

## 2 Material und Methoden

Das hier untersuchte Leberunterstützungssystem basiert im Kern auf einem Bioreaktor, in dessen Inneren Leberzellen angesiedelt sind. Der Bioreaktor ist beweglich in einem Acrylglasgehäuse aufgehängt, welches auf dem sog. Dialyse Monitor steht. Der Dialyse Monitor ist wiederum in einen Patienten- und einen Reaktormonitor unterteilt.

Der Bioreaktor selbst besteht aus einem im Zentrifugalguss hergestellten, im Inneren hohlen, Polyurethan-Gehäuse (PUR System 725 A/B, Fa. Rohm und Haas, Bremen). In dieses Gehäuse ist ein Netzwerk aus Kapillarrohrfasermembranen in drei fest miteinander verwobenen, sich überkreuzenden Systemen, welche sich in den Aussenbereichen zu Ausstromkappen bündeln, eingegossen.

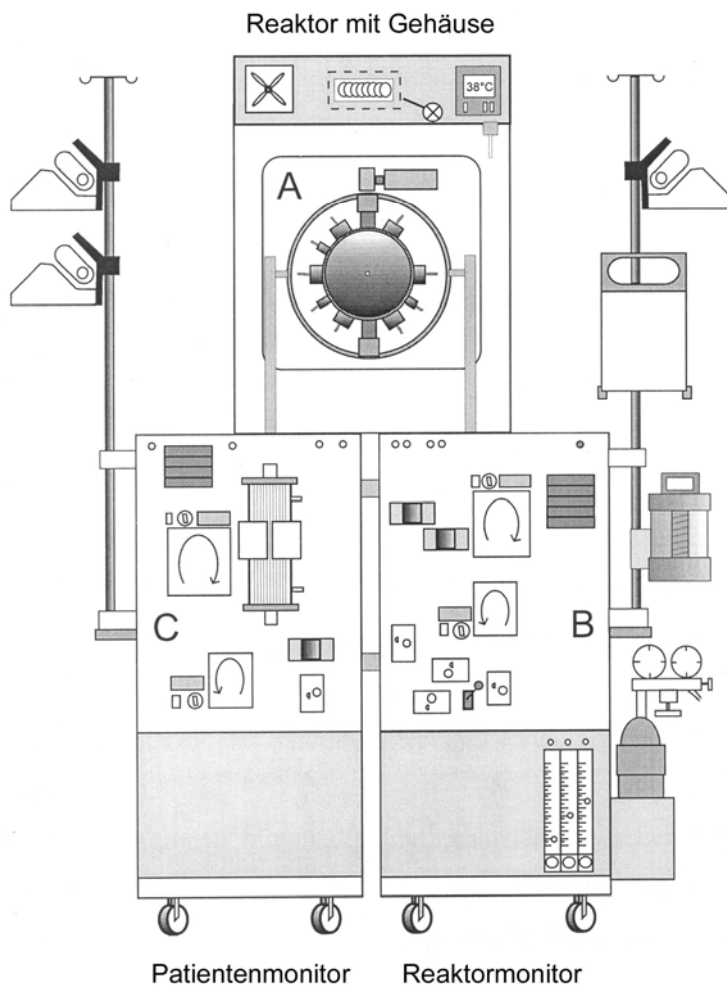


Abb. 2: Gesamtaufbau des Bioreaktor Systems mit Patienten- und Reaktormonitor.

Die Monitore dienen im Wesentlichen zur Regulierung der dynamischen Funktionen des Systems, welche je nach Betriebsart (Therapie oder Stand-By) angepasst werden können.

Die Gesamtapparatur steht auf Rollen, so dass sie problemlos zum Patienten transportiert werden kann.

