Bestimmung des turbulenten Umschlags in einer Couette-Anordnung zur Ermittlung der Scherbelastbarkeit menschlicher Zel-Ien mit Mikro-PIV und Grobstruktursimulation

Micro-PIV and LES based determination of the turbulent transition in a Couette apparatus that exposes human cells to shear stress

Christoph Drobek, Hermann Seitz

Universität Rostock, Lehrstuhl für Fluidtechnik und Mikrofluidtechnik Justus-von-Liebig-Weg 6, 18059 Rostock

Scherapparat, Scherströmung, Couette-Strömung, Zellen, Mikro-PIV, Grobstruktursimulation shear apparatus, shear flow, Taylor-Couette flow, cells, Micro-PIV, Large Eddy Simulation

Zusammenfassung

Im menschlichen Unterhautfettgewebe finden sich in großer Menge adulte Stammzellen, die sich durch Liposuktion vergleichsweise einfach ernten lassen, jedoch im Anschluss aus dem Fettgewebe herausgelöst werden müssen. Dabei gefährden unter anderem Scherbelastungen in der Zellsuspension die Vitalität der Zellen. Um zu bestimmen, welche Scherbelastungen Fett- und Stammzellen verschiedener Patienten mit verschiedenem Geschlecht, Alter oder Herkunft vertragen, wurde eine Apparatur entwickelt, mit der definierte Scherbelastungen aufgebracht werden können. Dieser Apparat basiert auf einer Taylor-Couette-Anordnung, also einem Messspalt, der durch einen feststehenden Innenzylinder und einen angetriebenen Außenzylinder entsteht. In diesen Spalt soll die Zellsuspension mit Fett- oder Stammzellen eingefüllt werden, um zu untersuchen, bis zu welcher Drehzahl und damit Scherrate verschiedene Zelllinien vital bleiben. Da mit dem Übergang von laminarer zu turbulenter Strömung im Spalt das lineare Geschwindigkeitsprofil und damit eine nahezu konstante Scherrate nicht mehr garantiert werden können, soll herausgefunden werden, bis zu welcher Drehzahl die Strömung laminar bleibt. Durch Mikro-PIV-Messungen und Grobstruktur-Simulationen (LES) soll der laminar-turbulente Umschlag in der Strömung bestimmt werden. Für die PIV-Messungen werden dabei ein Zeiss Discovery V20-Stereomikroskop, ein Litron 20 Hz-Nd:YAG-Doppelpulslaser und zwei LaVision Imager sCMOS-Kameras mit je 5,5 MPixel bei 25 fps verwendet.

Aufgrund der geringen maximalen Beleuchtungsfrequenz des Lasers von lediglich 20Hz im Doppelpuls-Modus werden zur Ermittlung des Transitionsbereichs zusätzlich Grobstruktursimulationen (LES) durchgeführt, mit denen die großen Wirbelstrukturen direkt aufgelöst werden können und der Transitionsbereich im Apparat bisher auf einen Drehzahlbereich zwischen 600 U/min und 3000 U/min eingegrenzt werden konnte.

Einleitung

Nachdem bereits Isaac Newton 1687 erstmalig die Strömung zwischen zwei konzentrischen Zylindern beschrieb und George Gabriel Stokes 1848 das Stabilitätsverhalten bei innen, außen und gegenläufig angetriebenen Zylindern vorhersagte, führten 1888 Arnulph Mallock und 1890 Maurice Couette erste experimentelle Untersuchungen an einem Couette-System

durch und bestimmten unter anderem die Viskosität von Wasser. Mit einem Couette-Aufbau und den damit durchgeführten Untersuchungen zur Stabilität von Couette-Strömungen wurde durch Taylor 1923 die Wandhaftung bestätigt und damit letztendlich auch die Navier-Stokes-Gleichungen, deren Richtigkeit vorher noch umstritten war. Eine umfassende Übersicht über die turbulenten Strukturen in Couette-Strömungen wurde von Andereck et al. 1984 nach zahlreichen experimentellen Untersuchungen aufgestellt (s. Abb. 1).



