

Rheologie und Hydrodynamik des Mikroschwimmers *Chlamydomonas reinhardtii* als Modell für aktive Fluide

Dissertation
zur Erlangung des Grades
des Doktors der Naturwissenschaften
der Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät II
-Physik und Mechatronik-
der Universität des Saarlandes

von

Matthias Mußler

Saarbrücken

2014



Tag des Kolloquiums: 25.07.2014

Dekan: Prof. Dr. Christian Wagner

Mitglieder des Prüfungsausschusses:

Vorsitzender: Prof. Dr. Rolf Pelster

Gutachter: Prof. Dr. Christian Wagner

Prof. Dr. Niels de Jonge

Akademischer Mitarbeiter: Dr. Marc Schenkelberger

Kurzzusammenfassung

Aktive Flüssigkeiten bestehen aus mikroskopischen Schwimmern in einem Medium. Da die Schwimmer oftmals biologischer Natur sind befinden sich Untersuchungen dieser Flüssigkeiten an der Schnittstelle zwischen der Physik und der Biologie. In dieser Arbeit wurde experimentell die Rheologie und Hydrodynamik der einzelligen Alge *Chlamydomonas reinhardtii* auf drei verschiedenen Größenskalen untersucht. Auf der makroskopischen Skala zeigte sich der Einfluss der Motilität der Einzelzelle auf die Rheologie einer Suspension dieser Zellen durch Erhöhung der intrinsischen Viskosität unabhängig von deren Ausrichtung zur Gravitation. Visualisierungen in einer Kegel-Platte Geometrie zeigten außerdem ein unterschiedliches Migrationsverhalten von lebenden und fixierten Zellen. Dargestellte mikrorheologische Untersuchungen von sedimentierenden Kugeln in Suspensionen von CR offenbarten ein komplexes Verhalten. Die Trajektorien der passiven *tracer*-Partikel zeigen eine anomale Diffusion und können somit nicht mehr mit einer Einstein Stokes Beziehung beschrieben werden. Auch konnten kollektive Effekte beobachtet werden, die zu gerichteten Bewegungen der Kugeln führen. Auf Einzelzelebene werden Messungen von CR in der holografischen optischen Pinzette präsentiert. Aus diesen wurden die Schwimmfrequenz von CR und die Separation der Frequenz der beiden Flagellen berechnet. Außerdem werden Messungen des Rotationsdiffusionskoeffizienten in Ruhe und bei einer einfachen Scherung der Zelle gezeigt.

Abstract

Active fluids consist of microscopic swimmers in a medium. Due to the biological origin of these swimmers this topic is on the interface of the disciplines of physics and biology. In this work, the rheology and hydrodynamics of the unicellular alga *Chlamydomonas reinhardtii* (CR) were examined experimentally on three different scales. On a macroscopic scale, the influence of the motility of the individual cell on the rheology of a suspension of the cells by increasing the intrinsic viscosity is independent of the orientation of gravity. Visualizations in a cone-plate geometry showed a different migration behavior of living and fixed cells. Microrheological experiments of sedimenting microspheres in suspensions of CR reveal a complex behavior. The trajectories of passive tracer particles show anomalous diffusion that cannot be described by a Einstein Stokes relation. Collective effects can be observed, which lead to directed motion of the microspheres. On the single cell level measurements of CR are presented in the holographic optical tweezers. From this the swimming frequency of CR and the separation of the frequency of the two flagella has been calculated. Moreover, measurements of the rotational diffusion coefficients are shown at rest and during shearing of a simple cell.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Literaturüberblick	5
3	Grundlagen	11
3.1	Aufbau von Zellen	11
3.1.1	Prokaryotische Zellen	11
3.1.2	Eukaryotische Zellen	11
3.1.3	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	12
3.2	Aktive Fluide	14
3.2.1	Mikroschwimmer	14
3.2.2	Kraftdipolmodell	17
3.3	Rheologie	19
3.3.1	Theoretische Grundlagen der Rheologie	19
3.3.2	Viskosität und ihre dynamischen Effekte	20
3.3.3	Verhalten von kolloidalen Suspensionen	21
3.3.4	Beschreibung der benutzten Rheometergeometrien	23
3.3.5	Migration von Partikeln in der Kegel-Platte Geometrie	25
3.4	Mikrorheologie	27
3.4.1	Aktive Mikrorheologie	27
3.4.2	Passive Mikrorheologie	27
3.5	Optische Pinzette	32
3.5.1	Photonische Kräfte	32
3.5.2	Modell der Kräfte in optischen Pinzetten	33
3.5.3	Holografische optische Pinzetten	35
4	Experimentelle Techniken	37

4.1	Klassische Rheometer als Messsysteme für biologische Suspensionen	38
4.1.1	Rheometercharakteristika	38
4.1.2	Präparation der Messungen in Rheometer und mikrorheologischem Aufbau	40
4.1.3	Messdatenerfassung	40
4.1.4	Visualisierung von CR Suspensionen im Rheometer	41
4.2	Mikrorheologische Methoden	42
4.2.1	Aufbau	42
4.2.2	Messprotokoll Mikrorheologie	45
4.2.3	Auswertung	46
4.3	Messaufbau der holografischen optischen Pinzette	47
4.4	Particle Tracking und Mean Squared Displacement (MSD)	52
5	Experimentelle Ergebnisse	55
5.1	Rheologische Messungen	55
5.1.1	Viskosimetrische Messungen	56
5.1.2	Visualisierung in einer Kegel-Platte Geometrie	64
5.2	Mikrorheologische Messungen	68
5.2.1	Messung von Kugeln in TAP Medium	68
5.2.2	Bestimmung der Diffusionskoeffizienten von Kugeln in <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> Suspensionen	70
5.3	Messungen mit der holografischen optischen Pinzette	80
5.3.1	Frequenzmessung an Einzelzellen	81
5.3.2	Bestimmung des Rotationsdiffusionskoeffizienten	83
5.3.3	Bestimmung des Rotationsdiffusionskoeffizienten von CR Zellen im Fluss	86
6	Diskussion der Ergebnisse	89
6.1	Rheologische Ergebnisse	89
6.2	Mikrorheologische Ergebnisse	96
6.3	Einzelzellmessungen	106
7	Zusammenfassung und Ausblick	109
8	Anhang	115
8.1	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> Kultur	115

8.1.1	Herstellung von TAP Medium	115
8.1.2	Kulturbedingungen	117
8.2	Erfassung der Flagellenbewegung	119
8.3	Fluctuations of a dipole swimmers velocity field	120
	Symbolverzeichnis	125
	Abbildungsverzeichnis	127
	Literaturverzeichnis	131
	Danksagung	143
	Eidesstattliche Erklärung	145

1

Einleitung

Das Verständnis von Mikroorganismen, von denen jeder Tropfen Wasser eines natürlichen Gewässers viele Millionen enthält, ist für die Erforschung unserer Umwelt eine nicht zu unterschätzende Quelle von Erkenntnissen. Seit vor rund 350 Jahren zum ersten Mal Mikroorganismen nachgewiesen wurden, konnte man viele natürliche Prozesse mit diesen in Verbindung bringen. [1]

In der heutigen Zeit versuchen viele wissenschaftliche Disziplinen, aktuelle Probleme der Zivilisation mit der Hilfe von Mikroorganismen zu lösen. Beispielsweise versucht man, mit genetisch veränderten Mikroben CO_2 im Boden zu binden um den Klimawandel zu verlangsamen. [2] Eine andere wichtige Eigenschaft haben beispielsweise hydrocarbonoklastische Bakterien. Sie können Kohlenwasserstoffe enzymatisch aufbrechen und sind somit entscheidend am Ölabbau bei einer Ölpest, zum Beispiel im Golf von Mexiko, beteiligt. [3, 4]

Eine weitere wichtige Eigenschaft des Stoffwechsels bei Mikroschwimmern steht im Mittelpunkt der Erforschung regenerativer Energiequellen. Die in dieser Arbeit als Modellorganismus genutzte Alge *Chlamydomonas reinhardtii* ist dafür bekannt, ihren Metabolismus unter bestimmten Bedingung von Sauerstoffproduktion auf Wasserstoffproduktion umzustellen. Dies wurde erstmalig vor mehr als 70 Jahren untersucht, findet jedoch angesichts der Verknappung fossiler Brennstoffquellen neue Bedeutung. [5–9] Aktuell werden vor allem Bioreaktoren favorisiert, um die Algenkultur und Ausbeute zu bewerkstelligen. In Hamburg wurde Anfang 2013 das weltweit erste Apartmenthaus mit einer Fassade aus Bioreaktoren eröffnet. Diese erzeugen Methan und Wärme, womit das Haus geheizt und über Brennstoffzellen mit Strom versorgt werden kann. [10] Auch erste Pilotprojekte im industriellen Maßstab entstehen momentan, um die Möglichkeiten der Energieproduktion auf Algenbasis zu erforschen. [11, 12]

Aktive Flüssigkeiten bestehen aus mikroskopisch kleinen Mikroschwimmern, zum Beispiel Algen, Bakterien oder künstlich hergestellten Partikeln, und einem Medium, das diese enthält. Es ist in der Schnittstelle der Disziplinen Physik und Biologie ein aktuelles Thema von großer Wichtigkeit. Ein grundlegendes Thema in diesem

Bereich, dass in der Forschung aktuelle Fragen aufwirft, ist die Hydrodynamik von Mikroschwimmern. Wie bewegt sich solch ein Schwimmer fort und welche Auswirkungen hat diese Fortbewegung auf seine Umgebung?

Schon lange vor der Anwendung der bereits gewonnenen Erkenntnisse in Bioreaktoren wurden diese Fragen in den Bereichen Biologie und Physik und später in interdisziplinär arbeitenden Gruppen gestellt. Dabei ist die Datenlage und Modellierung der Systeme noch immer unzureichend und wird fortlaufend ergänzt. Speziell die experimentelle Erkenntnislage ist hierbei auf Grund der Schwierigkeiten im Umgang mit biologischen Systemen bei Einsatz physikalischer Methoden sehr schwach ausgeprägt. Beispielsweise wurden bisher noch keine Messungen von bakteriellen Suspensionen in makroskopischen Größenordnungen vermeldet und auch über die Dynamik sedimentierender Partikel in aktiven Fluiden sind noch keine Studien in der einschlägigen Literatur zu finden. Da die makroskopisch messbaren Effekte und die Modelle auf mikroskopischen Eigenschaften der Zellen basieren, ergänzen Messung von Kennzahlen durch Einzelzellexperimente diese Dissertation.