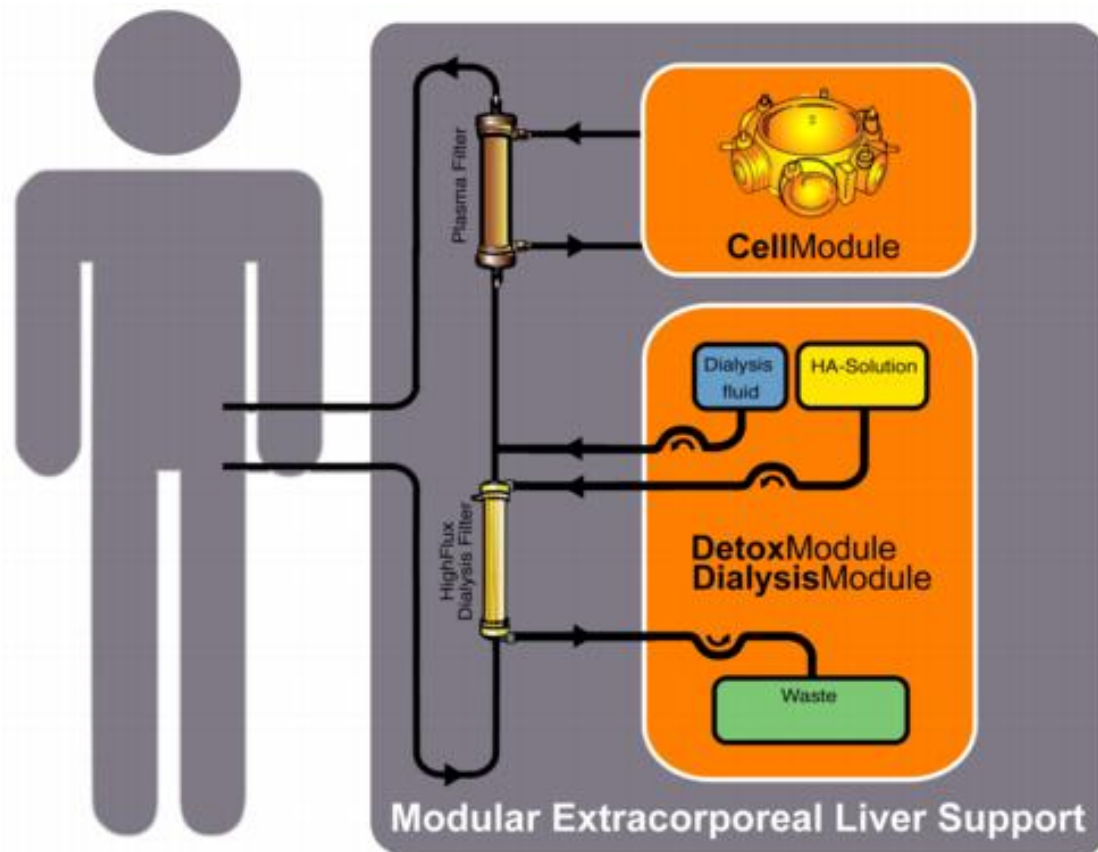


Abb. 3: Schematische Darstellung des Systems am Patienten mit der Möglichkeit, ein Dialysem modul und ein Detoxifikationsmodul zu integrieren.

## 2.1 Bauteile des Bioreaktors

### 2.1.1 Der Reaktor

Insgesamt wird der Reaktor durch seine Bauart in drei Kompartimente geteilt:

1. der Extrakapillarraum zur Aufnahme der Zellen
2. der Intrakapillarraum zum Flüssigkeits-/Stoffaustausch
3. der Intrakapillarraum zum Gasaustausch

Das Hohlvolumen eines Reaktors beträgt etwa 1300 ml (= 1300 cm<sup>3</sup>). Die Reaktorhülle besteht, wie bereits beschrieben, aus PUR, einer - in festgelegter Mischung - nicht-toxischen Kunststoff-Verbindung. In der Hülle sind im Bereich der Kappen die zuvor eingelegten Kapillarbündel fest eingegossen. Um sie herum werden die verschiedenen Zellen der Leber (primäre Parenchym-

und Nicht-Parenchymzellen) eingefüllt. Die Kapillaren dienen dabei unter anderem zur Zelladhäsion <sup>104</sup>.

Das verwendete Isolationsverfahren ermöglicht die Gewinnung einer Suspension vitaler Zellen von 70 – 82%, bezogen auf das Gewicht des unbehandelten Organs <sup>105</sup>.

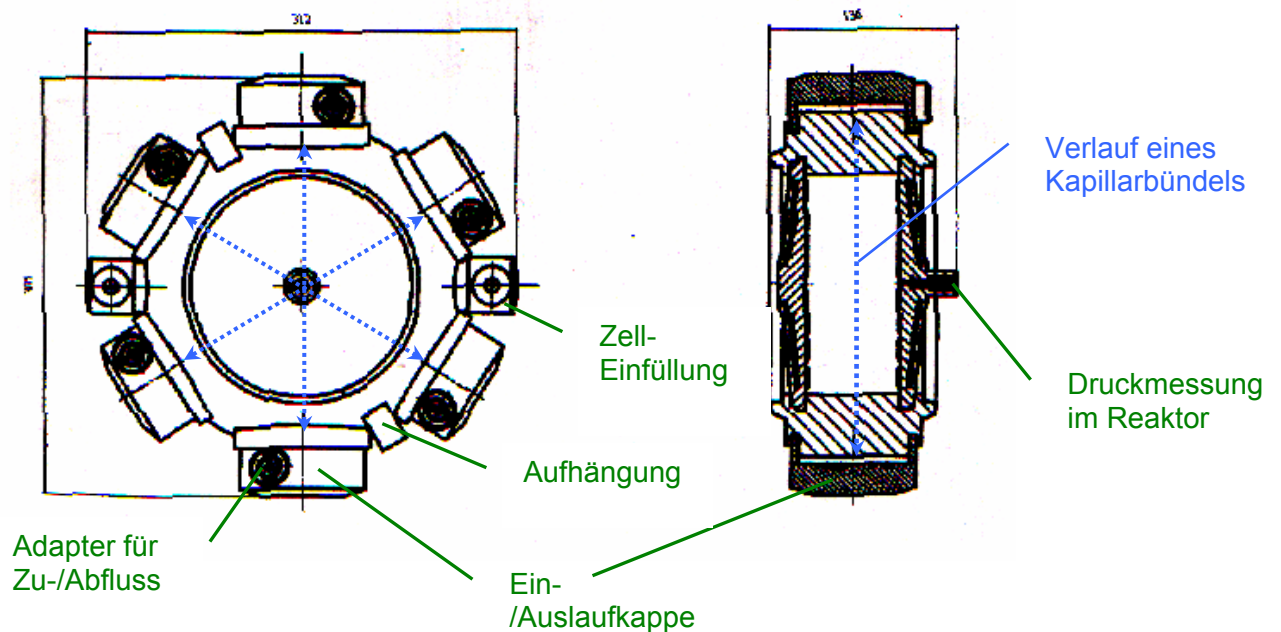


Abb. 4: Reaktoraufriß (technische Zeichnung)