Abb. 1: Übersicht über die turbulenten Strukturen in Couette-Strömungen [Andereck et al. 1984]

Scherapparat als Taylor-Couette-System

Da im Fokus der Untersuchungen nicht das Turbulenzverhalten bei verschiedenen Strömungsregimen, insbesondere bei höheren Reynolds-Zahlen, steht, kann die Konstruktion deutlich einfacher und kompakter gehalten werden als übliche Versuchsaufbauten zur Untersuchung von Couette-Strömungen. So soll aufgrund der besseren Stabilität lediglich der äußere Zylinder angetrieben werden, während der innere Zylinder fix gehalten wird.

Es sollen gleichzeitig möglichst hohe und über den Messspalt konstante Scherraten erreicht werden, um ein breites Spektrum von Scherraten messen zu können. Die Lagerung und damit der Rundlauf soll gut sein, der Messspalt möglichst breit, damit die Zellen nicht direkt gegen den Außenzylinder stoßen und dort eventuell sterben. Gleichzeitig soll das Füllvolumen gering sein, um pro Messung nicht zu viel Zellsuspension zu verbrauchen und die Handhabung, insbesondere bei Befüllung- und Entleerung, soll einfach sein.

Die zentrale Couette-Einheit des Scherapparats besteht aus einem feststehenden Innenzylinder ($r_{außen}$ =20 mm), einem angetriebenen Außenzylinder (r_{innen} =21 mm) und einem Deckel (s. Abb. 2). Der Messspalt hat somit bei einer Höhe von 20 mm eine Breite von b_{Spalt}=1 mm. Der feststehende Innenzylinder ist mit Hilfe eines Gewindeaufsatzes auf die Achse aufgedreht. Der Deckel aus Acryl ist über ein Stahl-Kugellager drehbar auf der Achse gelagert und über einen Absatz mit Übergangspassung mit dem angetriebenen Außenzylinder verbunden, der auch den Außenzylinder axial führt. Angetrieben wird der äußere Zylinder von unten. Über einen Zapfen, auf den eine Miniaturbalgkupplung aufgesteckt wird, wird der äußere Zylinder mit einem DC-Motor verbunden. Die Miniaturbalgkupplung kann axiales und radiales Spiel ausgleichen, sodass die Aufhängung des Couette-Systems von oben und der Antrieb von unten nicht zwingend exakt koaxial sein müssen. Auch Fertigungsungenauigkeiten, wie z.B. durch Umspannen des Außenzylinders auf der Drehbank sowie Spiel in der Linearführung werden so ausgeglichen.



Abb. 2: Prototyp des Scherapparats (links) und Schnitt der Couette-Baugruppe mit Materialien (rechts)

Aufgrund seiner guten chemischen und mechanischen Beständigkeit wurden der Außen- und der Innenzylinder aus Polyetheretherketon (PEEK) durch Drehen gefertigt. Insbesondere die Biokompatibilität war für die Materialwahl entscheidend. Während beispielsweise Aluminium cytotoxisch ist, also lebende Zellen vergiftet, gehört PEEK zu den bioinerten unter den biokompatiblen Kunststoffen. Der Deckel wurde zur optischen Zugänglichkeit aus Acrylglas gedreht. Die Metallteile, die evtl. mit der Zellsuspension in Berührung kommen, wie z.B. den Innen- und Außenzylinder sowie den Deckel haltende Achse wurden aus dem Edelstahl 316L, einem austenitischen rostfreien Stahl mit erhöhter Korrosionsbeständigkeit, gedreht.

Mikro-PIV-Messungen

Sowohl die PIV-Messungen als auch die Grobstruktursimulationen wurden für drei Drehzahlen durchgeführt, zwischen denen jeweils der Faktor 5 steht. So wird als kleinste Drehzahl 120 U/min gewählt, bei der die Couette-Strömung definitiv laminar erwartet wird, als mittlere Drehzahl wurde 600 U/min gewählt und als höchste Drehzahl 3000 U/min (s. Tab. 1).