Diese Arbeit soll dazu beitragen, aktuelle Forschungsfragen im Bereich der Hydrodynamik aktiver Fluide zu beantworten und auf weitere sich ergebende Problemstellungen hinzuleiten. Dazu sollen Fragestellungen, die sich aus der Bewegung der Mikroschwimmer ergeben, in drei verschiedenen Größenskalen untersucht werden. Es wird unterschieden zwischen der makroskopischen Skala, auf der mehrere Milliliter einer solchen Suspension betrachten werden, der mittleren Skala, auf der mehrere zehn bis hundert Zellen die Dynamik beeinflussen, und der Einzelzellebene, auf der die Eigenschaften der einzelnen Zellen untersucht werden. Auf der makroskopischen Skala wurde der Einfluss der Motilität der Einzelzelle auf die Rheologie einer Suspension dieser Zellen untersucht. Visualisierungen in einer Kegel-Platte Geometrie zeigte außerdem ein unterschiedliches Migrationsverhalten von lebenden und fixierten Zellen. Mikrorheologische Untersuchungen von sedimentierenden Kugeln in Suspensionen von CR offenbarten eine komplexe Dynamik. Es konnten kollektive Effekte beobachtet werden, die das Diffusionsverhalten der Kugeln entscheidend beeinflussen. Auf Einzelzellebene werden Messungen von CR in der holografischen optischen Pinzette präsentiert. Aus diesen kann man wichtige Parameter der Schwimmbewegung bestimmen. Außerdem werden Messungen des Rotationsdiffusionskoeffizienten in Ruhe und bei einer einfachen Scherung der Zelle gezeigt. Abschließend wird ein Verfahren zur Bestimmung der Flagellenposition vorgestellt.

Zuerst führt diese **Einleitung** zusammen mit einem **Literaturüberblick** in die Thematik ein. Nach den **theoretischen Grundlagen** der Mikroschwimmer im Allgemeinen und der Alge *Chlamydomonas reinhardtii* (CR) im Speziellen wird eine Einführung in die **Grundlagen der genutzten Messverfahren** gegeben. Dazu werden die Themen Rheologie, Mikrorheologie/Diffusion und holografische optische Pinzette näher erläutert. Im Kapitel **experimentelle Methoden** werden die genutzten Messaufbauten, Messgeräte und Auswerteverfahren im Detail erklärt und die Messprotokolle vorgestellt. Eine Diskussion der experimentellen Fehlerquellen vervollständigt dieses Kapitel. Im **experimentellen Teil** der Arbeit werden die Messungen und Versuche vorgestellt, die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt wurden. Nach den

rheologischen Experimenten in denen CR Suspensionen in verschiedenen Geometrien viskosimetrisch vermessen wurden, werden Visualisierungen von Messungen in einer Kegel-Platte Geometrie gezeigt. Anschließend werden die mikrorheologischen Messungen zur Bestimmung des Diffusionsverhaltens passiver sedimentierender Kugeln in CR Suspensionen erläutert. Den Abschluss bilden Versuche auf Einzelzellebene mit der holografischen optischen Pinzette. Diese liefern Kennzahlen des CR Schwimmverhaltens und einen stellen einen Ausblick auf die Möglichkeiten dieses Instruments dar. Im Kapitel **Diskussion** werden die Messergebnisse und Auswertungen näher erläutert und es werden Modelle und Erklärungsansätze für die gezeigten Effekte vorgestellt. Dies wird in die aktuelle Literatur eingeordnet und mit den dortigen Modellen verglichen. Eine **Zusammenfassung** rekapituliert abschließend die wichtigsten Punkte der in dieser Dissertation bearbeiteten Themen und gibt einen Ausblick auf zukünftige Möglichkeiten in diesem aktuellen Forschungsgebiet.

2

Literaturüberblick

In den letzten Jahren ist die Arbeit mit aktiven Fluiden stark in den Fokus aktueller Forschung gerückt. Speziell die zunehmende Stärkung der interdisziplinären Fachrichtung biologische Physik hat dazu geführt, dass Physiker sich verstärkt biologischen Systemen zuwenden beziehungsweise physikalische Fragestellungen auf biologische Systeme ausdehnen. Um einen Überblick über die Forschungsergebnisse zu gewinnen, welche schließlich zu den Fragestellungen führten, die in dieser Arbeit behandelt werden, ist es wichtig, die Anfänge der Forschung zu betrachten.

Eines der ersten Mikroskope wurde im Jahr 1590 von einem unbekannten Erfinder in den Niederlanden entwickelt. Die dort entstandene Expertise im Bau von Mikroskopen führte bald zu bedeutenden Entdeckungen durch Antony van Leeuwenhoek, der mit seinen selbst gebauten Mikroskopen die roten Blutzellen oder im Jahr 1676 von seiner Entdeckung der Mikroorganismen in Süß- sowie Salzwasser berichten konnte. Er war somit der Erste, der einzellige Organismen, in diesem Fall Bakterien der Gattung *Selenomonas*, im menschlichen Speichel nachweisen konnte. [1] Im Jahre 1866 wurde erstmals die Gruppe der Flagellaten, also einzelliger eukaryotischer Lebewesen mit peitschenähnlichen Zellfortsätzen, von Karl Moritz Diesing unter dem Namen *Taxon mastigophora* beschrieben. [13]

Fundamental neue Einblicke ergaben sich aus der neuartigen physikalischen Sichtweise der stochastischen Prozesse, damals einer sehr jungen Disziplin in der Mathematik und Physik. Einstein konnte neben Smoluchowski 1905 wichtige Beiträge zur Theorie der Brownschen Bewegung [14] bringen, die zu einem besseren Verständnis und einer Beschreibung der thermisch verursachten Diffusion führten. [15, 16] Ein sehr wichtiges Resultat aus diesen Arbeiten ist die Stokes-Einstein-Gleichung zur Berechnung des Diffusionskoeffizienten eines sphärischen Partikels in einem viskosen Medium. Eine weitere wichtige Arbeit stellt A. Einsteins Dissertation dar, in der das Einstein Gesetz zur relativen Viskosität von Kolloidsuspensionen hergeleitet wurde. [17] Da das Einstein Gesetz zur relativen Viskosität von Kolloidsuspensionen lediglich für den Bereich verdünnter Suspensionen gilt, wurde später von Irvin M. Krieger und Thomas J.

Dougherty das Krieger-Dougherty Gesetz zur Berechnung der effektiven Viskosität von Kolloidsuspension im mittel-verdünnten Bereich durch eine phänomenologische Herleitung vorgestellt. [18]

Auf Grund der in dieser Arbeit benutzen Messinstrumente muss man auch die Taylor-Couette Geometrie erwähnen, die nach Maurice Couette und Geoffrey Ingram Taylor benannt wurde. Maurice Couette entwickelte ein Viskosimeter, welches aus zwei konzentrischen relativ zu einander rotierenden Zylindern bestand. [19] Die darin bei kleinen Rotationsgeschwindigkeiten auftretende laminare Strömung wurde nach ihm benannt. Geoffrey Ingram Taylor arbeitete unter anderem an hydrodynamischen Instabilitäten wie der Bildung von Wirbeln in einem System, wie von Couette entwickelt. Die entdeckte Instabilität wird Taylor-Couette Instabilität genannt. [20]

Nach den Arbeiten von Gibbs *et al.* [21] über die Struktur der Flagellen des Stamms *Chlamydomonas moewusii* beschrieb David L. Ringo in seiner Arbeit im Jahr 1967 das Schwimmverhalten von *Chlamydomonas reinhardtii* (CR). Die Bewegung der Flagellen wird mit *powerstroke* und *recoverystroke* unterschieden. Ringo verband dies mit lichtmikroskopischen und elektronenmikroskopischen Untersuchungen zur Zuordnung der verantwortlichen Strukturen was in guter Übereinstimmung mit früheren Beobachtungen des Schwimmverhaltens von CR von Levine *et al.* steht. [22,23] Auch die Beobachtung, dass die Synchronität der Flagellenbewegung in gewissen Zeitintervallen verloren geht wurde hier erstmals geäußert.

Eine umfangreiche Arbeit zur Rheologie von Suspensionen starrer Partikel und auch eine theoretische Beschreibung wurde 1976 von Jeffrey *et al.* vorgestellt. [24] Der Fokus lag auf einem System starrer Partikel, die in einer newtonschen Flüssigkeit suspendiert sind. Man hat experimentell nachgewiesen, dass sich eine solche Suspension makroskopisch wie eine nichtnewtonsche Flüssigkeit verhält und Vergleiche der Ergebnisse mit früheren Arbeiten von Krieger *et al.* hergestellt. [25]

Weitere strukturelle Untersuchungen an CR erfolgten danach von Witman *et al.* [26], speziell zur Feinstruktur der Flagellen. Weitere Modellierung der Kraftausübung der Flagellen erfolgte in einer Arbeit von Johnson *et al.*. Hier verglich man die resistive Krafttheorie, welche bislang weitläufig für hydrodynamische Probleme genutzt wurde, mit der *slender body*-Theorie und kam zu dem Ergebnis, dass beide Theorien durchaus vergleichbar gut ein einzelnes Flagellum ohne Zellkörper beschreiben. Bezieht man auch den Zellkörper in die Betrachtung ein, kann man zwar mit der resistiven Krafttheorie kleine Zellkörper wie beispielsweise ein Spermium beschreiben, bei größeren Zellkörpern, wie bei CR, jedoch versagt diese Theorie und es muss die *slender body*-Theorie benutzt werden. [27] Dieses bietet den Vorteil, dass die Körpersymmetrie bereits mit betrachtet wird.