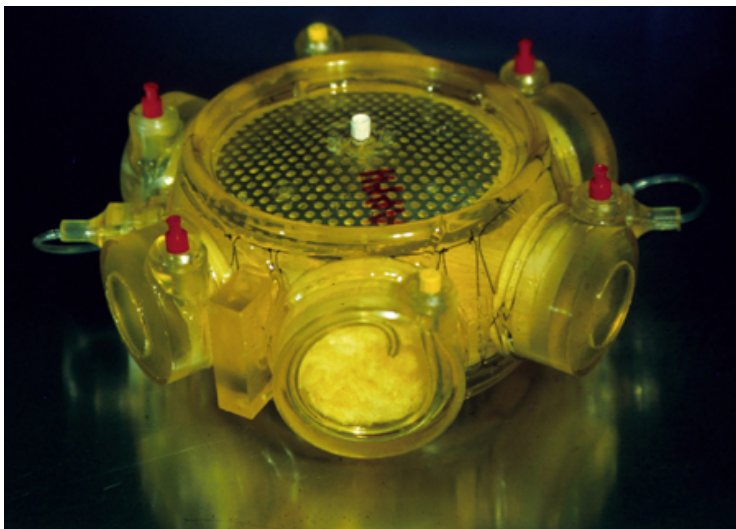


Abb. 5: Der Bioreaktor ohne konnektierende Schläuche von schräg oben betrachtet.

Zwei der drei Kapillarbündel im Reaktor dienen zum Flüssigkeits- / Stoffaustausch, das dritte zum Gasaustausch (Sauerstoff- und Kohlendioxid-Metabolismus). Auf den Kapillarstützen sitzen jeweils Zu- bzw. Abflusskappen. Diese Kappen sind ebenfalls aus PUR gefertigt und dienen zur Verbindung zwischen den Kapillaren und den zu- bzw. ableitenden Schläuchen.

Zwei weitere ins Reaktorgehäuse eingelassene Füllstutzen dienen zum Beimpfen des Reaktors mit Zellen. Gleichzeitig kann über einen weiteren im Deckel gelegenen Stutzen der Reaktor entlüftet werden. Im Betrieb wird über diesen Stutzen der Druck im Reaktorinnenraum gemessen.

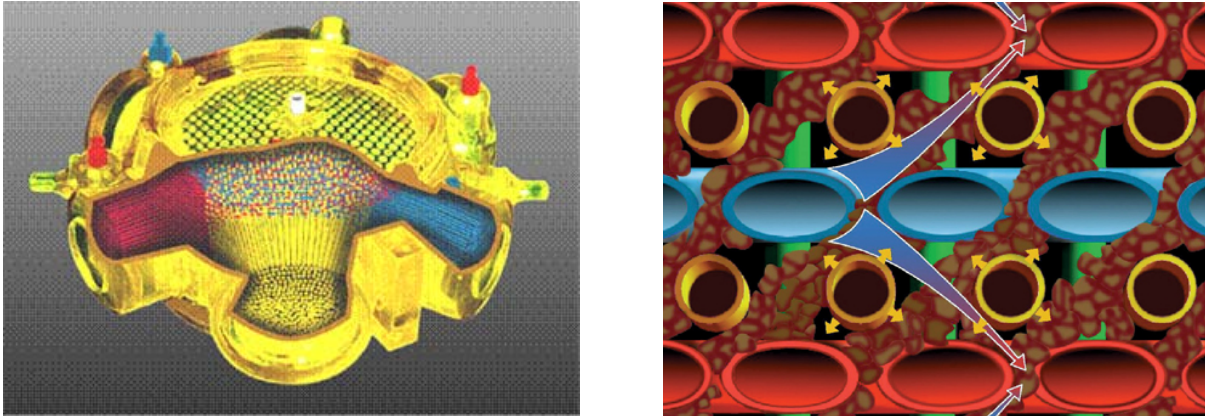


Abb. 6: Aufriß des Bioreaktors und vergrößerter Ansicht der Kapillarbündel.

Die Versorgungskapillaren sind in rot und blau dargestellt, die Oxygenierungskapillaren in gelb.

Die Kapillaren zum Flüssigkeits- und Stoffaustausch (in Abb. 6 blau und rot) sollen im Weiteren als Versorgungskapillaren bezeichnet werden. Sie bestehen aus einer semipermeablen Polyethersulfon Membran (Micro PES TF 10 Capillary Membranes, Membrana GmbH, Wuppertal) mit einem cut-off von 400.000 Dalton. Die relativen Molekülmassen einiger wichtiger Moleküle im Plasma sind in Tab. 5 aufgeführt.

Tab. 5: Relativen Molekülmassen und Funktionen einiger wichtiger Plasma-Moleküle <sup>106</sup>.

