

UNTERSUCHUNGEN ZUM STRÖMUNGSVERHALTEN DES EINWEG-VIBROMIX-BIOREAKTORS

Christian Löffelholz¹, Sören Werner¹, Dieter Eibl¹, Peter Ay²

¹ Züricher Hochschule für Angewandte Wissenschaften, Department Life Sciences and Facility Management, Grüental, 8820 Wädenswil, Schweiz

² Brandenburgische Technische Universität Cottbus, Lehrstuhl für Aufarbeitungstechnik, Siemens-Halske-Ring 8, 03046 Cottbus, Deutschland

Einweg-Bioreaktoren, Computational Fluid Dynamics, Particle Image Velocimetry, Einweg-Vibromix-Bioreaktor

Zusammenfassung

Der Einweg-Vibromix-Bioreaktor mit seiner oszillierenden und mit konischen Bohrungen versehenen Scheibe wird hinsichtlich der Strömungsausprägung, der Fluidgeschwindigkeiten und den auf das Mischorgan wirkenden Kräften, numerisch und experimentell untersucht. Bei einer Frequenz von 13 Hz und einer Amplitude von 1,05 mm wird eine radiale Strömungsausprägung aufgezeigt. Durch die konischen Bohrungen wird ein Düseneffekt induziert, wobei die Abweichungen der gemittelten maximalen Geschwindigkeiten \bar{v}_{\max} für beide Ansätze 79 % (Scheibe 1) und 87 % (Scheibe 2) betragen. Wird zudem die auf die Scheiben wirkende Kraft betrachtet, werden identische Verläufe in Abhängigkeit der Scheibenposition, jedoch nicht für die Absolutwerte, ersichtlich. Künftige Untersuchungen ziehen weitere Geometrien für die PIV-Messungen und CFD-Simulationen in Betracht, um einen angestrebten Vergleich der Scheibenvariation im Hinblick auf Zellkulturapplikationen anzufertigen.

Einleitung

In der biopharmazeutischen Industrie werden neben den traditionellen Rührreaktoren auch zunehmend Einwegbioreaktoren zur Produktion von animalen Zellen und deren Wirksubstanzen eingesetzt. Die neuartigen Bioreaktoren bestehen aus flexiblen oder rigiden Kunststoffbehältern, die mit dem Mischorgan verschweisst oder aseptisch verbundenen sind. Die Kunststoffbehälter werden mittels Gammastrahlen beim Hersteller sterilisiert, was den Einsatz von Dampf zur Sterilisation am Produktionsort erübrigt und das Risiko von Kontaminationen bei der Zellkultivierung verringert.

Im Einweg-Vibromix-Bioreaktor induziert eine vertikal oszillierende Scheibe die Fluidströmung, deren Ausprägung von der Scheibengeometrie und der Gestaltung der konisch in die Scheibe integrierten Bohrungen sowie der Position und der Anzahl des Mischorganes abhängig ist (Eibl *et al.*, 2010 und Löffelholz *et al.*, 2010). Der Einsatz von Gleitringdichtungen, die in Rührreaktoren häufig verwendet werden, ist durch die oszillierende Bewegung und durch das Verschweissen des Mischorganes mit dem flexiblen Behälter nicht notwendig.

Dieser Beitrag beschreibt den Einsatz einer numerischen Methode zur Charakterisierung des Strömungsverhaltens im Einweg-Vibromix-Bioreaktor, wobei die Strömungsausprägung und -geschwindigkeiten sowie die eingetragenen Kräfte bei unterschiedlichen Geometrien der

oszillierenden Scheibe im Fokus stehen. Eine Validierung der numerisch ermittelten Ergebnisse wird mittels *Particle Image Velocimetry* (PIV) aufgezeigt, die sich zu einer Standardmethode zur Messung von Strömungsgeschwindigkeiten entwickelt hat (Kruse und von Rohr, 2004; Niels *et al.*, 2002; Fitch *et al.*, 2005; Zadghaffari *et al.*, 2009).