Erste rheologische Arbeiten an biologischen Suspensionen wurden von Oolman *et al.* im Jahr 1986 vorgestellt. [28] Es wurden Messungen in einem Couette System gezeigt, in denen ein pelletbildendes Bakterium studiert wurde. Es zeigte sich, dass bei kleinen Scherraten spaltübergreifende Agglomerate entstehen, welche bei höheren Scherraten zu Einzelpellets zerfallen und sich bei weiterer Erhöhung der Scherrate langsam verformen. [28]

Im Jahr 1987 wurde von Ashkin *et al.* zum ersten Mal gezeigt, dass man Bakterien des Typs *Escherichia coli* mit einer optischen Falle fangen und manipulieren kann. [29] Dies war ein wichtiger Schritt zur weiteren Erforschung der Motilität¹ von Mikroschwimmern auf dem Einzelzellniveau. Fast zwanzig Jahre später haben McCord *et al.* die Kraftausübung von CR in optischen Fallen während der Regeneration der Flagellen gemessen. [30] Auch die mit Phototaxis verbundene Kraftgenerierung wurde in einer Arbeit von Holm *et al.* mit optischen Fallen erforscht. [31]

Ebenfalls im Jahr 2005 zeigte eine Arbeit von Rüffer *et al.*, dass der von D. Ringo angenommene asynchrone Flagellenschlag von CR in gewissen Perioden nachweisbar ist und eine Systematik aufweist. Es wurde festgestellt, dass während 2 bis 3 Schlägen der *cis* Flagelle die *trans* Flagelle 3 bis 4 mal mit einer reduzierten Schlagweite schlägt. Dieser Effekt wurde später auch in einfach flagellierten Mutanten nachgewiesen und kann somit nicht auch hydrodynamische Wechselwirkung zurückgeführt werden. [32,33] Eine umfassende theoretische Arbeit wurde im Jahr 1992 von Pedley und Kessler veröffentlicht. Hier wurde unter anderem das Verhalten verschiedener Schwimmer auf Einzelzellniveau und in Kollektiven studiert. Auf beiden Größenordnungen bieten gewisse Dynamiken den Mikroorganismen Vorteile bei Wachstum oder Nahrungssuche, außerdem wurden Effekte wie Biokonvektion zur Gasmischung und besseren Agglomeration zu Fortpflanzungszwecken untersucht. Diese Veröffentlichung bietet eine Übersicht über die Fortbewegungskonzepte von Mikroschwimmern am unteren Ende der Längenskala wie *Bacillus subtilis* über CR bis hin zu großen multizellulären Schwimmern wie *Volvox carteri*. Man konzentrierte sich schließlich auf sphärische Biflagellaten vom Typ *Chlamydomonas*, die sich mit *breaststrokes*, also einer Art Brustschwimmen, fortbewegen. Dabei sei angemerkt, dass die Schwimmbewegung bei kleinen Reynoldszahlen nicht mit der Fortbewegung bei großen Reynoldszahlen vergleichbar ist. Dies manifestiert sich zum Beispiel im *Scallop*-Theorem von Purcell. [34] Die Antriebskonzepte reichen dabei von helikalen Bewegungen von Flagellenbündeln bis hin zu kollektivem Schlag vieler hundert Flagellen. In einer Veröffentlichung von Pedley & Kessler werden ebenfalls die Orientierungsmechanismen über Taxien behandelt und diese Überlebensstrategien zugeordnet. Von den Autoren wurden auch Annahmen und theoretische Modellierungen zu Auswirkungen der Gyrotaxis und Rheotaxis getroffen, wobei man auch translatorische und rotatorische Diffusion betrachtet wurden. Des Weiteren wurden in deren Arbeit Instabilitäten in einem auf Grund der Gyrotaxis hydrodynamisch fokussierten Strahl hoher Volumenkonzentration diskutiert. [35]

Ebenfalls in diesen Jahren wurden die Methoden des Particle Tracking verfeinert, die schließlich zu den Algorithmen führten, die auch in dieser Arbeit intensiv verwendet wurden. [36,37] Über die Grundlagen der im experimentellen Abschnitt mit Visualisierungen vorgestellten radialen Migration von Partikeln bei Kolloidsuspensionen und deren Ursachen in der Trägheit der Partikel berichten Sdougos *et al.* und Ponche *et al.* [38,39]

Einen Überblick über moderne Forschungsrichtungen in der Biotechnologie lieferte im Jahr 2000 die Arbeit von Ghirardi *et al.* Man hat dort die Fähigkeit von Algen

¹Motilität (lat. motio – Bewegung) bezeichnet die Fähigkeit zur aktiven Bewegung. Dagegen wird die Eigenschaft, bewegt werden zu können, als Mobilität (passive Beweglichkeit) bezeichnet.

zur Wasserstoffproduktion unter ökonomischen und ökologischen Gesichtspunkten diskutiert und dabei die beiden Ansätze der zeitlichen Separation von Sauerstoff und Wasserstoffproduktion mit dem genetischen Ansatz der Veränderung des Hydrogenaseenzym verglichen. [8] Diese Eigenschaft wurde in Algen bereits 1939 durch Gaffron nachgewiesen und in vielen späteren Arbeiten, beispielsweise nach Gesichtspunkten der Solarenergiekonversion, weiter untersucht. [5, 7] Später wurde in der Referenz Melis *et al.* nachgewiesen, dass ein schwefelarmes Medium dazu führt, das CR den Photosyntheseprozess von Sauerstoff- auf Wasserstoffproduktion umstellt. [6]

In den letzten Jahren wurde CR, welche vorher schon ein viel untersuchter Modellorganismus für Genetiker war, zunehmend auch für Physiker interessant. Eine Grundlage für die Arbeit mit CR bildete ab 2008 eine große Abhandlung, das *Chlamydomonas Sourcebook*, von Harris *et al.* [40]. In diesem Werk werden viele Erkenntnisse über CR zusammengefasst und es bildet ein Kompendium zu Kulturbedingungen und den benötigten Materialien zur erfolgreichen Laborarbeit mit dieser Alge.

Eine erste Arbeit zur Diffusion von Partikeln in aktiven Fluiden wurde im Jahr 2000 von Wu *et al.* veröffentlicht. [41] Dort wurde das *Mean Squared Displacement*² von Partikeln in Suspensionen von Bakterien des Typs *Escherichia coli* gemessen. Dabei hat man festgestellt, dass für kurze Zeiträume in einer solchen Suspension eine Superdiffusion vorherrscht, welche bei langen Zeiträumen in die normale Diffusion übergeht. Dieser Effekt wurde der kollektiven Dynamik der Bakterien zugeordnet. Eine weitere Arbeit über die Beeinflussung des Diffusionsverhaltens von *Tracer*-Partikeln durch Suspensionen von Bakterien des gleichen Typs wurde 2004 von Kim *et al.* veröffentlicht. Dort wurde der Einfluss von Bakterien auf die Diffusion von hochgewichtigen Molekülen durch die Beobachtung des Mischungsverhaltens zweier Fluide untersucht. [42] Eine theoretische Abhandlung zur Mikrorheologie von Bakteriensuspensionen erstellten Lau *et al.* [43]. Die Diffusion passiver Partikel in aktiven Suspensionen von CR wurde in einer Arbeit von Leptos *et al.* vorgestellt. [44] Dort wurden Mikrosphären von 2 μm Durchmesser verwendet und das MSD gemessen. Eine Modifikation der Bewegung durch hydrodynamische Auswirkungen des Schlags der Flagellen wurde betrachtet. [44] Im Jahr 2004 wurde eine im Bezug auf eine der Fragestellungen dieser Arbeit sehr wichtige Studie veröffentlicht. Hatwalne *et al.* formulierten Voraussagen für das rheologische Verhalten von Mikroschwimmersuspensionen. [45] Sie unterteilten diese dabei in *pusher* und *puller* und berechneten die Korrekturen in der Scherviskosität aufgrund der aktiven Fluktuationen. Ein wichtiges Ergebnis der Studie bezüglich dieser Arbeit ist die Voraussage, dass mit zunehmender Konzentration an *pusher* die effektive Viskosität einer Suspension erniedrigen, während *puller* diese erhöhen. Diese Voraussagen wurde durch spätere Arbeiten von Haines *et al.* und Saintillan nochmals ausgeweitet. [46, 47] Eine erste Überprüfung der Vorhersagen aus Referenz [45] erfolgte im Jahr 2009 in der Gruppe von I. Aranson. In deren Arbeit wurde die effektive Viskosität einer Suspension von Bakterien (*pusher*) modelliert und experimentell untersucht. Es wurde die Erniedrigung der Viskosität beobachtet. [46, 48] In einer Studie von Rafai *et al.* von 2010 gelang umgekehrt der Nachweis einer Erhöhung der effektiven Viskosität durch *puller* vom Typ CR wobei ebenfalls ein Modell zur Beschreibung von *puller*

²mittlere quadratische Verschiebung, später als MSD bezeichnet von **M**ean **S**quared **D**isplacement

vorgestellt wurde, das sogenannte Kraftdipolmodell. [49, 50] Auf dieses Modell wird im Grundlagenteil dieser Arbeit näher eingegangen.

Mehrere Jahre nach den Arbeiten von D. Ringo und anderen Arbeitsgruppen rückte auch die Synchronisation der Flagellen wieder in den wissenschaftlichen Fokus zum Beispiel durch Arbeiten wie [51] und [52], in denen speziell die Synchronisation von Biflagellaten wie CR untersucht wurde. Es wurde festgestellt, dass sich die Flagellen wie hydrodynamisch gekoppelte Oszillatoren verhalten. Dieses Verhalten mit dem beobachteten Umschalten von synchronem und asynchronen Schwimmen mit großen Reorientierungsschritten kann man ähnlich dem bei Bakterien vorkommenden *run and tumble* Verhaltensmuster ansehen. Auch die Wechselwirkung zwischen den Flagellen als Grund für die Synchronisation wurde in einer Arbeit von Leoni *et al.* betrachtet während Friedrich und Jülicher die Kopplung zwischen Flagellen und Zellkörperbewegung als ursächlich für das Synchronisierungsphänomen sehen. [53, 54]

Seit dem Jahr 2011 Jahren sind neben den Bewegungsmustern der Flagellen auch die rheologischen Eigenschaften aktiver Fluide stärker untersucht und modelliert worden. Als Beispiele kann man hierbei neben den bereits erwähnten Arbeiten unter anderem Saintillan *et al.* und Giomi *et al.* nennen. [55] Saintillan betrachtet in seiner Arbeit die Dehnungsrheologie von aktiven Suspensionen näher und entwickelte ein theoretisches Modell in Anlehnung an frühere Studien mit stäbchenförmigen Partikeln. Auch werden mehrere physikalische Charakteristiken wie Rotationsdiffusion, Normalspannung und effektive Viskosität hergeleitet. [55, 56] Das Scherverhalten aktiver polarer Partikel wurde in Giomi *et al.* im Hinblick auf nichtnewtonsche Effekte wie Scherverdünnung untersucht mit dem Ergebnis, dass eine reichhaltige Variation verschiedener Phänomene auffindbar ist, die besonders durch die Form der Partikel und auch die Aktivität bestimmt werden. [56] Eine weitere kürzlich veröffentlichte Arbeit zur nicht-newtonschen Viskosität von Mikroschwimmern behandelt das Verhalten von *Escherichia coli*. Es wird gezeigt wie sich rheologische Eigenschaften von Mikroschwimmersuspensionen in einem y-förmigen Kanal messen lassen mit dem Vorteil das sehr niedrige Scherraten möglich sind. [57]

In der vorliegenden Arbeit werden die grundlegenden experimentellen Methoden zur Untersuchung von CR vorgestellt. Diese Experimente fanden in Zusammenarbeit mit S. Rafai und P. Peyla aus Grenoble statt. Die ersten Ergebnisse aus den aufgebauten Experimenten wurden in *Europhysics Letters* [58] veröffentlicht und stellten die ersten makroskopischen Untersuchungen dieser Art dar. Eine weitere Publikation, welche sich mit dem zweiten wichtigen Thema der mikrorheologischen Eigenschaften von CR Suspensionen und deren Auswirkungen auf passive sedimentierende Partikel auseinandersetzt, ist in Vorbereitung.