Molekül	Rel. Molekülmasse [kDalton]	Funktion
Fibrinogen	341	Gerinnung, akutes Phasenprotein
Albumin	66,5	Bindung von Wasser, Ionen, Pigmenten, Hormonen, Medikamenten; Aufrechterhaltung onkotischer Druck
IgM	900 & 935	Frühantikörper
IgA	162	Schleimhautschutzantikörper
IgE	196	Reagine
IgD	172	B-Lymphozyten-Rezeptor
IgG	150	Spätantikörper
Haptoglobin	100	Bindung Hämoglobin, Schutz vor renalem Eisenverlust, akutes Phasenprotein

Insgesamt befinden sich im Bioreaktor ca. 6272 Einzelkapillaren (d.h. ca. 3136 Kapillaren pro Bündel) zur Versorgung. Sie haben eine Länge von  $l_K = 250$  mm. Die Länge im Innenraum des Bioreaktors beträgt  $l_{iK} = 160$  mm und der Außendurchmesser ist  $d_{aK} = 500$   $\mu$ m. Der

Innendurchmesser ist  $d_{ik} = 300 \mu\text{m}$  mit einer Wandstärke von  $s_K = (d_{ak} - d_{ik})/2 = 100 \mu\text{m}$ . Die Gesamtaustauschfläche beträgt ca.  $3,16 \text{ m}^2$  (bzw.  $1,58 \text{ m}^2$  pro Bündel). Durch die sich überkreuzende Anordnung der Kapillaren werden im Reaktor möglichst kurze Stofftransportstrecken ermöglicht. Die Kapillarbündel sind je nach Reaktortyp in einem Winkel von  $90^\circ$  oder von  $45^\circ$  zueinander angeordnet. Durch die unterschiedlichen Winkel wird entweder eine (normale) Diffusion durch beide Kapillarbündel oder ein Cross Flow ermöglicht. Auf die unterschiedlichen Laufmodi und die Reaktortypen wird im Folgenden noch näher eingegangen.

In derselben Ebene wie die Versorgungskapillaren verlaufen, wiederum sich überkreuzend angeordnet, die Oxygenierungskapillaren (in Abb. 6 gelb) bestehend aus einer hydrophoben Doppelschichtmembran aus Polypropylen und Polyamid (MHF 200TL Hollow Fiber, Mitsubishi Corporation, Tokio, Japan). Hierüber wird die  $\text{O}_2$ -Versorgung sowie, über eine zusätzlich angeschlossene  $\text{CO}_2$ -Zufuhr, die Aufrechterhaltung eines physiologischen pH-Wertes gewährleistet. Dieses Bündel besteht aus ca. 14.268 Einzelkapillaren. Die Länge der Oxygenierungskapillaren ist gleich der Länge der Versorgungskapillaren. Ihr Außendurchmesser ist aber nur  $d_{ak} = 380 \mu\text{m}$  und der Innendurchmesser ist  $d_{ik} = 200 \mu\text{m}$  mit einer Wandstärke von  $s_K = 180 \mu\text{m}$ . Die Gesamtgasauschfläche beträgt ca.  $2,73 \text{ m}^2$ .

Im Bereich der Schnittstellen der drei Bündel entstehen Einheiten mit gleichmäßiger Nährstoff- und Sauerstoffversorgung und Metabolitenentsorgung.

Das Gesamtvolumen aller Kapillaren im Innenraum des Reaktors (Außendurchmesser der Kapillaren) beträgt  $V_{GS} = V_{Vers} + V_{Oxy} = (197 + 259) \text{ ml} = 456 \text{ ml}$ . Es verbleibt ein Zellkompartimentvolumen von etwa  $V_Z = 850 \text{ ml}$ . Das intrakapillare Volumen (mit Kappen) beträgt für die Versorgungskapillaren  $V_{iVers} = 111 \text{ ml}$  und für die Oxygenierungskapillaren  $V_{iOxy} = 112 \text{ ml}$ . Alle Angaben unterliegen einer Fertigungstoleranz von  $\Delta = \pm 5 \%$ .

Jeder Bioreaktor kann nur einmal verwendet werden.

## 2.1.2 Das Gehäuse

Das Gehäuse besteht aus 8 mm dickem Acrylglas. In ihm ist der Reaktor derart aufgehängt, dass er sich um zwei Achsen drehen lässt. Auf Grund dieser Aufhängung kann, durch entsprechende Wechsel der Stellungen beim Beimpfen des Reaktors, eine gleichmäßige Verteilung der Zellen im Reaktorinnenraum erreicht werden. Es kommt zu einer spontanen Reorganisation der eingefüllten Zellen zu einer dem natürlichen Lebergewebe ähnlichen Struktur<sup>107-109</sup>. Die Zellen stellen also aktiv ihre *in-vivo* Mikro- und Makroumgebung wieder her. Dieser Prozess sichert ihre biochemische Leistungsfähigkeit.

---

Eine weitere wichtige Aufgabe des Gehäuses neben der Aufhängung ist die Temperaturregulierung mittels eines Tangentialheizgebläses. Über eine Messsonde im Acrylgehäuse wird die Isttemperatur ermittelt und über ein Leistungsmodul entsprechend der vorgegebenen Solltemperatur (37 °C) reguliert.

Das durchsichtige Material ermöglicht eine leichte optische Kontrolle des Reaktors.

### **2.1.3 Die Monitore**

Der Reaktor- und der Patientenmonitor sind nicht nur, wie der Name vermuten lässt, Registriergeräte, sondern bilden die Basis des Systems. Sie sind miteinander gekoppelt und dienen als Apparateträger für Pumpen, Klemmventile, Druckanzeigen, Steuerelektronik, Plasmafilter, Perfusoren und alle weiteren Systemkomponenten. Über die Monitore wird das System betrieben und kontrolliert.

