

Ansgar Petersen

**Grundlagen der elektrisch induzierten
Eiskeimbildung und ihre Anwendung
in der Kryobiologie**



Helmholtz-Institut
für Biomedizinische Technik
an der RWTH Aachen

Shaker Verlag
D 82 (Diss. RWTH Aachen)

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Zugl.: Aachen, Techn. Hochsch., Diss., 2007

Copyright Shaker Verlag 2008

Alle Rechte, auch das des auszugsweisen Nachdruckes, der auszugsweisen oder vollständigen Wiedergabe, der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen und der Übersetzung, vorbehalten.

Printed in Germany.

ISBN 978-3-8322-6976-0

ISSN 1430-7316

Shaker Verlag GmbH • Postfach 101818 • 52018 Aachen

Telefon: 02407 / 95 96 - 0 • Telefax: 02407 / 95 96 - 9

Internet: www.shaker.de • E-Mail: info@shaker.de

Grundlagen der elektrisch induzierten Eiskeimbildung und ihre Anwendung in der Kryobiologie

Zusammenfassung

Die elektrisch induzierte Eiskeimbildung beschreibt den Effekt der gezielten Erzeugung eines Eiskeims an der Oberfläche einer Elektrode in unterkühlter wässriger Lösung durch das Anlegen eines Hochspannungspulses. Obwohl der Effekt seit mehr als 50 Jahren bekannt ist, werden mögliche zugrundeliegende Mechanismen noch immer kontrovers diskutiert. In der Kryobiologie ist die Unterkühlung der Probe ein wichtiger Parameter, da sie den Temperaturverlauf innerhalb der Probe und die während des Einfrierprozesses entstehende Eiskristallstruktur beeinflusst. In dieser Dissertation werden die Grundlagen der elektrisch induzierten Eiskeimbildung und das Potenzial einer Anwendung im Bereich der Kryokonservierung und der Gefriertrocknung erforscht. Zunächst werden systematische experimentelle Untersuchungen zur elektrisch induzierten Eiskeimbildung durchgeführt, um den Einfluss verschiedener Parameter zu bestimmen. Unter anderem wird der negative Einfluss von Fremdstoffen wie Salzen und Gefrierschutzadditiven auf die Keimbildung untersucht. Dieser ist besonders in Bezug auf die Anwendung im Bereich der Kryobiologie von Bedeutung. Die kritische Feldstärke, welche zur Erzeugung eines Eiskeims in reinem Wasser notwendig ist, wird bei einer Temperatur von -1°C experimentell zu etwa $3 \cdot 10^9 \text{ V/m}$ bestimmt. Der Vergleich mit einem in dieser Arbeit vorgeschlagenen thermodynamischen Modell zeigt eine gute Übereinstimmung. Das Modell führt die keimbildungsfördernde Wirkung des elektrischen Feldes im Gegensatz zu vielen Ansätzen in der Literatur allein auf die damit verbundene Energieabsenkung des Systems zurück. Auf der Grundlage des theoretischen Modells wird anschließend der Einfluss der experimentellen Parameter diskutiert. Die Entwicklung eines speziellen Elektrodenaufsatzes ermöglicht das zuverlässige Einleiten der Kristallisation auch in salz- und additivhaltigen Lösungen. Erstmals wird dadurch der Einsatz der elektrisch induzierten Eiskeimbildung im Bereich der Kryobiologie ermöglicht. Eine Steigerung der Zellüberlebensrate für humane Fibroblasten und humane hämatopoetische Vorläuferzellen (CD34+) nach Kryokonservierung wird durch die Optimierung der Keimbildungstemperatur mittels systematischer Parametervariation nachgewiesen. Über den Vergleich mit den Ergebnissen einer Simulation des Wassertransportes aus der Zelle wird ein theoretisches Modell zur Erklärung der Zellschädigung bei nicht optimalen, zu hohen oder zu tiefen, Keimbildungstemperaturen entwickelt. Die Gefriertrocknung stellt ein weiteres potenzielles Anwendungsgebiet der elektrisch induzierten Eiskeimbildung dar. In dieser Arbeit wird gezeigt, dass sich die Trocknungszeit bei einem Gefriertrocknungsprozess durch die Minimierung der Unterkühlung während des Einfriervorgangs deutlich verkürzen lässt. Bei den gewählten Gefriertrocknungsparametern führt die Anhebung der Keimbildungstemperatur mittels elektrisch induzierter Eiskeimbildung etwa zu einer Halbierung der Trocknungszeit. Die Analyse der Probestextur weist darauf hin, dass die reduzierte Trocknungszeit auf eine für die Trocknung günstigere Eiskristallstruktur zurückgeführt werden kann.

Schlagwörter:

Kryokonservierung, Unterkühlung, Keimbildung, elektrisches Feld, Gefriertrocknung ,
Kristallisation, wässrige Lösung, Elektrode

Behandelte Fachgebiete (→ interessierter Lesekreis):
Biowissenschaften, Biophysik, Naturwissenschaften allgemein