Drehzahl	Winkel-	Theor. Geschwindigkeit	Scherrate	Reynoldszahl
	geschwindigkeit	am Außenrotor	γ = v _{außen} /	Re _{außen} = v _{außen}
	ω = 2 * π * n / 60	$v_{außen} = \omega * r_{außen}$	b _{Spalt}	* b _{Spalt} / v _{Wasser}
[U/min]	[rad/s]	[m/s]	[1/s]	-
120	12,6	0,264	263,9	262,6
600	62,8	1,319	1319,5	1313,2
3000	314,2	6,597	6597,3	6565,8

Tabelle 1: Übersicht über die wesentlichen	Strömungsgrößen im System
--	---------------------------

Das Mikro-PIV-Messsystem basiert auf dem Stereo-Fluoreszenzmikroskop Discovery V20 (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena), in dessen Strahlengänge über einen Filterblock ein

Nd:YAG-Doppelpulslaser (Litron Lasers, Rugby, Vereinigtes Königreich) mit einer Wellenlänge von 532 nm und einer maximalen Beleuchtungsfrequenz von 20 Hz sowie zwei Imager sCMOS-Kameras (LaVision, Göttingen) mit einer maximalen Bildauflösung von je 5,5 MPixel bei 25 fps eingekoppelt sind (s. Abb. 3 links). Der Scherspalt kann von oben durch den transparenten Deckel aus Acryl beleuchtet werden, lediglich das ins Rot verschobene Streulicht der Fluoreszenzpartikel kann durch die Fluoreszenzfilter im Filterblock zu den Kameras am oberen Ende der Strahlengänge gelangen. Als fluoreszierende Streupartikel werden mit Rhodamin B gefüllte PMMA-Kugeln mit einer Dichte von 1,19 g/ccm und einem Durchmesser von 10 μ m verwendet (Abb. 3 rechts), die in Durchmesser und Dichte menschlichen Stammzellen mit ihrem Durchmesser von 12 μ m sehr ähnlich sind.



Abb. 3: Messaufbau Mikro-PIV (links), Aufnahme mit Fluoreszenzpartikeln im 1 mm-Messspalt (rechts)

Grobstruktursimulation

Aufgrund der geringen maximalen Beleuchtungsfrequenz des vorhandenen Lasers von lediglich 20 Hz im Doppelpuls-Modus werden zur Ermittlung der kritischen Drehzahl mit Umschlag in eine turbulente Couette-Strömung zusätzlich CFD-Simulationen durchgeführt. Dafür werden nicht die Reynolds-gemittelten Navier-Stokes-Gleichungen gelöst, sondern ortsgefilterte Navier-Stokes-Gleichungen. Bei dieser so genannten Grobstruktursimulation (Large Eddy Simulation, LES) können so zumindest die großskaligen energiereichen Strukturen aufgelöst werden, während die kleinskaligen und energiearmen, aber weitgehend isotropen Strukturen durch Feinstrukturmodelle modelliert werden, siehe dazu auch Fröhlich 2009.

Simuliert wird ein 3D-360°-Modell des Messspaltes. Das Rechengitter bestimmt bei Grobstruktursimulationen auch die Ortsfilterung, d.h. durch kleinere Gitterzellen können auch kleinere turbulente Strukturen mitaufgelöst werden. Zur Auflösung der starken Geschwindigkeitsgradienten in der Grenzschicht muss das Gitter weiterhin zu den Wänden, hier also von der Mitte des Spaltes hin zum Innen- und zum Außenzylinder, aufgelöst werden (s. Abb. 4). Für eine solche wandauflösende LES soll deshalb auch für die höchste mögliche Drehzahl von 24000 U/min y⁺≈1 eingehalten werden. Dafür darf die erste Gitterzelle maximal 0,0037 mm von der Wand entfernt sein. Für das verwendete Rechengitter wurde sogar 0,002 mm als Wandabstand der ersten Zelle gewählt. Somit ergeben sich 17 Gitterzellen in der Grenzschicht, während das komplette Gitternetz aus 32,7 Millionen Gitterzellen besteht.



Abb. 4: Ausschnitt des für die Grobstruktursimulation verwendeten Rechengitters, in der Mitte die Verdichtung des Netzes über den Messspalt zu den Wänden

Als Strömungslöser wird ANSYS FLUENT (ANSYS Inc, Canonsburg, USA) in der Version 16.1 verwendet. Als Randbedingungen werden die Wände des Innenzylinders als feststehend, die Wände des Außenzylinders und des Deckels als bewegte Wand definiert und die jeweilige Winkelgeschwindigkeit entsprechend Tab. 1 vorgegeben.