Der Reaktormonitor trägt unter anderem zwei stufenlos, manuell regulierbare Schlauchpumpen mit Zahnriemengetriebe. Die Istwerte sind über separate LCD-Displays ablesbar. Eine der Pumpen reguliert über einen dem Reaktor vorgeschalteten Druckaufnehmer den Zufluss. Die zweite Pumpe reguliert über einen dem Reaktor nach geschalteten Druckaufnehmer den Abfluss. Die Druckaufnehmer sind über druckstabile Combidyn-Schläuche (Fa. B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) an Expansionskammern angeschlossen. Bei einem Über- oder Unterdruckalarm verschließen Klemmventile die entsprechenden Leitungen. So ist das System gegen Berstung oder Kollabieren bei Druckspitzen bzw. unphysiologischen Strömungsverhältnissen gesichert. Der Kreislauf lässt eine Rezirkulation und / oder eine Substitution der Flüssigkeit zu.

Die Leitungen zu den Zu- und Abflusskappen bestehen aus PVC-Schläuchen (Sonderanfertigungen der Fa. Braun-Carex S.p.A., Mirandola, Italien). Im Rahmen der hier vorkommenden Kräfte können die Leitungsdurchmesser als konstant angesehen werden. Sie betragen in den unterschiedlichen Abschnitten der Leitungen 2,5 mm bis 4,8 mm. Auf Höhe der Rollerpumpen sind in die Leitungen flexible Schlauchstücke eingesetzt. Das Flüssigkeitsvolumen aller Komponenten um den Reaktor, welche zum Reaktormonitor gehören (also bei Rezirkulation relevant sind), beträgt 70 ml. Aufgrund unterschiedlicher Füllung der Expansionskammern kann es zu geringfügigen Differenzen dieses Wertes kommen (ca.  $\pm 2$  ml =  $\pm 2,9$  %). Auf das Gesamtvolumen des Reaktors von 1300 ml bezogen ist diese Differenz jedoch vernachlässigbar (=  $\pm 0,15$  %).

Zur Sicherung gegen Verunreinigungen und Luftembolien sind mehrfach Sterilfilter und Luftdetektoren in den Leitungssystemen installiert.

Der Patientenmonitor trägt, neben den dem Reaktormonitor analogen Pumpen und Sicherungssystemen zum An- und Abfluten, einen Plasmafilter. Der Monitor ist im Therapiebetrieb die Verbindung zwischen dem Patienten und der Reaktoreinheit. Während der hier durchgeführten Messungen war er kurzgeschlossen und wird daher nicht weiter im Detail beschrieben.

## 2.2 Die Laufmodi

Die Reaktoren lassen sich in vier verschiedenen Laufmodi betreiben:

1. Perfusion: der Zulauf erfolgt über eines der beiden Bündel von Versorgungskapillaren (mit geschlossener Ablaufkappe) und der Ablauf über das andere (mit geschlossener Zulaufkappe) (Abb. 7).

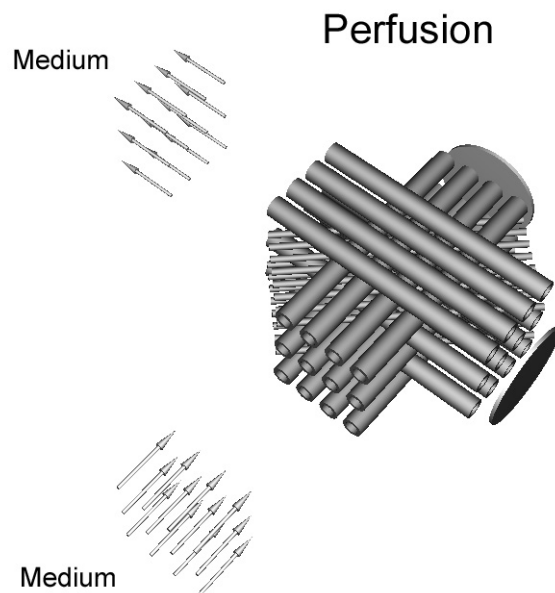


Abb. 7: Perfuptionsmodus

2. Diffusion 1: Zu- und Ablauf erfolgen über nur ein Kapillarbündel (Abb. 8).

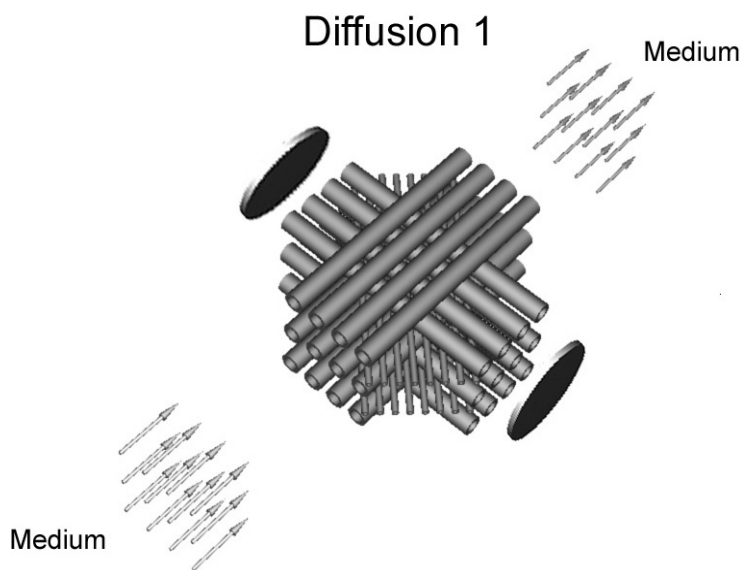


Abb. 8: Diffusion 1 Modus

3. Diffusion 1&2: alle Kappen der Versorgungskapillaren sind geöffnet, somit kann gleichzeitig Perfusion und Diffusion stattfinden. Die Kapillarbündel liegen im 90° Winkel zueinander. Der Zulauf erfolgt von der jeweils selben Seite (Abb. 9).