3

Grundlagen

3.1 Aufbau von Zellen

Unter einer Zelle¹ versteht man die elementare Einheit aller Lebewesen. Es existieren einzellige und vielzellige Lebensformen. Bei Vielzellern sind die einzelnen Zellen zu funktionalen Einheiten verbunden. Alle in der Natur vorkommenden Zelltypen lassen sich in prokaryotische und eukaryotische Zellen unterteilen.

3.1.1 Prokaryotische Zellen

Prokaryotische Zellen sind einfacher aufgebaut als eukaryotische Zellen und besitzen keinen definierten Zellkern. Die DNA liegt frei im Zytoplasma und ist nicht durch spezielle Proteine stabilisiert. Die am häufigsten vorkommenden prokaryotische Zellen sind die Bakterien (z.B. *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*).

3.1.2 Eukaryotische Zellen

Die eukaryotische Zelle hat einen wesentlich komplexeren Aufbau als die prokaryotische Zelle. Sie besitzt eine äußeren Doppellipidschicht, die Zellmembran, welche eine regulierende Wirkung für den osmotischen Druck durch Aufrechterhaltung eines elektrochemischen Gradienten hat. In der Membran sind verschiedene Proteine eingebettet, welche dazu dienen, Ionen und Moleküle mit der Umgebung auszutauschen. Des Weiteren haben die peripheren Proteine die Aufgabe, die Zelle nach außen zu identifizieren.

Eine weitere wichtige Komponente ist das Zytoskelett, ein dynamisches Proteingerüst aus verschiedenen Filamenten. Einen Großteil des Zellvolumens bildet das Zytoplasma,

¹lateinisch *cellula* = kleine Kammer, Zelle

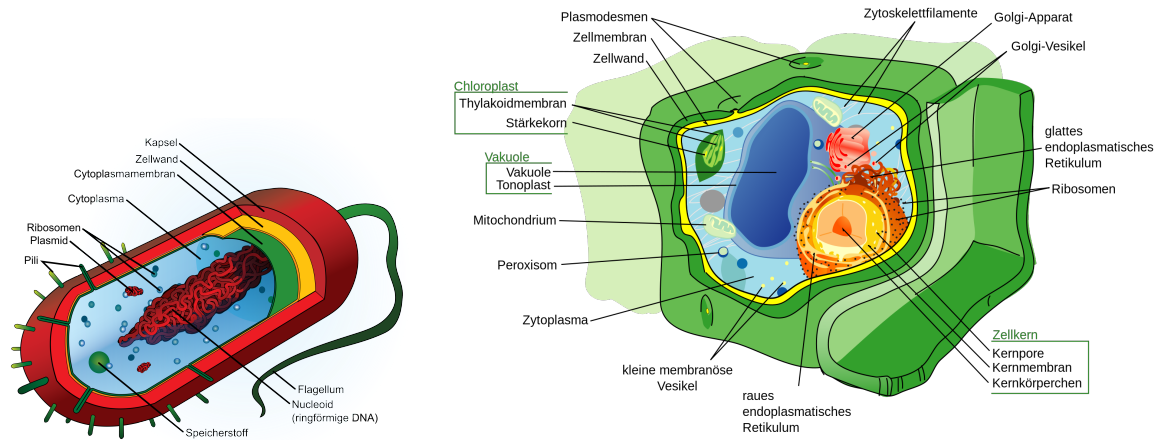


Abb. 3.1: Links: Prokaryotische Zelle, deren DNA zirkulär aufgeknäuelte im Zentrum des Zytoplasmas liegt. Rechts: Schnitt einer eukaryotischen Pflanzenzelle [59]

eine mit Ionen und Proteinen angereicherte Polymerlösung, in der die Organellen und der Zellkern eingebettet sind.

Die wichtigsten Organellen in jeder Zelle sind das endoplasmatische Retikulum (ER), der Golgi-Apparat (GA) und die Mitochondrien. Das ER ist ein weitverzweigtes Membrannetzwerk, das aus Zisternen und Hohlräumen besteht und direkt in die Zellkernhülle übergeht. Am und im ER finden Proteinbiosynthese, Translation, Proteinfaltung, und weitere Proteinmodifikationen statt. Der GA ist ein membranumschlossener Reaktionsraum innerhalb der Zelle, der an der Sekretbildung und zahlreichen weiteren Aufgaben des Zellstoffwechsels beteiligt ist. Die Mitochondrien sind die zellulären „Kraftwerke“, welche den den biochemischen Energieträger für die intrazellulären Prozesse liefern, indem sie Adenosintriphosphat (ATP) synthetisieren. ATP stellt die universelle Form unmittelbar verfügbarer Energie in jeder Zelle dar und ist gleichzeitig ein wichtiger Regulator energieliefernder Prozesse. Als letztes soll hier noch der membranumschlossene Zellkern erwähnt werden, der die chromosomale DNA enthält. [60]

3.1.3 *Chlamydomonas reinhardtii*

Da die Untersuchungen in dieser Arbeit an den Zellen der Gattung *Chlamydomonas* durchgeführt wurden, sollen diese näher betrachtet werden. *Chlamydomonas reinhardtii* (CR) ist eine unizelluläre Grünalge, die in Süßwasser oder feuchten Boden lebt (siehe Abbildung 3.2). Sie gehört zur Ordnung der *Volvocales* in der Abteilung der *Chlorophyta*. Sie hat einen fast kugelförmigen Körper (Exzentrizität $\epsilon = 0,1$) mit einem Durchmesser von $5-10 \mu\text{m}$ ². Die Zelle hat zwei gleichförmige $10-12 \mu\text{m}$ lange Flagellen, die zur Fortbewegung genutzt werden. Die wichtigsten und größten Organellen der Zelle sind der Chloroplast, in dem die Photosynthese stattfindet, mit seinem großen

²hier genutzter Stamm

Pyrenoid, der als Lagerstätte für ein Enzym dient, das für die Photosynthese wichtig ist, der Nukleus, und der Augenfleck (Stigma), der zur Lichtwahrnehmung dient und die Phototaxis der Zelle steuert. [40]

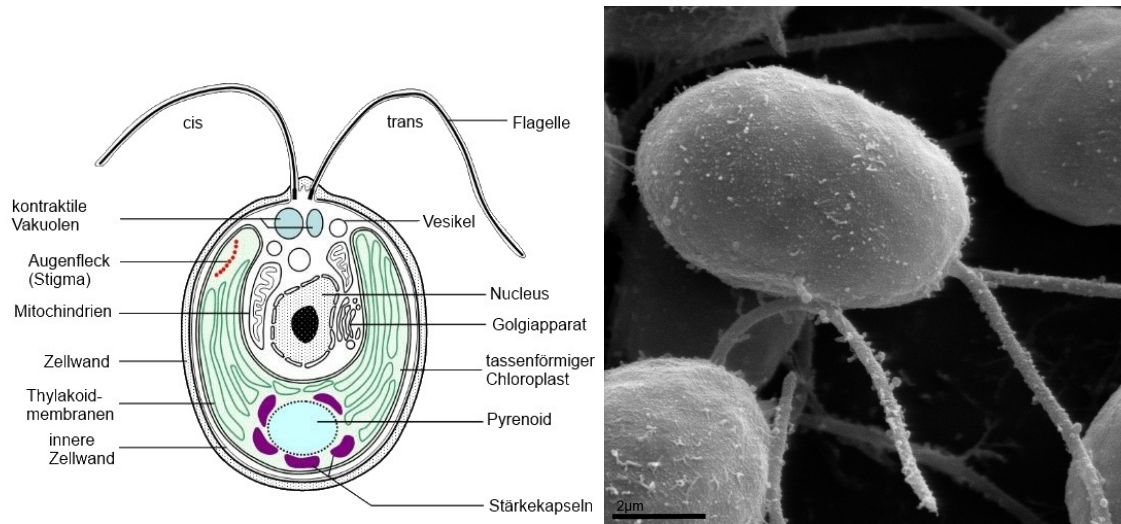


Abb. 3.2: Links: Detailschema des Aufbaus von *Chlamydomonas reinhardtii* (modifiziert von [61]). Rechts: Aufnahme einer Zelle CR in einem Scanning Electron Microscope (SEM). Man erkennt den Zellkörper und die beiden Flagellen (modifiziert von [62])

Das Flagellum nahe des Stigma bezeichnet man als *cis* und das gegenüberliegende als *trans* Flagellum. Die Bewegungsmuster der beiden Flagellen unterscheidet sich darin, dass das *trans* Flagellum stoßweise schneller schlagen kann, während das *cis* meist mit konstanter Frequenz schlägt. Auch unterscheiden sich die Bewegungsabläufe der Flagellen, was schließlich zu einer helikalen Fortbewegung im Uhrzeigersinn führt. [33] Für die Kultivierung von CR im Labor ist es wichtig zu erwähnen, dass CR sowohl phototroph als auch heterotroph (auf festem Nährboden) leben kann.

Da CR auch mehrere Taxien aufweist, muss man auch in dieser Hinsicht darauf achten, die Umgebung entsprechend zu präparieren. Eine Taxis ist eine Orientierungsreaktion von freibeweglichen Lebewesen, das heißt die Ausrichtung ihrer Bewegung in einem Gradienten eines Umweltfaktors, beispielsweise Temperatur, Konzentration eines Stoffes, Beleuchtungsstärke, oder auf eine Reizquelle zu (positive Taxis) oder von ihr weg (negative Taxis). Im Gegensatz zu einem auslösenden Reiz einer Endhandlung muss bei Taxien der richtende Reiz immer vorhanden sein, sonst wird die Handlung beendet. Die stärksten Taxien, die bei CR im Allgemeinen auftreten, sind Phototaxis: Bewegung auf Grund einer Lichtquelle mit bestimmter Wellenlänge, Gravitaxis: Orientierung an der Schwerkraft, Gyrotaxis: Bewegung resultierend aus der Ausrichtung der Zelle auf Grund eines Flusses, Chemotaxis: Bewegung entlang eines chemischen Gradienten. [63–65] Die Phototaxis funktioniert bei CR auf zwei Wegen; wenn die Lichtstärke eher gering ist, bewegt sich CR darauf zu, wenn sie zu stark ist, davon weg. Dies dient zur Optimierung der Photosynthese. [40].