Ergebnisse und Diskussion

Abb. 5 zeigt die Strömungsfelder aus den ersten Mikro-PIV-Messungen. Für die Drehzahlen 120 U/min, 600 U/min und 3000 U/min wurden die Strömungsvektoren über je 100 Doppelbilder gemittelt und zur Veranschaulichung der Strömungsgeschwindigkeit mit den Contour-Plots des Betrages der Geschwindigkeit unterlegt.



Abb. 5: Über je 100 Doppelbilder gemittelte Geschwindigkeitsvektoren im Scherspalt, im Hintergrund Contour-Plots des Betrags der Geschwindigkeitsvektoren (ebenfalls über 100 Doppelbilder gemittelt) für 120 U/min (links), 600 U/min (Mitte) und 3000 U/min (rechts)

Man erkennt deutlich die ansteigende Geschwindigkeit vom feststehenden Innenrotor links im Bild zum im Uhrzeigersinn angetriebenen Außenrotor rechts. Auch die leichte Krümmung des Geschwindigkeitsfeldes ist erkennbar. Bei 120 U/min sind trotz der Mittelung über 100 Doppelbilder deutlich geringere Geschwindigkeiten in einzelnen Abtastflecken erkennbar, was sich auch in der größeren Schwankung des Geschwindigkeitsprofils im Spalt in Abb. 6 oben links niederschlägt. Bei 600 U/min ist die Qualität der Messwerte besser. Bei 3000 U/min konnten für weite Teile des Messgebietes, insbesondere im Bereich der hohen Geschwindigkeiten am Außenrotor, keine Vektoren errechnet werden. Während der zeitliche Abstand zwischen den beiden Belichtungen Δt bei 120 U/min und 600 U/min je 20 µs beträgt, liegt er bei 3000 U/min bei 2 µs, muss aber offensichtlich noch optimiert werden.



Abb. 6: Oben: Vergleich der Geschwindigkeitsprofile über den Scherspalt bei 120 U/min (links), 600 U/min (Mitte) und 3000 U/min (rechts). Gepunktet die analytische Lösung der Navier-Stokes-Gleichungen für laminare Couette-Strömung, die sich aus den jeweiligen Drehzahlen ergibt, mit durchgezogener Linie das Geschwindigkeitsprofil aus den Mikro-PIV-Messungen, gestrichelt aus der Grobstruktur-Simulation. Unten: Vergleich der Scherrate bei 120 U/min (links), 600 U/min (Mitte) und 3000 U/min (rechts).

Bei 120 U/min stimmen Geschwindigkeit und damit auch Scherrate aus der Grobstruktursimulation nahezu perfekt mit der analytischen Lösung der Navier-Stokes-Gleichungen für eine laminare Couette-Strömung, also ein lineares Geschwindigkeitsprofil beginnend bei 0 m/s am feststehenden Zylinder (hier innen) bis zur maximalen Geschwindigkeit am angetriebenen Zylinder, überein (s. Abb. 6 oben links). Auch die experimentell ermittelten Mikro-PIV-Daten passen noch gut zur analytischen Lösung, wenn auch die Genauigkeit an den Rändern abnimmt, wodurch die Geschwindigkeit abflacht und die Scherrate abfällt. Bei 120 U/min kann daher eindeutig von einer laminaren Strömung im Couette-Apparat ausgegangen werden.

Bei 600 U/min weichen sowohl Grobstruktursimulation als auch Mikro-PIV-Messung von der analytischen Lösung ab, wobei die Abweichung in beiden Fällen in der Mitte des Scherspalts am größten ist, bei der LES 0,1 m/s bzw. 15 % und beim Mikro-PIV sogar 0,3 m/s bzw. 50 %. Auffällig ist, dass die Strömung in der Mitte des Messspalts sowohl bei LES als auch PIV

über der analytischen Lösung liegt und sich zu den Rändern hin wieder an die analytische Lösung annähert. Die mit der LES ermittelte Scherrate weicht bei 600 U/min nur leicht von der analytischen Lösung ab, bei Mikro-PIV jedoch bereits deutlich.

Im Gegensatz zu 120 U/min und 600 U/min sind die Abweichungen von Messung und Grobstruktursimulation zur analytischen Lösung für laminare Couette-Strömung bei 3000 U/min größer. Insbesondere die Form des Geschwindigkeitsprofils im Spalt deutet hier auf eine turbulente Strömung hin. Die Scherrate im Spalt kann bei 3000 U/min definitiv nicht mehr als konstant angenommen werden und schwankt bei einem theoretischen Wert von ca. 6600 1/s sowohl bei LES als auch Mikro-PIV zwischen 0 und 12000 1/s.