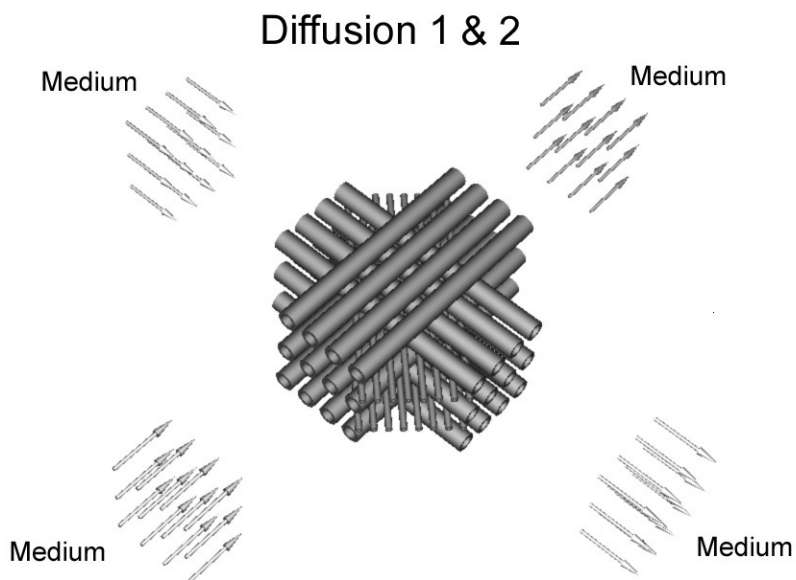


Abb. 9: Diffusion 1 & 2 Modus



4. Cross Flow: alle Kappen der Versorgungskapillaren sind geöffnet, somit kann gleichzeitig Perfusion und Diffusion stattfinden. Die Kapillarbündel liegen im 45° Winkel zueinander. Der Zulauf erfolgt durch die gegenüberliegende Kappen (Abb. 10).

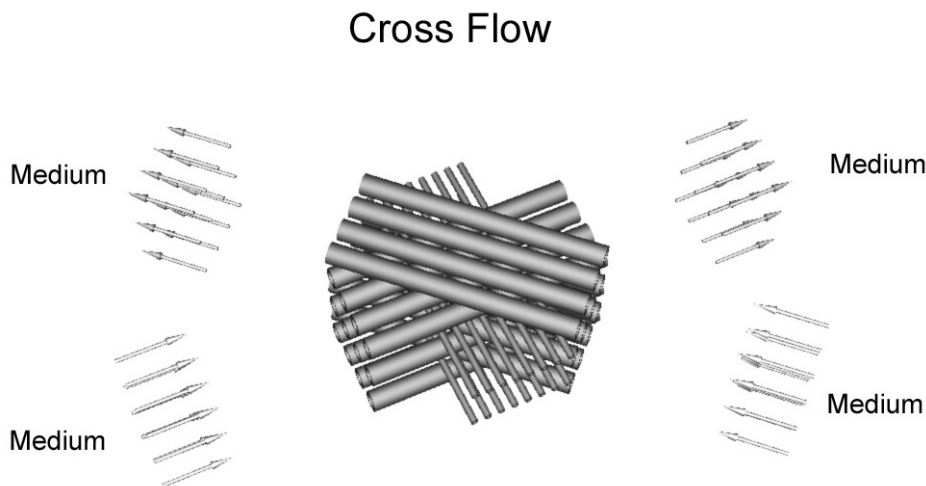


Abb. 10: Cross Flow Modus

Die Kombination dieser verschiedenen Laufmodi kann, wie im Folgenden erläutert, eine optimale und langfristige Funktion der Hepatozytenkultur gewährleisten.

Im Betrieb verstopfen die Poren der Kapillaren durch Ablagerungen von Plasma- bzw. Nährmediumbestandteilen und Produkten der Hepatozyten. Dieser Vorgang wird „membrane-fouling“ genannt. Durch die Änderung des Laufmodus, insbesondere durch Vertauschen der Zu- und Abflusskapillaren im Perfusionsmodus wird der Fluss über die Membran umgedreht. Die Poren können dadurch in einem gewissen Maß wieder freigespült werden. Aufgrund der Anordnung der Schlauchverbindungen zu den Versorgungskappen kann in einem Reaktor nur entweder Diffusion durch beide Kapillarbündel oder Cross Flow eingestellt werden, so dass sich pro Reaktor drei unterschiedliche Laufmodi ergeben.

Neben den Laufmodi muss die Betriebsart mit den Möglichkeiten Stand-By und Therapie unterschieden werden:

Im Stand-By Betrieb erfolgt die gesamte Steuerung allein über den Bioreaktormonitor. Über ihn werden der Laufmodus, die Flussgeschwindigkeit und die Druckentwicklung im Reaktor ebenso wie das Druckgefälle zwischen Ein- und Ablauf reguliert bzw. kontrolliert (s.o.). Die Versorgungskapillaren dienen dem An- und Abtransport des Mediums. Dies kann wahlweise in Rezirkulation oder mit Substitution erfolgen.