Material und Methoden

Bioreaktordesign und Konstruktion

Der Einweg-Vibromix-Bioreaktor, auch Saltus Bag genannt, mit seiner oszillierenden Scheibe schematisch in Abb. 1 dargestellt. Das Arbeitsvolumen beträgt 10 L wobei ein H/D Verhältnis von 1,65 vorliegt (Abb. 1).

Die Frequenz und Amplitude der Scheibenoszillation sind je nach Anwendung frei einstellbar. Die numerischen und experimentellen Untersuchungen werden mit einer definierten Frequenz von 13 Hz und bei 1,05 mm Amplitude durchgeführt, welches den typischen Parametern für eine Kultivierungen von tierischen Zellen entspricht (Löffelholz, 2007). Die Variationen der im Folgenden verwendeten Scheibengeometrie sind in Tab. 1 aufgeführt.

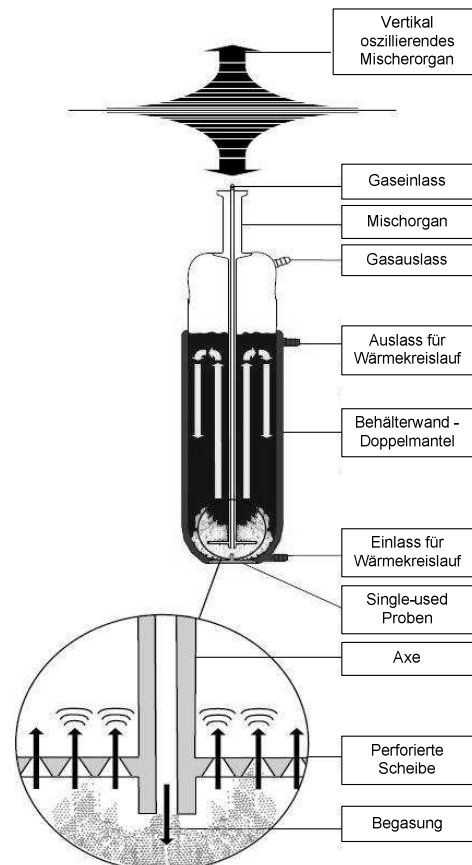


Abb. 1: Schematische Darstellung eines Einweg-Vibromix-Bioreaktors (angepasst an Werner und Nägeli, 2007)

Tab. 1: Übersicht über die Konstruktionsdaten der verwendeten Vibromix-Bioreaktor-Scheiben

	Einheit	Scheibe 1	Scheibe 2
Durchmesser Reaktor	mm	200	200
Durchmesser Scheibe	mm	140	140
Durchmesser Bohrungseingang	mm	10	5
Winkel der Bohrungen	°	60	60
Anzahl Bohrungen	-	36	36

Computational Fluid Dynamics (CFD)

Die Geometrie des Vibromix-Bioreaktors wurde mit Gambit (Version 2.3) konstruiert und mit ca. 1 Mio. tetraederförmigen Gitterzellen vernetzt. Die Strömungsberechnungen erfolgten in FLUENT® (Version 6.3.23) der Firma ANSYS unter instationären Bedingungen und des SST k- ω Turbulenzmodells. Als Fluid wurde Wasser bei 20° verwendet, da Zellkulturmedien als Newton'sche Flüssigkeiten betrachtet werden. Mittels user-defined-functions (UDF) wurde die oszillierende Bewegung der Scheiben eingebunden und der Kraffteintrag an der Welle aufgezeichnet. Nach dem Einstellen eines quasi-stationären Strömungszustandes wurden die Vibromix-Simulationen über einen definierten Zeitraum (eine Sekunde) weiter berechnet und über diesen gemittelt. Das zeitlich gemittelte Strömungsfeld des Einweg-Vibromix-Bioreaktors wurde mit den PIV-Messungen abgeglichen.