3.2 Aktive Fluide

Aktive Fluide sollen hier als Suspensionen von Partikeln, die Energie aus dem umgebenden Lösungsmedium oder einem internen Reservoir dissipieren verstanden werden. Es gibt natürliche und künstlich hergestellte aktive Fluide. Ein Beispiel für ein künstliches aktives Fluid ist eine Suspension von Janus-Schwimmer Partikeln. Als Janus-Partikel werden unsymmetrische Teilchen mit zwei unterschiedlichen Seiten bezeichnet. Die am weitesten verbreiteten Janus-Partikel sind Kügelchen, bei denen eine Seite zum Beispiel mit polaren und die andere mit unpolaren chemischen Gruppen modifiziert wurde. Diese Mikroschwimmer können sich nun durch eine chemische Wechselwirkung mit dem Lösungsmittel fortbewegen. [66] Ein Beispiel für eines der vielen in der Natur vorkommenden aktiven Fluide sind aktive polare Gele bestehend aus hochkonzentrierten Zellsuspensionen, Actomyosin oder Zellextrakten und Suspensionen von Bakterien wie *Escherichia coli* oder Algen wie der in dieser Arbeit untersuchten Süßwasseralge *Chlamydomonas reinhardtii*.

3.2.1 Mikroschwimmer

Zu den Mikroschwimmern zählt man einen Großteil der Mikroorganismen, da die meisten dieser Lebewesen Konzepte zur Fortbewegung entwickelt haben. In Abbildung 3.3 wird eine Auswahl dieser Konzepte gezeigt.

Die Physik von Schwimmbewegungen wird durch die allgemeinen Navier-Stokes Gleichungen beschrieben. Da Wasser in sehr guter Näherung als inkompressibel angesehen werden kann, reicht es von den sogenannten inkompressiblen Navier-Stokes Gleichungen auszugehen. Ist außerdem noch die Dichte konstant, kann man nach Referenz [67] die Navier-Stokes Gleichung in folgender Form schreiben:

$$\frac{\partial \vec{v}}{\partial t} + (\vec{v} \cdot \nabla) \vec{v} = -\nabla \bar{p} + \nu \nabla^2 \vec{v} + \vec{f} \quad (3.1)$$

Dabei bezeichnet $\vec{v}$ die Geschwindigkeit eines Teilchens in einer Strömung, $\bar{p}$ den Druck geteilt durch die Dichte, ν die kinematische Viskosität der Flüssigkeit und $\vec{f}$ eine Volumenkraft. Ein Beispiel für eine solche Kraft ist die Gravitation oder die Corioliskraft. Man kann sich die Navier-Stokes Gleichung dadurch verständlich machen, indem man sie sich als Analogon zur Newtonschen Bewegungsgleichung eines Volumenelements in einem strömenden Medium vorstellt.

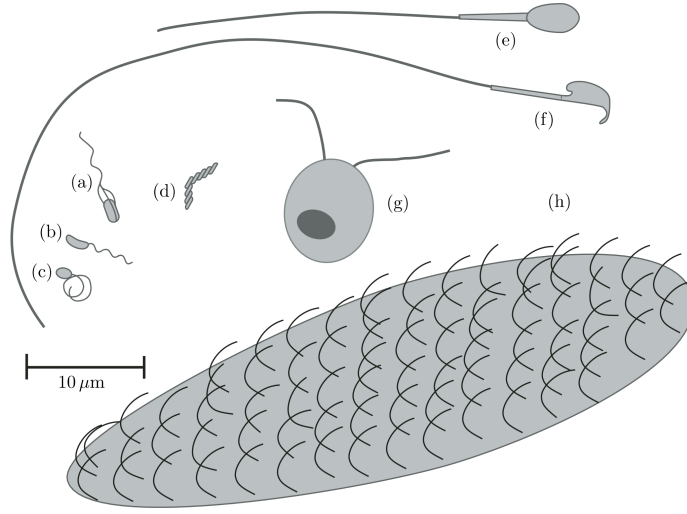


Abb. 3.3: Maßstabgerechte Skizzen von natürlich vorkommenden Mikroschwimmern: (a) Bakterium *E. coli*, (b) Bakterium *C. crescentus*, (c) *R. sphaeroides* mit flagellarem Filament in aufgewickeltem Zustand, (d) *Spiroplasma* in Spiralform, die sich korkenzieherartig bewegt, (e) menschliches Spermium, (f) Spermium einer Maus, (g) *Chlamydomonas* und (h) kleines *Paramecium* (Pantoffeltierchen, Fortbewegung durch Cilien) Abbildung aus [68]

Bakterien wie *Escherichia coli* und Algen wie *Chlamydomonas reinhardtii* (CR) haben unterschiedliche Vortriebskonzepte. Um diese zu verstehen, sollen zunächst die Umgebungseigenschaften beschrieben werden. Wichtig ist in diesem Zusammenhang die Reynoldszahl. Sie beschreibt das Verhältnis von Trägheits- zu Zähigkeitskräften. Für die von der makroskopischen Navier-Stokes Gleichung beschriebenen Schwimmer ist die Reynoldszahl ein Maß für die Turbulenz der Strömung.

$$Re = \frac{\rho v d}{\eta_0} \quad (3.2)$$

Hier ist ρ die Dichte, v die Geschwindigkeit des Partikels, d der Durchmesser des Partikels und η_0 die dynamische Viskosität des Lösungsmediums. [69] Für den in dieser Arbeit dargestellten Untersuchungen war die Dichte des Lösungsmediums $\rho = 1 \text{ g cm}^{-3}$, die mittleren Geschwindigkeit der CR-Zellen $v_{CR} = 50 \text{ } \mu\text{m s}^{-1}$. Die Zellen hatten einen Durchmesser von $10 \text{ } \mu\text{m}$ und eine dynamischen Viskosität des Lösungsmediums $\eta_0 = 1,15 \text{ mPas}$. Dies ergibt eine Reynoldszahl von $Re = 2,5 \times 10^{-4}$. Das bedeutet, dass Trägheitseffekte in diesem System vernachlässigt werden können.

Die Fortbewegung geschieht bei CR mit den bereits beschriebenen Flagellen, die bei dem hier verwendeten Stamm mit einer Frequenz von 30 Hz eine Bewegung ausführen, die der Armbewegung des Menschen beim Brustschwimmen ähnlich sieht. [40] Laut des Purcell Scallop Theorem ist es für Schwimmer mit kleiner Reynoldszahl in newtonschen Flüssigkeiten notwendig, zur Fortbewegung Prozesse zu durchlaufen, die nicht invariant unter Zeitumkehr sind. [34]

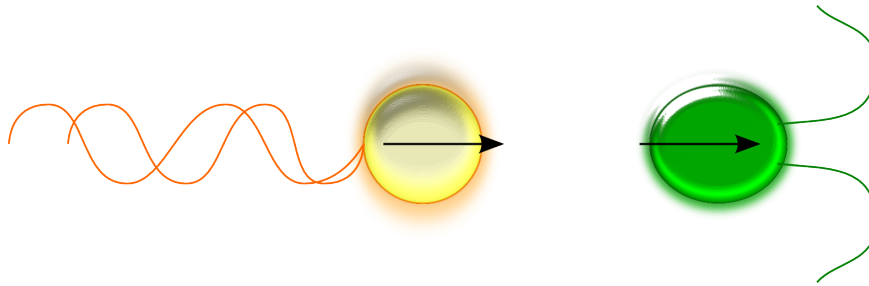


Abb. 3.4: Links: *pusher-like* Fortbewegung, wie sie z.B. von Spermien ausgeführt wird. Rechts: *puller-like* Fortbewegung, wie sie von CR ausgeübt wird. Die Pfeile zeigen die Fortbewegungsrichtung

Die Fortbewegung von Mikroschwimmern geschieht auf zwei verschiedene Arten. *pusher* bewegen sich durch Geißeln vor (z.B. Spermium, *Escherichia coli*), wobei diese einzeln (Spermium) oder als Bündel vorkommen können (*Escherichia coli*). Dieser offensichtlich gravierende Unterschied in der Art der Fortbewegung spiegelt sich auch in der makroskopisch ermittelten Viskosität der aktiven Suspensionen wieder (siehe 5.1.1). Generell lässt sich die Vorwärtsbewegung von CR in zwei Schritten beschreiben. Zuerst zieht sich die Zelle mit beiden Flagellen am umgebenden Medium nach vorne, was zu einer Translation des Zellkörpers führt. Die Flagellen kehren in die initiale Position zurück wobei sich der Zellkörper leicht zurück bewegt. Auf Grund der höheren Effizienz der Vorwärtsbewegung ergibt sich eine Zick-Zack Bewegung (siehe Abbildung 3.5) mit einer effektiven Bewegung in Richtung des *powerstroke*. [23, 68]

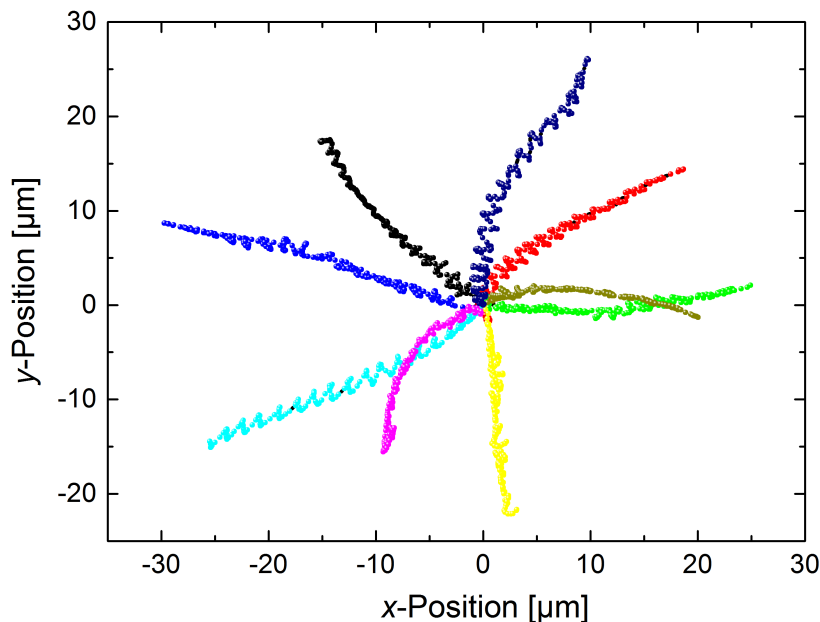


Abb. 3.5: Trajektorien von CR. Man erkennt die im Text erklärte Zick-Zack Bewegung. Particle Tracking Daten aus High Speed Kamera Aufnahmen mit 400 Hz aus Referenz [70]