Abb. 7: Isoflächen des Q-Kriteriums bei 120 U/min (oben links), 600 U/min (oben rechts) und 3000 U/min (unten)

Zur Einordung der Strömung bei 120, 600 und 3000 U/min in laminare bzw. turbulente Couette-Strömung zeigt Abb. 7 die Isoflächen für das Q-Kriterium (in diesem Fall für Q=2000 1/s²) aus den Grobstruktursimulationen. Während die Isoflächen bei 120 U/min und 600 U/min ein durchgehendes Band bilden, hat sich bei 3000 U/min bereits eine Vielzahl von Einzelstrukturen herausgebildet.

Das Isoflächen-Band liegt bei 120 U/min etwa in der Spaltmitte, während es bei 600 U/min schon nahe dem Innenrotor liegt und sich diesem aufgrund des immer steileren Geschwindigkeitsprofils bei steigender Drehzahl immer weiter annähert, solange die Strömung laminar bleibt. Bei 3000 U/min erstrecken sich die turbulenten Strukturen über den kompletten 1 mm breiten Messspalt. Die Maximalwerte für das Q-Kriterium erreichen hier 3,7 x10⁷ 1/s², die Gradienten des Q-Kriteriums sind an der Grenze der turbulenten Strukturen sehr steil, sodass es im Wesentlichen unerheblich für die Abbildung der turbulenten Strukturen ist, welcher Wert für die Isoflächen verwendet wird, um ihre Ausdehnung zu verdeutlichen.

Bei 3000 U/min haben sich im Kegel-Platte-Spalt zwischen feststehendem Innenzylinder und Deckel oben bzw. zwischen feststehendem Innenzylinder und angetriebenem Außenzylinder unten eher langgezogene spiralförmige turbulente Strukturen gebildet, während im eigentlichen Messspalt zwischen Innen- und Außenzylinder kleinskalige Wirbel mit einer Länge von ca. 1 mm bis ca. 3 mm vorherrschen, vgl. Poncet et al. 2013.

Durch die Isoflächen des Q-Kriteriums wird die Vermutung bestätigt, dass bei 3000 U/min die Couette-Strömung im Messspalt bereits turbulent ist. Dass die Scherrate bei 3000 U/min nicht mehr konstant bei ca. 6600 1/s liegt, sondern von 0 bis 12000 1/s schwankt, ist bereits in Abb. 6 unten rechts ersichtlich. Dadurch sind Drehzahlen jenseits von 3000 U/min zur Aufbringung von konstanten Scherbelastungen weniger geeignet. Die Kombination von Mikro-PIV und Grobstruktursimulation zur Identifikation des Umschlags scheint sinnvoll, ermöglicht sie doch einen Vergleich und schafft so Vertrauen in die Grobstruktursimulationen, für die sonst Test Cases zur Validierung und insbesondere eine Variation von Modellparametern nötig würde.

Zur weiteren Eingrenzung der kritischen Drehzahl mit Umschlag in eine turbulente Couette-Strömung sollen zunächst weitere Drehzahlen im Bereich zwischen 600 U/min und 3000 U/min numerisch und experimentell durch LES und Mikro-PIV untersucht werden.

Dankesworte

Die Autoren danken dem Ministerium für Wirtschaft, Bau und Tourismus des Landes Mecklenburg-Vorpommern für die Unterstützung und Finanzierung aus Mitteln des Europäischen Fonds für regionale Entwicklung EFRE.

Literatur

Newton, I., 1687: Principia, Buch II, Sektion IX

Stokes, G.G., 1848: Transactions of the Cambridge Philosophical Society

Taylor, G.I., 1923: Stability of a Viscous Liquid contained between Two Rotating Cylinders. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series A 223:289-343

Andereck, C.D., Liu, S.S., Swinney, H.L., 1986: Flow regimes in a circular Couette system with independently rotating cylinders. Journal of Fluid Mechanics 164:155-183

Froehlich, J., 2006: Large Eddy Simulation turbulenter Stroemungen, 1. Auflage B.G. Teubner

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