---

Im Therapiebetrieb werden zusätzlich am Patientenmonitor der Prä- und Post-Plasmafilterdruck und der Plasmazu- und ~ablauf des Reaktors reguliert. Die Versorgungskapillaren werden mit Plasma durchströmt.

Sämtliche dynamische Funktionen des Systems werden über Druckabnehmer reguliert, welche als Sicherheitselemente dienen. Bei hohen Flussraten im System, insbesondere bei mit Zellen befülltem Reaktor und im Therapiebetrieb, können hohe Drücke bzw. Druckspitzen entstehen, und ein Bersten des Reaktors, bzw. anderer Komponenten des Systems, zur Folge haben. Zum Erreichen physiologische Drücke und Volumenströme werden Schlauchpumpen mit Zahnriemengetriebe verwendet, die eine stufenlose Einstellung der Flussrate (0 – 600 ml/min) ermöglichen.

Neben den bereits beschriebenen Laufmodi und der Anordnung der Kapillarbündel im Reaktor ist die Konstruktion der Kappen von großer Wichtigkeit. Sie beeinflusst maßgeblich die gleichmäßige Anflutung der Kapillaren und somit die Durchmischungsverhältnisse im Reaktor. Zudem sollten Toträume, in denen sich Thromben bilden können, vermieden werden <sup>110</sup>.

### 2.3 Versuchsprotokoll

Die Durchmischungs-Messungen erfolgten bis auf wenige, weiter unten erläuterte Unterschiede zwischen den einzelnen Reaktoren, nach folgendem Versuchsprotokoll:

1. Zunächst wird der Reaktor auf Rezirkulation eingestellt. Er wird senkrecht ausgerichtet, mit dem Einlauf unten (bei Cross Flow oben und unten) und dem Auslauf oben. Es ist auf eine Temperatur von etwa 37°C im Reaktorgehäuse zu achten.
2. Einstellen des jeweils gewählten Laufmodus und des Pumpenflusses (s.u.).
3. Entnahme eines Leerwertes.
4. Direkt vor der Phenolrot (PSP)-Bolus Gabe wird der Rezirkulationsschlauch vor der Probenentnahmestelle mit einer stumpfen Klemme verschlossen, so dass kein PSP gegen die Flussrichtung in den Kreislauf injiziert werden kann. Die 0,2 %ige Phenolrot-Lösung wird als 15 ml ( $\pm$  30 mg) bzw. 20 ml ( $\pm$  40 mg) Bolus an der Probenentnahme (ohne Filter) injiziert. Sofort danach wird die Klemme wieder entfernt und die Zeit gestartet. Ggf. muss durch „hin-und-her aspirieren“ das PSP aus dem Probenschlauch gespült werden.
5. Die Proben werden (ohne Filter) entsprechend den unten jeweils angegebenen Zeitschemata entnommen. Vorher wird jeweils ein „Verwurf“ von 1 - 2 ml so entnommen, dass man zur vollen Minute die eigentliche Probe ziehen kann. Der „Verwurf“ soll das Totvolumen im Entnahmeschlauch austauschen und wird

---

anschließend wieder zurück gespritzt, um den Volumenverlust während der gesamten Messung möglichst gering (vernachlässigbar) zu halten. Es ist daher auch auf eine sterile Behandlung des „Verwurfs“ zu achten.

6. Die Proben von 1,5 ml werden in beschriftete und protokollierte Eppendorf-Gefäße gefüllt und werden bis zur weiteren Bearbeitung in einem 4°C Kühlschrank gelagert.
7. Zwischen den einzelnen Messungen muss der Reaktor mit NaCl gespült werden.
8. Nach dem letzten Versuch am Tag sollte zur Vermeidung einer Keimbesiedlung des Systems eine Antibiotikum-Injektion in den Kreislauf erfolgen.

## 2.4 Untersuchte Reaktoren

Es wurden an vier Reaktoren Messungen vorgenommen. Sie wurden als J19, H44, 0117 und H35 bezeichnet. Über den gesamten Zeitraum der Messungen durchgeführte Blutgasanalysen ergaben keinen Hinweis auf eine mikrobiologisch Kontamination der Reaktoren. Fluidproben aus dem Reaktorinnenraum zeigten ebenfalls in keinem der Reaktoren eine mikrobiologisch Kontamination.

Der Reaktor J19 war zum Zeitpunkt der Messungen nicht mit einem Zellpellet gefüllt. Es wurden zunächst in den drei möglichen Laufmodi (Perfusion, Diffusion 1 und Diffusion 1&2), jeweils mit Flussraten von 50, 75, 100 und 150 ml/min, Messungen durchgeführt. Es folgte eine dreiwöchige Leerlaufphase, in der u.a. Messungen zur Gas-Äquilibrierung vorgenommen wurden. Anschließend wurden erneut Durchmischungsmessungen in den drei unterschiedlichen Laufmodi, diesmal mit Flussraten von 50, 75, 100, 150, 200, 250 und 300 ml/min durchgeführt.

Der Reaktor H44 war zum Zeitpunkt der Messungen nicht mit einem Zellpellet gefüllt. Es wurden in den Laufmodi Perfusion und Diffusion 1, jeweils mit den Flussraten 50, 100, 150, 200, 250 und 300 ml/min, Messungen durchgeführt.