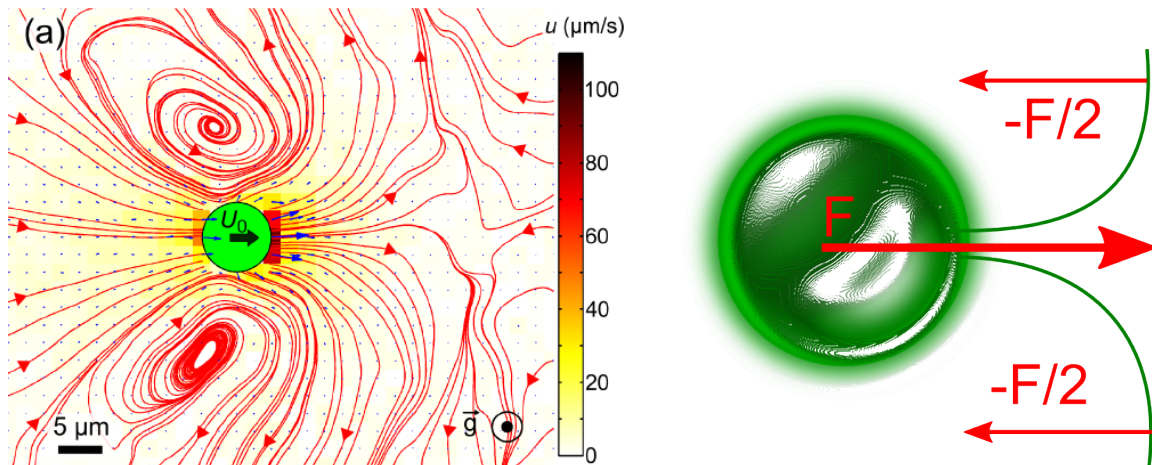


Abb. 3.6: Links: Particle Image Velocimetry³ von Tracer Partikeln um CR: in rot die Stromlinien, die aus den blauen Geschwindigkeitsvektoren berechnet wurden. Das Farbschema zeigt die Beträge der Flussgeschwindigkeit. (Abbildung aus [71]) Rechts: Schema des Kraftdipolmodells mit den Kraftvektoren im Zellkörper und entgegengesetzt in beiden Flagellen

Oft bewegen sich die beiden Flagellen nicht vollkommen symmetrisch, was zu einer Desynchronisation der Bewegungen führt. Dieses Verhalten hat Ähnlichkeit mit dem von Bakterien bekannten Richtungsänderungen, was bei diesen als *run and tumble* Verhalten bezeichnet wird. Ein nichtsynchrone Flagellenschlag führt zu einer Richtungsänderung der Zelle und ist eine Überlebensstrategie für die Nahrungssuche. Bei Bakterien ist die Ursache dafür allerdings meist Chemotaxis. [52,60] Für kleine Zeiten, typischerweise ein paar Sekunden, schwimmt CR geradeaus und zeigt dabei eine ballistische Bewegung. Durch die flagellare Desynchronisation ändert sich die Schwimmrichtung, was ein diffuses Verhalten für längere Zeiten offenbart. [70]

3.2.2 Kraftdipolmodell

Die Schwimmbewegung von CR Zellen wurde in der Referenz [71] auf mikroskopischer Einzelzellebene untersucht und zeigt nur dann ein typisches „Puller“ Schwimmverhalten, wenn man sich weiter als $7R$ (circa $35\text{--}40 \mu\text{m}$) von der Zelle entfernt. Wenn man sich nähert, zeigt das Flussfeld um die Zelle, dass sich die Kraftangriffspunkte in Flagellen und Zellkörper separieren.

Das Kraftdipolmodell zeichnet sich dadurch aus, dass drei *Stokeslets* die Zellbewegung beschreiben. Ein *Stokeslet* ist die primäre Greensfunktion des Stokesflusses womit eine punktförmige Kraft im Fluss assoziiert ist. [72] Der zentrale *Stokeslet* im Zellkörper wird durch die beiden *Stokeslets*, die an den Flagellen angreifen, ausgeglichen.

³auch PIV, Verfahren zur optischen Bestimmung von Flussfeldern in Flüssigkeiten

Nach den Referenzen [45] und [47] lässt sich ein Spannungstensor für die Schwimmbewegung definieren:

$$\Sigma = \sigma_{CR}[\langle \vec{h} \cdot \vec{h} \rangle - 1/3] \quad (3.3)$$

mit der Amplitude der von der Zelle ausgeübten Dipolkräfte σ_{CR} und dem Vektor der Zellorientierung (Achse Nukleus-Flagellenaufhängepunkt) $\vec{h}$. Der Beitrag der effektiven Scherviskosität ist

$$\eta_{eff} = \frac{\Sigma_{xy}}{\dot{\gamma}} \quad (3.4)$$

Da für *puller* nach Referenz [45] $\sigma_{CR} > 0$ gilt, erhöht sich die effektive Viskosität der Suspension durch die Kraftdipolaktivität der Schwimmer. [49] Die Erweiterung des Einsteingesetzes durch Batchelor und Green [73] für aktive Partikel führt nach nach Referenz [68] zu einer weiteren Erhöhung der Viskosität. Dieser Beitrag wurde in dieser Arbeit jedoch nicht berücksichtigt, da der Bereich der vermessenen Volumenkonzentrationen niedrig genug liegt um dies zu vernachlässigen.

3.3 Rheologie

Rheologie ist die Wissenschaft, die sich mit dem Verformungs- und Fliessverhalten von Materie beschäftigt. Viele Materialien vereinigen in sich Eigenschaften eines Festkörpers (Elastizität) und einer Flüssigkeit (Viskosität). Je nach experimentellen Bedingungen können sie sich auf kurzen Zeitskalen wie ein elastischer Festkörper verhalten, auf langen aber wie eine viskose Flüssigkeit. Eine Flüssigkeit mit linearem, unelastischem Fließverhalten bezeichnet man als newtonsche Flüssigkeit, ihre Bewegungen werden durch die Navier-Stokes Gleichung beschrieben. Ein Großteil dieser Arbeit umfasst die viskosimetrische Charakterisierung von Mikroschwimmersuspensionen in niedrigen bis mittleren Scherratenbereichen. Diese Suspensionen zeigen dabei gering ausgeprägte nichtnewtonsche Eigenschaften.

3.3.1 Theoretische Grundlagen der Rheologie

In dieser Arbeit wurde ein Rotationsrheometer zur Bestimmung der Materialeigenschaften eingesetzt, deshalb wird hier das Messprinzip theoretisch beschrieben.

Eine mögliche mechanische Beanspruchung ist die Scherung. Bei der Scherung steht die Scherkraft F mit der mechanischen Schubspannung (oder Scherspannung) τ_M und der Fläche A im Verhältnis

$$\tau_M = \frac{F}{A}. \quad (3.5)$$

Die Schubspannung hat die Dimension eines Drucks. Sie ist eine Kraft pro Fläche, wobei die Kraft entlang der Fläche wirkt. Der Tangens des Scherwinkels γ , um den die Kanten verkippt werden, wird Gleitung genannt und ist der wirkenden Kraft im Falle eines elastischen Materials proportional

$$\tan \gamma = \frac{\tau_M}{G}. \quad (3.6)$$

Die Proportionalitätskonstante G ist der Schubmodul. In der Rheologie wird die angreifende Scherkraft als Funktion der Deformation $\frac{\Delta x}{l}$ (siehe Abbildung 3.7) betrachtet.

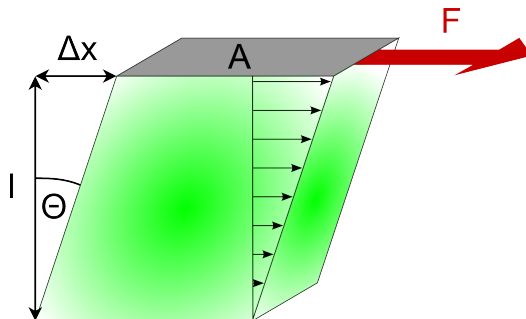


Abb. 3.7: Scherung eines Volumenelements in x -Richtung

3.3.2 Viskosität und ihre dynamischen Effekte

Die Viskosität ist ein Maß für die Zähflüssigkeit eines Fluids. Der Kehrwert der Viskosität ist die Fluidität, ein Maß für die Fließfähigkeit eines Fluids. Je größer die Viskosität, desto dickflüssiger (weniger fließfähig) ist das Fluid. Bei zähen Flüssigkeiten sind die Teilchen stärker aneinander gebunden und somit unbeweglicher; man spricht daher auch von der inneren Reibung. Den Effekt innerer Reibung kann man sich vereinfacht durch die Bewegung zweier übereinander liegender, verzahnter Molekülschichten vorstellen. Beim Fließen gleiten die Moleküle aneinander vorbei, wobei sie sich ineinander verzahnen. Um die Verzahnung zu überwinden, benötigt man eine gewisse Kraft. Die Viskosität ist definiert über die Kraft F , die man auf eine Platte der Fläche A ausüben muss, um eine parallele Platte im Abstand x zu bewegen, wenn zwischen beiden ein Fluid ist:

$$F \sim \frac{Av}{x} \Rightarrow F = \eta \cdot \frac{Av}{x} \quad (3.7)$$

Die Proportionalitätskonstante η ist in Gleichung (3.7) die dynamische Viskosität des Fluids mit $[\eta] = \text{Nsm}^{-2} = \text{Pas}$. Ist η unabhängig von der Geschwindigkeit v , so wird die Flüssigkeit als *newtonsche Flüssigkeit* bezeichnet, ansonsten nennt man sie *nichtnewtonsch*. Bei newtonschen Flüssigkeiten ist die Viskosität, der Quotient aus der Schubspannung τ und der Scherrate, stets konstant:

$$\eta = \frac{\tau_M}{\dot{\gamma}} \quad (3.8)$$

Bei Fluiden mit scherratenabhängigen Verhalten unterscheidet man verschiedene Effekte, die zum Teil anschaulich in Abbildung 3.8 gezeigt werden:

- Strukturviskosität / Dilatanz, dabei ist die Viskosität η keine Konstante, sondern ändert sich mit dem Schergefälle.
- Thixotropie / Rheopexie, hierbei zeigen sich zeitabhängige Strukturveränderungen, so dass je nach Zeitdauer seit der letzten Fließbewegung andere Viskositätswerte zu finden sind.
- Fließgrenze, es muss erst eine gewisse Mindestschubspannung vorhanden sein, um ein Fließen zu erreichen (plastisches Fließen). Diese Art Fluid wird auch als Bingham-Fluid bezeichnet.