Particle Image Velocimetry (PIV)

Bedingt durch die Eigenschaften der Kunststoffbehälter und ihrer geringen Transparenz, erfolgten die PIV-Untersuchungen an einem Ersatzmodell aus DURAN®Glas mit identischen geometrischen Abmaßen. Unter Verwendung eines NanoS Doppelpuls Lasers (LaVision, Deutschland) und der Kamera Imager pro X4 M wurden die Fluidströmung, die mit fluoreszierenden Partikel mit einem Durchmesser von 20-50 μm (LaVision, 1002192) versetzt ist, aufgezeichnet. Der zeitliche Versatz (dt) der aufgenommenen Bilder betrug 1200 μs . Mit einem Abstand (s) von 5 mm erfolgten die PIV-Messungen des Vibromix-Bioreaktors in vertikale und horizontale Richtung. Für jede x-y Paarung wurden, bedingt der statistischen Sicherheit, 100 Doppelpuls-Bilder aufgenommen und mittels der Software DaVis (Version 7.2.2) ausgewertet.

Leistungsmessung

Die auf die Welle wirkende Kraft wurde über einen Kraftmesser (HBM, Schweiz) und in Abhängigkeit zur Scheibenposition mittels Wegmesser (HBM, Schweiz) aufgezeichnet und ausgewertet (Catman®Easy, Version 5.2.2).

Ergebnisse und Diskussion

Bestimmung des Strömungsverhaltens mittels CFD

In Abb. 2 sind die zeitlich gemittelten Strömungsgeschwindigkeiten der beiden Scheibenvariationen (Tab. 1) bei einem Reaktorradius von 100 mm, einer Frequenz von 13 Hz sowie 1,05 mm Amplitude gegenübergestellt.

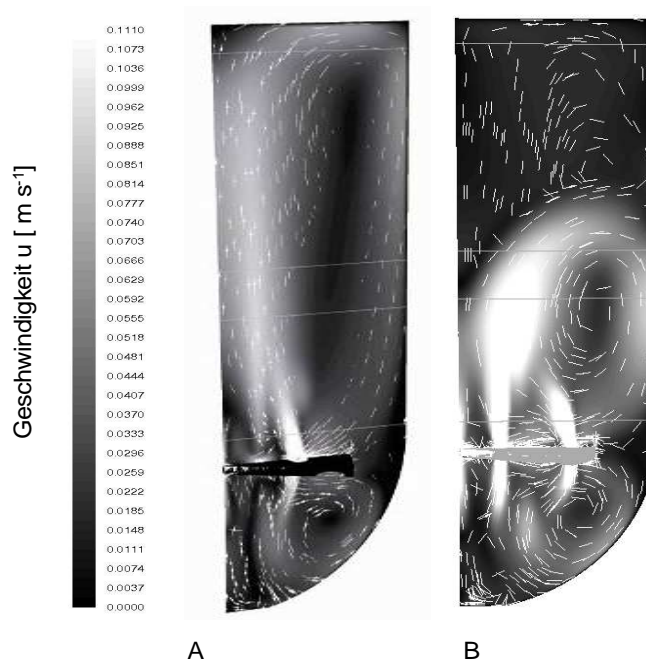


Abb. 2: Ausprägung der Fluidströmungen (Vektoren) und der gemittelten Strömungsgeschwindigkeiten (Konturplot, normiert auf $0,11 \text{ m s}^{-1}$) der Scheibe 1 (A) und Scheibe 2 (B) bei einem maximalen Reaktorradius von 100 mm, einer Frequenz von 13 Hz sowie 1,05 mm Amplitude.

Die oszillierende Bewegung und die konischen Bohrungen der Scheiben induzieren eine entgegengesetzte radiale Fluidströmung mit zwei Hauptwirbeln in den Reaktorräumen. Die unterhalb der Scheibe ersichtlichen Wirbel verlaufen abwärts in Richtung Rundboden und strömen an der Glaswand aufwärts zurück zur Scheibe. Die sich oberhalb der Scheibe ausbildenden Wirbel verlaufen parallel zur Welle (Abb. 1) in Richtung Fluidoberfläche und strömen an der Reaktorwand abwärts. Bei der Auswertung der Resultate von Scheibe 1 (Abb. 2 A) wird deutlich, dass der obere Wirbel den gesamten Fluidraum umfasst, wohingegen eine primäre Strömungsausprägung der Scheibe 2 (Abb. 2 B) lediglich in ca. 75% des Fluides stattfindet. Es ist jedoch zu berücksichtigen, dass die Wirbel zu unterschiedlichen Zeitpunkten sowie in Abhängigkeit der Scheibenposition auftreten und durch die Mittelung zusammen abgebildet werden.

