigender Drehzahl bis zu einem Wert von fast 45 % zu. Ähnlich verläuft die Inhibierung im Fall der Schlauchpumpe, allerdings beläuft sich der Maximalwert hier auf 20 %.

## Fazit

Die Versuchsergebnisse zeigen, dass die Mikrozahnringpumpe auch bei hohen Drehzahlen schonend arbeitet. Als Grund hierfür werden die engen Spalte an den Rotorstirnflächen unterstellt, die das Eindringen der Zellen in die scherkraftintensiven Spalte verhindern. Ein weiterer Grund wird in der Präzision der Pumpe gesehen, die gegenüber der Zahnradpumpe keine Relativbewegung zeigt. Die Präzision wird als die Hauptursache für das positive Ergebnis angenommen. Zu bedenken bleibt allerdings, dass es sich um zellspezifische Messdaten handelt. Größere oder kleinere Zellen oder Zellen mit einem anderen Aufbau können zu anderen Untersuchungsergebnissen führen.

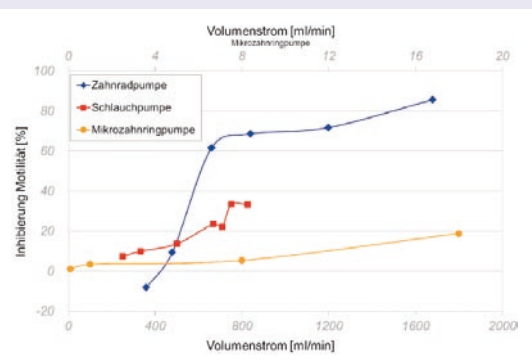
Die Frage nach der Eignung von Mikrozahnringpumpen für die schonende Förderung empfindlicher Flüssigkeiten konnte somit positiv beantwortet werden. Im speziellen Anwendungsfall empfiehlt sich jedoch ein Test mit der vorgesehenen Zellsuspension.

Die Untersuchungen wurden am Lehrstuhl für Prozessmaschinen und Anlagentechnik der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg von Frau Menden durchgeführt, Lehrstuhlinhaber ist Prof. Dr.-Ing. E. Schlücker.



### Mikrozahnringpumpe mzr-2921

HNP Mikrosysteme, Parchim,  
Tel. 03871/451-300,  
Fax 451-333,  
www.hnp-mikrosysteme.de



Inhibierung der Motilität als Funktion des Volumenstroms in der Mikrozahnringpumpe mzr-2921 im Vergleich zu einer Zahnradpumpe und einer Schlauchpumpe.

Insgesamt hat die untersuchte Pumpe mzr-2921 einen sehr geringen Einfluss auf das Verhalten von *Euglena gracilis*. Inhibierungen bis 10 % sind bei biologischen Systemen noch innerhalb der erwarteten Standardabweichung. Einzig die Motilität der Zellen wird signifikant reduziert, was auf die bei 6000 min<sup>-1</sup> schon deutlich gesteigerten fluid-dynamischen Effekte wie