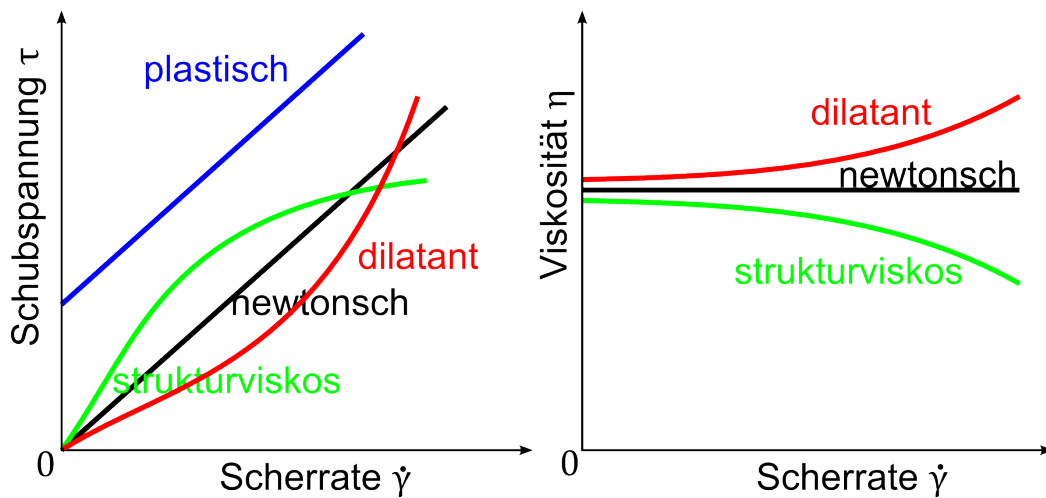


Abb. 3.8: Links: Verlauf der Schubspannung bei newtonschen und nichtnewtonschen Flüssigkeiten; Rechts: Verlauf der Viskosität bei newtonschen und nichtnewtonschen Flüssigkeiten

Im allgemeinen Fall muss das Schergefälle $\dot{\gamma}$ aus dem Scherwinkel ψ in der Flüssigkeit berechnet werden und nicht über den Geschwindigkeitsgradienten. [74] Die dynamische Viskosität von Flüssigkeiten hängt mit der Temperatur T über die *Andrade*-Gleichung zusammen [75]:

$$\eta = A \cdot e^{\frac{B}{T}} \quad (3.9)$$

A und B sind empirische Konstanten und betragen beispielsweise für Wasser:

$$A(\text{Wasser}) = 9,4 \cdot 10^{-4} \text{ Pas} \quad (3.10)$$

$$B(\text{Wasser}) = 2036,8 \text{ K} \quad (3.11)$$

3.3.3 Verhalten von kolloidalen Suspensionen

Die Beschreibung von aktiven Mikroschwimmersuspensionen wird in dieser Arbeit im Wesentlichen phänomenologisch betrachtet. Dafür werden Gleichungen genutzt, die ursprünglich für passive Kolloidsuspensionen hergeleitet wurden. Ein kolloidales System besteht aus zwei separaten Phasen, einer dispersen Phase und einer kontinuierlichen Phase, in der das Kolloid fein verteilt ist. Auf Grund einer Kolloidgröße von typischerweise 1 nm bis 1 μm wird ihr Verhalten durch die brownische Bewegung dominiert, für aktive Suspensionen ist die Eigenbewegung jedoch viel deutlicher ausgeprägt als die brownischen Anteile.

Bei passiven Suspensionen sind verschiedene mikroskopische Wechselwirkungen wichtig um das System zu beschreiben (hydrodynamische Effekte, Abstoßung harter Kugeln, elektrostatische Wechselwirkungen, Van-der-Waals Kräfte, usw.), bei aktiven Suspensionen hingegen spielen die hydrodynamische Effekte jedoch eine wesentlich größere

Rolle. Kollektives Verhalten gibt es nur bei aktiven Suspensionen. Beispielsweise können oszillierende Systeme (wie Flagellen) hydrodynamisch synchronisiert werden. [53]

Um die effektive Viskosität von einer verdünnten Suspension starrer, sphärischer Partikel zu berechnen nutzt man die Einsteinrelation

$$\eta_{eff} = \eta_0(1 + \alpha_E \phi) \quad (3.12)$$

mit der Lösungsmittelviskosität η_0 , der Volumenkonzentration ϕ und der intrinsischen Viskosität α . [14] „Verdünnt“ heißt in diesem Fall, dass Partikelinteraktionen vernachlässigt werden. Die intrinsische Viskosität ist definiert als der Beitrag der dispersen Phase zur Viskosität des Suspension.

$$\alpha = \lim_{\phi \rightarrow 0} \frac{\eta_{eff} - \eta_0}{\eta_0 \phi}. \quad (3.13)$$

Für passive, starre, sphärische Partikel ist die Vorhersage von A. Einstein für die intrinsische Viskosität $\alpha = 2,5$. Experimentelle Bestätigungen finden sich beispielsweise in Referenz [76]. Dieser Wert beinhaltet auf primitive Weise auch Informationen über die Partikelform und hat für ungleichförmige Partikel einen anderen Wert. [14, 77]

Suspensionen, die eine gegebene Verteilung von Partikelgrößen bei fixierter Volumenkonzentration haben, verhalten sich quantitativ gleich einer monodispersen Suspension. Gleichung (3.12) ist exakt in der Näherung kleiner Volumenkonzentrationen ($\phi \rightarrow 0$). [78]

Da in den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Messungen Volumenkonzentrationen bis zu $\phi = 0,2 = 20\%$ erreicht wurden, benötigt man eine Beziehung für stärker konzentrierte Suspensionen. Dies leistet das phänomenologisch hergeleitete Krieger-Dougherty Gesetz

$$\eta_{eff} = \eta_0 \left(1 - \frac{\phi}{\phi_m}\right)^{-\alpha \phi_m} \quad (3.14)$$

mit der maximalen Volumenkonzentration ϕ_m . Dieses geht von der Annahme aus, dass eine Volumenkonzentration 1 erreicht werden kann, in dem mehr und mehr Partikel suspendiert werden. Dies ist natürlich physikalisch unmöglich, da man eine obere Schranke für die Volumenkonzentration hat. Für die dichteste zufällige Kugelpackung liegt diese bei $\phi_m = 0,64$ und bei $\phi_m = 0,71$ für das dichtest mögliche Arrangement aus hexagonalen Kugelschichten. [18, 79]

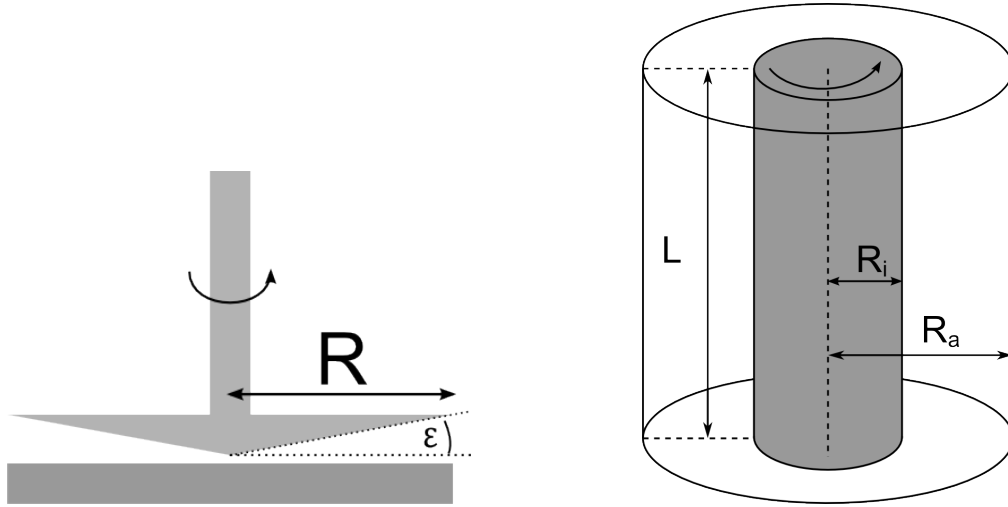


Abb. 3.9: (links) Skizze der Kegel-Platte Geometrie zur Erklärung der Parameter, R ist die Radius des Kegels und ϵ der Öffnungswinkel des Kegels. (rechts) Skizze einer Taylor-Couette Geometrie mit der Höhe L , dem Radius des Innenzylinders R_i und dem Radius des Außenzylinders R_a .

3.3.4 Beschreibung der benutzten Rheometergeometrien

Als Messgeometrien wurde die Kegel-Platte und die Taylor-Couette Geometrie genutzt. Die Kegel-Platte Geometrie besteht aus einer ebenen Bodenplatte und dem an der Motorachse befestigten Kegel mit dem Radius R und dem Öffnungswinkel α . Dieser ist als Kegelschnitt mit einer Schnittfläche senkrecht zur Hauptachse ausgelegt, um einen Abstand h zur Platte zu gewährleisten. Ein Kegel hat gegenüber einer Platte den Vorteil, dass man auf dem ganzen Radius die gleiche Scherrate einstellen kann. Die Taylor-Couette Geometrie besteht aus einem inneren Zylinder mit dem Radius R_i , der an der Motorachse befestigt ist und als Sensor dient. Er befindet sich in einem konzentrisch angebrachten Messbecher, der ebenfalls die Form eines Zylinders mit dem Radius R_a hat. Der Spalt mit dem Durchmesser $d = R_a - R_i$ wird mit dem zu vermessenden Fluid gefüllt. Der große Vorteil einer Taylor-Couette Geometrie stellt für die hier durchgeführten Messungen der Fakt dar, dass der Schergradient im Gegensatz zur Kegel-Platte Geometrie senkrecht zur Richtung der Gravitation ist. Ein kleines Problem tritt natürlich dennoch auf: Man hat bei einer Taylor-Couette nicht nur einen Beitrag der Flüssigkeit in dem Spalt zwischen den Zylindern sondern auch einen Beitrag des Platte-Platte Systems am Boden der Geometrie. Diesen kann man quantifizieren, er spielt jedoch mit einer Erhöhung der Messwerte um 1% keine entscheidende Rolle. Die folgenden Formeln sind entnommen aus Referenz [80]. Für eine Platte-Kegel Geometrie berechnet sich Schubspannung τ_M mit

$$\tau_M = \frac{3}{2\pi R^3 \epsilon} \quad (3.15)$$

mit dem Kegelwinkel ϵ und dem Kegelradius R . Die Deformation γ kann bestimmt werden aus:

$$\gamma = \frac{\psi}{\epsilon} \quad (3.16)$$

mit dem Verdrehungswinkel ψ in [rad]. Man sieht den Vorteil, dass die Deformation in der Kegel-Platte Geometrie unabhängig vom Radius ist. Für eine Umrechnung der Winkelgeschwindigkeit Ω

$$\Omega = \frac{2\pi}{60} n \quad (3.17)$$

mit der Drehzahl n zur Scherrate $\dot{\gamma}$ in s^{-1} ergibt sich:

$$\dot{\gamma} = \frac{\Omega}{\epsilon} \quad (3.18)$$

Bei dem Taylor-Couette System ergibt sich für die Schubspannung

$$\tau = \frac{1}{2\pi L R_i^2 C_L} \cdot \frac{(1 + \delta^2)^2}{2\delta^2(\delta^2 - 1)} \cdot d \quad (3.19)$$

mit

$R_i =$	Radius Innenzylinder
$R_a =$	Radius Außenzylinder
$L =$	Länge des Innenzylinders
$C_L =$	Widerstandsbeiwert (hier $C_L = 1,1$ nach DIN53019)
$\delta =$	Radienverhältnis R_a/R_i