Die Maxima der gemittelten Fluidgeschwindigkeiten (\bar{v}_{max}) (Abb. 2 Konturen, normiert auf $0,11 \text{ m s}^{-1}$) sind deutlich durch die hellen bis weissen Konturen oberhalb der konischen Bohrungen zu erkennen. Des Weiteren wird der Düsen- oder Freistrahleffekt der konischen Bohrungen für beide Geometrievariationen abgebildet. Die numerisch ermittelten \bar{v}_{max} betragen für Scheibe 1 $0,29 \text{ m s}^{-1}$ und für Scheibe 2 $0,49 \text{ m s}^{-1}$. Diese Differenzen resultieren aus der Reduktion des Bohrungsdurchmessers bei gleich bleibender Scheibengeschwindigkeit.

Bestimmung des Strömungsverhaltens mittels PIV

Die Ergebnisse der PIV-Untersuchungen sind anhand der auftretenden Strömungsgeschwindigkeiten und der Ausprägung der Fluidströmung für die Scheibevariationen (Tab. 1) in Abb. 3 (A-D) bei einem Reaktorradius 100 mm, einer Frequenz von 13 Hz sowie 1,05 mm Amplitude aufgeführt.

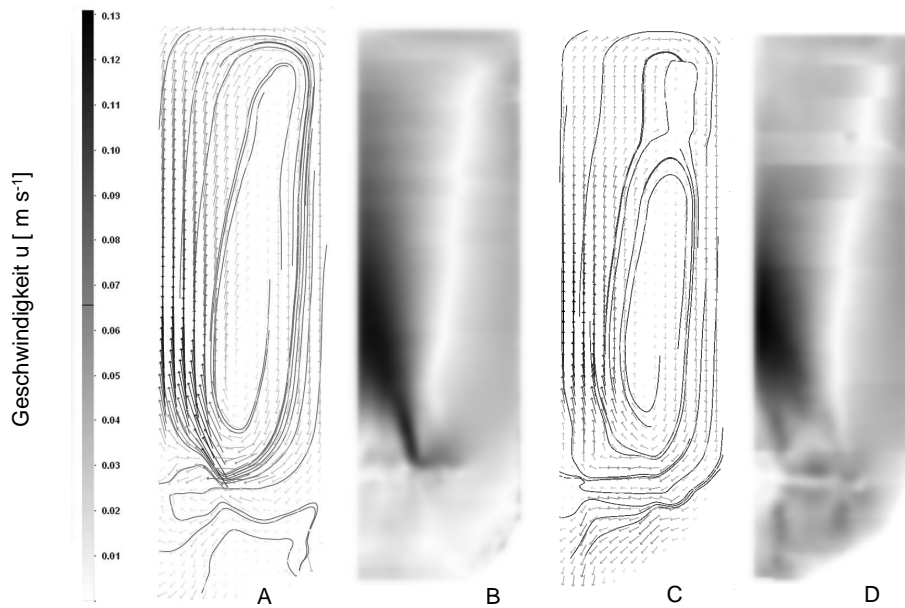


Abb. 3: Ausprägung der Fluidströmungen der Scheibe 1 (A) und der gemittelten Strömungsgeschwindigkeiten der Scheibe 1 (B) sowie die Fluidströmung der Scheibe 2 (C) und der gemittelten Strömungsgeschwindigkeiten der Scheibe 2 (D) bei einem maximalen Reaktorradius von 100 mm, einer Frequenz von 13 Hz sowie 1,05 mm Amplitude.

Die Strömungsverläufe der Scheibe 1 (Abb. 3 A) und Scheibe 2 (Abb. 3 C) entsprechen dem zuvor beschriebenen, entgegengerichteten radialen Verhalten. Zudem wird in Abb. 3 B der Düsen effekt durch die konischen Bohrungen mit einer gemittelten Geschwindigkeit von $0,13 \text{ m s}^{-1}$ ersichtlich. Dieser Freistahl ist bei der Scheibe 2 (Abb. 3 D) jedoch nur gering, mit $\bar{v}_{\max} 0,105 \text{ m s}^{-1}$, ausgeprägt, was durch eine nicht ideale vertikale Oszillation der Scheibe, die Zeitmittelung der Software, aber auch fehlerhafte Messungen hervorgerufen werden kann. Bedingt durch die PIV-Messungen in die Rundböden und der daraus folgenden Bildkrümmung wird der unter den Scheiben auftretende Wirbel nicht erfasst.