Der Reaktor 0117 war zum Zeitpunkt der Messungen nicht mit einem Zellpellet gefüllt. Er bietet die Möglichkeit des Cross Flow Modus. Es wurden in den drei möglichen Laufmodi (Perfusion, Diffusion 1 und Cross Flow), jeweils mit Flussraten von 50, 75, 100, 150, 200, 250 und 300 ml/min, Messungen durchgeführt, wobei die Cross Flow Messungen doppelt durchgeführt wurden.

Der Reaktor H35 war zunächst nicht für Messungen vorgesehen. Er wurde mit einem Zellpellet von 140 ml beimpft. Da sich laborchemisch innerhalb der ersten drei Tage eine initiale Nichtfunktion der Zellen zeigte, konnten exemplarische PSP-Messungen durchgeführt werden. Es wurden in den drei möglichen Laufmodi (Perfusion, Diffusion 1 und Diffusion 1&2) jeweils Messungen bei 50 und 200 ml/min durchgeführt.

---

Das Zeitschema für die Probenentnahme sah in den ersten zehn Minuten eine minütliche Entnahme vor. Bei den Reaktoren H44, J19 und 0117 folgten bis zur 20. Minute zweiminütige und anschließend 10-minütige Entnahmen, bis zur 60. Minute. Der Reaktor H35 wurde als Erster getestet. Es erfolgten nach der 10. Minute Entnahmen zur 14., 20., 30., 40. und 60. Minute. Für die darauf folgenden Untersuchungen der zellfreien Reaktoren wurden die beschriebenen zusätzlichen Zeitpunkte festgelegt.

## 2.5 Auswertung der Proben

Für die Konzentrationsmessungen wurden jeweils 100 µl der entsprechenden Probe bzw. eines Standards mit 20 µl NaOH titriert. Somit wurde ein gleicher pH-Wert der Proben während der Messungen sichergestellt. Bei der Befüllung der Mikrotiterplatten (Spalten: 1-12, Zeilen: A-H) war erneut darauf zu achten, dass nur Proben und Standards derselben PSP-Charge verwendet wurden. Die Befüllung erfolgte so, dass sich in den Reihen A&B (Standards) und in den Reihen C&D, E&F und G&H jeweils dieselben Proben befanden. Die gemessenen Werte wurden automatisch gemittelt.

Für die Messungen wurde ein Photometer vom Typ Anthos Labtec HT II, Version 1.06 (Fa. Anthos Labtec Instruments GmbH, Wals, Österreich) verwendet. Die Messungen erfolgten bei einer Wellenlänge von  $\lambda = 550 \text{ nm}$ .

## 2.6 Auswertung und Darstellung der Ergebnisse

Die Auswertung der Daten erfolgte mit dem Programm Excel (Microsoft, Redmont, USA; Version Office 2000).

Der zuvor entnommene Nullwert wurde von den folgenden Werten subtrahiert. Dadurch entstanden in den Anfangsphasen der Messungen vereinzelt rechnerisch negative Werte.

Bei den einzelnen Messungen gab es verschiedene Faktoren, welche die mögliche Endkonzentration beeinflussten. Das Abmessen des PSP-Bolus erfolgte per Hand mit einer handelsüblichen 20 ml Spritze. Hier muss, trotz sorgfältigem Arbeiten, von einer Abweichung von etwa  $\pm 1 \text{ ml}$  ausgegangen werden. Die Toleranz im Reaktor-Gesamtvolumen beträgt wie bereits beschrieben  $\pm 5 \%$ . Daher wurden, um die einzelnen Messungen vergleichbar zu machen, die Konzentrationswerte in Prozent umgerechnet. Die Konzentration zum Zeitpunkt  $t = 60 \text{ Minuten}$  wurde als vollständige Durchmischung angenommen (Konzentration =  $c$  [unendlich]). Die vorherigen Konzentrationen der jeweiligen Kurve wurden als prozentualer Anteil dieses Wertes umgerechnet. Beim Reaktor H44 wurden die Messungen mit Flussraten von 150 ml/min und 250 ml/min nur bis zur 30. Minuten durchgeführt. Hier wird jeweils dieser Wert als vollständige Durchmischung angenommen. Die übrigen Werte der

---

jeweiligen Kurve wurden in Bezug zur vollständigen Durchmischung gesetzt und als prozentualer Anteil weiter bearbeitet. Aus den prozentualen Werten wurden für die einzelnen Laufmodi und die jeweiligen Flussraten die Mediane der unterschiedlichen Messungen an den Reaktoren errechnet und als Kurven über der Zeit dargestellt. Der Median ist bei einer geringen Probenzahl wie hier geeigneter als der Mittelwert, welcher eine parametrische Verteilung voraussetzt. In den einzelnen Diagrammen wurden jeweils alle vier Laufmodi bei einer bestimmten Flussrate gegenüber gestellt.

Aus den so gewonnenen Daten wurden die Mischzeiten für die jeweiligen Kurven mit Hilfe der Homogenität ermittelt. Die Homogenität berechnet sich nach der Formel <sup>111</sup>:

$$h = \frac{|c - c [\text{unendlich}]|}{c [\text{unendlich}]}$$

Als zu erzielender Grad an Durchmischung wurde eine Homogenität von  $h = 0,1$  festgelegt. Somit markiert die Mischzeit den Zeitpunkt, ab dem sich die Konzentration nur noch im Intervall zwischen 90 – 110 % befindet. Lag die Mischzeit zwischen zwei Messzeitpunkten, so wurde zur Approximierung der Dreisatz angewendet. Die Mischzeiten wurden als Balkendiagramm, sortiert nach den Flussraten, dargestellt.