Vergleich der CFD und PIV Messungen

Der Strömungsverläufe (Abb. 2 und Abb. 3 A sowie C) der numerischen Ergebnisse werden durch die experimentellen Messungen bestätigt. Eine entgegengesetzte radiale Fluidbewegung in Form eines grossräumigen Wirbels oberhalb der Scheiben wird durch die konischen Bohrungen in den Simulationen und Messungen abgebildet. Die Geschwindigkeitsprofile (Abb. 2) zeigen, dass aufgrund des geringeren Bohrungsdurchmessers der Scheibe 2 eine Geschwindigkeitserhöhung um den Faktor 2 auftritt. Werden die gemittelten \bar{v}_{\max} der Simulationen und Experimente verglichen, weichen diese jedoch deutlich voneinander ab. Bei einer Betrachtung der einzeln aufgenommenen PIV-Rohbilder vor der Mittelung (Daten nicht gezeigt) werden die in Tab. 2 aufgeführten Geschwindigkeiten v_{\max} gemessen.

Tab. 2: Übersicht über die auftretenden maximalen Geschwindigkeiten der CFD und PIV Untersuchungen

	\bar{v}_{\max} PIV [m s ⁻¹]	v_{\max} PIV bei Betrachtung der Einzelaufnahmen [m s ⁻¹]	\bar{v}_{\max} CFD [m s ⁻¹]	Übereinstimmung [%]
Scheibe 1	0,17	0,23	0,29	79
Scheibe 2	1,13	0,43	0,49	87

Neben einer numerischen und experimentellen Auswertung der Fluidströmungen und Geschwindigkeiten wird die Welle ausgeübte Kraft in Abhängigkeit der Scheibenposition betrachtet (Abb. 4).

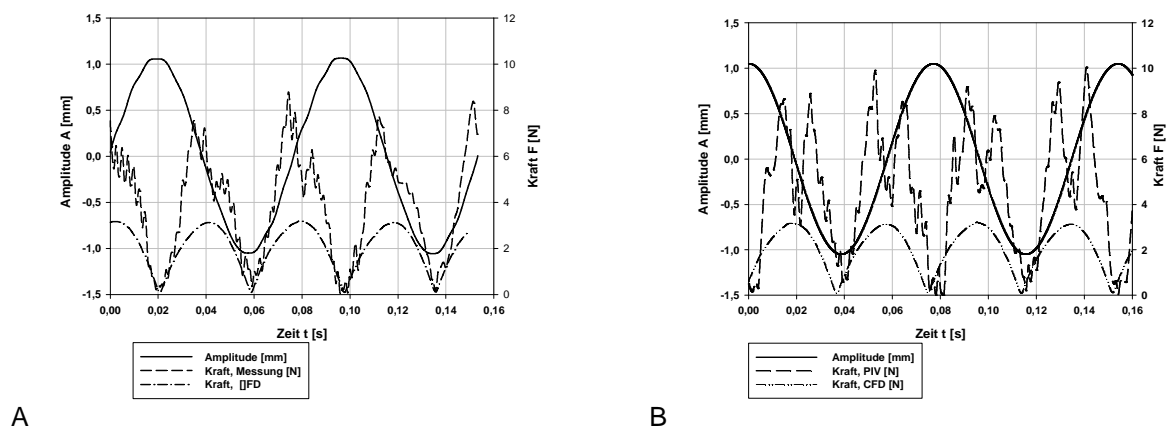


Abb. 4: Vergleich der an der Welle und Scheibe anliegenden Kräfte in Abhängigkeit der Scheibenposition

Für beide Scheibenvariationen ist bei der Scheibenposition von 1.05 mm in beide Auslenkungsrichtungen (Auf- und Abbewegung) die auf die Welle übertragene Kraft 0 N. Wird die Scheibe vom Maximum zum Minimum, oder entgegengesetzt, bewegt, wirkt eine maximale Kraft F_{\max} auf die Scheiben. Aufgrund der größeren Bohrungen von Scheibe 1 werden bei ihrer Bewegung 8,2 N, bei Scheibe 2 bis zu 10 N, auf das Mischorgan ausgeübt. Bei einer Betrachtung der Kräfte der experimentell und numerisch ermittelten Ergebnisse sind Abweichungen von bis zu 60 % festzustellen. Da bei den CFD-Untersuchungen von einer idealen Geometrie und vertikalen Scheibenoszillation ausgegangen wird und dies bei den experimentellen Untersuchungen nur sehr selten vorliegen, kann es zu einer Überbewertung durch auftretende Querkräfte bei den Experimenten bzw. eine Unterbewertung der numerisch ermittelten Kräfte kommen.

Die Betrachtung der Strömungsprofile, Fluidgeschwindigkeiten und der Kräfteinwirkung zeigen eine tendenzielle Übereinstimmung von numerischen und experimentellen Ansätzen zur Untersuchung des Einweg-Vibromix-Bioreaktors bei einer Frequenz von 13 Hz und einer Amplitude von 1,05 mm aufgezeigt werden. Auch eine signifikante Geschwindigkeitsdifferenz bei Variation des Bohrungsdurchmessers kann mittels Simulation und am realen Bioreaktor erfasst werden. Der verwendete Ansatz mittels CFD ist schlussfolgernd für die Untersuchungen am Einweg-Vibromix geeignet und gibt das bestehende Fluidverhalten wieder. Nachfolgende Untersuchungen werden sich jedoch auf eine Betrachtung des Strömungsprofils und der Fluidgeschwindigkeit in Abhängigkeit der Scheibenposition fokussieren, um bei der Aus-

wertung von numerischen sowie experimentellen Untersuchungen nicht auf zeitgemittelte Daten zurückzugreifen. Des Weiteren sind zusätzliche Geometrien für die Messungen in Betracht zu ziehen, um einen angestrebten Vergleich der Scheibenvariation durchzuführen.

Literatur

Eibl, R., Löffelholz, C., Eibl, D., 2010: "Single-used bioreactors- an overview", in Eibl, R., Eibl, D. (eds), Single-Use Technology in Biopharmaceutical Manufacture, part I, im Druck

Fitch, A. W. , Jian, H. B.; Ni, X. W., 2005: "An investigation of the effect of viscosity on mixing in an oscillatory baffled column using digital particle image velocimetry and computational fluid dynamics simulation", Chem. Eng. J., Elsevier Science Sa, 112 pp. 197-210

Kruse, N., von Rohr, P. R.: 2004: „Simultane Erfassung von Geschwindigkeits- und Temperaturfeldern in turbulenten Strömungen mit PIV/LCT“, Chem. Ing. Tech., 76 pp. 1365-1366

Löffelholz, C., 2007: „CFD als Tool zur Charakterisierung und Optimierung von Bioreaktoren für animale Suspensionszellen“, Diplomarbeit, Hochschule Anhalt/Köthen, Fachbereich für Angewandte Biowissenschaften und Prozesstechnik

Löffelholz, C., Kaiser, S. C., Werner, S., Eibl, D., 2010: "CFD as a tool to characterize single-use bioreactors", in Eibl, R., Eibl, D. (eds), Single-Use Technology in Biopharmaceutical Manufacture, part II, im Druck

Niels, G. D., Solberg, T., Hjertager, B. H., 2002: "Flow generated by an aerated Rushton impeller: Two-phase PIV experiments and numerical simulations", The Canadian Journal of Chemical Engineering, 80 pp. 1-15

Werner, S., Nägeli, M. „Good Vibrations – Charakterisierung eines neuen Einweg- Bioreaktorsystems“, BioTec, 2007, 3 pp 22–23

Zadghaffari, R., Moghaddas, J.S., Revstedt, J. 2009: "A mixing study in a double-Rushton stirred tank", Computers and Chemical Engineering, 33 pp. 1240-1246