Die Deformation γ kann für die Taylor-Couette Geometrie aus

$$\gamma = \frac{1 + \delta^2}{2\delta^2} \cdot \psi \quad (3.20)$$

bestimmt werden. Für eine Umrechnung der Winkelgeschwindigkeit Ω zur Scherrate $\dot{\gamma}$ in s^{-1} zu Drehzahl in rpm ergibt sich:

$$\dot{\gamma} = \frac{1 + \delta^2}{\delta^2 - 1} \cdot \Omega \quad (3.21)$$

3.3.5 Migration von Partikeln in der Kegel-Platte Geometrie

Das Migrationsverhalten von Kolloidsuspensionen in Kegel-Platte Geometrien wurde schon früh unter anderem von D. Highgate beschrieben. [81] Dieser hat bei Messungen mit Kolloidsuspensionen festgestellt, dass ab einer bestimmten Scherrate eine radiale Bewegung einsetzt und die Partikel sich in konzentrischen Ringen hoher Konzentration anordnen. [38] In der Referenz [81] liegt diese bei $\phi = 25\%$ nach einer ursprünglichen einheitlichen Konzentration von $\phi = 9\%$.

Diese Migrationeffekte sind als Sekundärflüsse bekannt und haben Ursache in der Trägheit der Massen. Man kann eine dimensionslose Kennzahl definieren, um diese Flüsse zu beschreiben:

$$\tilde{R} = \frac{r^2 \omega \epsilon^2}{12\nu} \quad (3.22)$$

mit dem Radius r , der Winkelgeschwindigkeit ω , dem Öffnungswinkel des Kegels ϵ und der kinematischen Viskosität ν . Der Parameter $\tilde{R}$ gibt folglich das Verhältnis zwischen zentrifugalen und viskosen Kräften auf das sich bewegende Fluid an. [38]

Abbildung 3.10 zeigt die aus der Vektorbetrachtung resultierende Stromlinie, die von dem Winkel θ bestimmten Radius in einen Ring hoher Volumenkonzentration läuft.

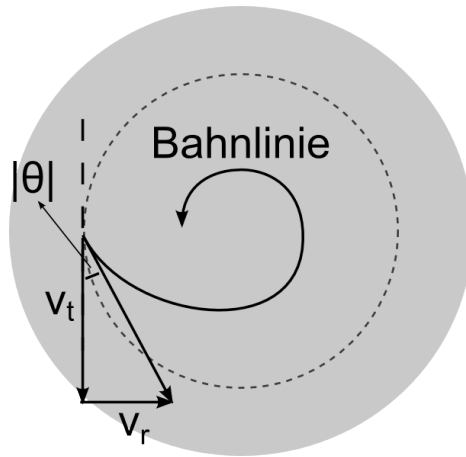


Abb. 3.10: Geschwindigkeitsvektoren und Winkel θ innerhalb der Kegel-Platte Geometrie und resultierende Bahnkurve. modifiziert aus [38]

Für kleine Öffnungswinkel $\epsilon < 0,08$ rad (5°) ist das Verhältnis von tangentialer Geschwindigkeit v_t und radialer Geschwindigkeit v_r in der Größenordnung von ϵ .

$$\frac{v_r}{v_t} \sim \epsilon \ll 1 \quad (3.23)$$

Wenn $\tilde{R}$ gegen Null geht, wird die Radialkomponente ebenfalls Null und man spricht vom Primärfluß. Dieser zeichnet sich dadurch aus, dass die Stromlinien konzentrische Kreise um die Kegelachse bilden. Wird $\tilde{R}$ größer, kann man die Zentrifugalkräfte nicht mehr vernachlässigen und es bildet sich der Sekundärfluß aus. Die Stromlinien sind nicht mehr konzentrisch sondern der lokale Geschwindigkeitsvektor des Fluids bildet einen Winkel θ mit der azimuthalen Richtung:

$$\tan \theta = \frac{v}{v_t} \quad (3.24)$$

mit der tangentialen Geschwindigkeitskomponente v_t . Dies führt zu einer Migration von Partikeln in radialer Richtung und der Ausbildung eines Ringes hoher Volumenkonzentration. Um diesen Effekt näher zu untersuchen, wurde die untere Platte der in vorherigen Messungen genutzten Geometrie durch eine Glasplatte ersetzt. Dies lässt eine Beleuchtung und Beobachtung der Messprobe zu. Die daraus erhaltenen Bildfolgen werden durch eine Auswertung in Intensitätswerte entlang des Radius der Platte umgewandelt.

3.4 Mikrorheologie

Die Mikrorheologie arbeitet Trajektorien von Teilchen im Mikrometerbereich, um die lokale Deformation einer Probe innerhalb des zu untersuchenden Mediums zu messen. Die Deformationen entstehen durch aus einer aufgebrachten Kraft (aktiv) oder aus der thermischen Energie (passiv). Mit der Mikrorheologie wurden in den letzten Jahrzehnten neue Möglichkeiten zur Charakterisierung von weichen Stoffsystemen, wie Gele, Kolloide, Polymere, Schäume und andere, verfügbar. Mikrorheologische Untersuchungen stellen die schwachen Wechselwirkungen innerhalb von Multikomponentensystemen in den Fokus. Viele komplexe Fluide sind heterogen auf einer μm -Längenskala.

Dies gilt insbesondere für biologische Systeme, wie z. B. den Proteinfilament - Netzwerken, die für die Stabilität und Mobilität eukaryotischer Zellen verantwortlich sind, aber auch für Suspensionen von Mikroschwimmern, die in dieser Arbeit untersucht werden. Particle Tracking (PT) ist eine mikrorheologische Methode, die es erlaubt mikrostrukturelle und mikro-mechanische Inhomogenitäten zu studieren, denn sie ermöglicht die direkte Erfassung der Trajektorien und mittleren Verschiebungsquadrate von Tracer-Partikeln, die der Brownschen Bewegung unterliegen. Selbst lebende Zellen können mit hoher Auflösung untersucht werden. Aber auch die makrorheologischen Eigenschaften inhomogener Fluide können untersucht werden, wenn man die Kreuz-Korrelation von weit voneinander entfernten Partikeln analysiert (sog. Zwei-Punkt-Mikrorheologie). [82] Somit bietet die Mikrorheologie eine Schnittstelle zwischen makroskopischen und mikroskopischen Eigenschaften, was speziell hier wichtig ist, da die Eigenschaften auf makroskopischer Ebene bei den Mikroschwimmern hauptsächlich von Eigenschaften der Einzelzelle oder kleinen Kollektiven von Zellen stammen. [83]

3.4.1 Aktive Mikrorheologie

Bei der aktiven Mikrorheologie wird ein Partikel mittels einer Kraft, ausgeübt durch zum Beispiel Magnetfelder oder auch optische Fallen, auf einer Position festgehalten oder durch ein Medium bewegt. Durch die Messung der Antwort des Partikels auf eine Kraft beziehungsweise einen Impuls im nN-Bereich mittels Particle Tracking werden die viskoelastischen Eigenschaften des Mediums zugänglich. [84] [85]

3.4.2 Passive Mikrorheologie

Passive Mikrorheologie ist eine Messmethode, die durch Beobachtung der brownischen Bewegung mikroskopisch kleiner Partikel auf die viskoelastischen Eigenschaften eines Mediums schließen lässt. Um mikrorheologische Untersuchungen durchführen zu können benötigt man neben der Probe selbst nur ein Mikroskop, eine Kamera und entsprechende Mikropartikel (meist Polystyrene Kugeln im μm Bereich), die zu der Probe hinzugefügt werden. Ist man am Verhalten einer Kolloid- oder Mikroschwimmersuspension interessiert, können die Partikel der Suspension selbst als *Tracer* Partikel dienen, somit ist diese Methode nicht invasiv.

Für höhere Frequenzbereiche benötigt man eine Hochgeschwindigkeitskamera, da sich diese Prozesse auf einer sehr kleinen Zeitskala abspielen. Die Bewegung brownischer Partikel kann man durch einen Random Walk (siehe Abbildung 3.12) beschreiben. Dabei handelt es sich um einen stochastischen Prozess. Dieser kann durch zufällige Zuwächse zu diskreten Zeitpunkten veranschaulicht werden. Eine mögliche Realisierung ist in Abbildung 3.12 dargestellt.

Die mittels einer Kamera aufgenommenen Einzelbilder werden durch einen Particle Tracking Algorithmus wie in Abschnitt 4.4 ausgewertet wodurch man die Trajektorien der Partikel erhält. Aus diesen lässt sich die mittlere quadratische Verschiebung⁴ berechnen und damit auch der Diffusionskoeffizient und andere Größen wie viskose und elastische Moduli. Das MSD ist ein wichtiges Charakteristikum der Trajektorien, neben weiteren Größen wie der Wahrscheinlichkeitsdichteverteilung der Partikelposition oder des Leistungsspektrums der Trajektorien.

Diffusion

Die Diffusion⁵ ist ein sehr wichtiger Prozess der die Grundlage vieler Naturphänomene ist. Es gibt zwei Wege, die mathematische Beschreibung der Diffusion herzuleiten: Über den phänomenologischen Weg mit den Fick'schen Gesetzen der Diffusion oder den physikalisch-atomistischen Weg über den Random Walk von diffundierenden Partikeln. [86]

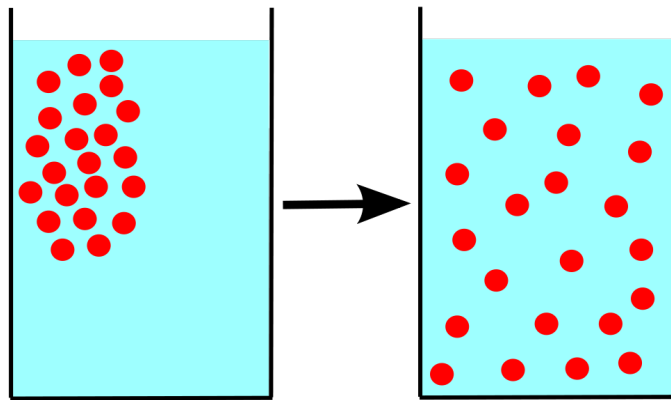


Abb. 3.11: Diffusion von Partikeln (rot) in einem Medium. Die Partikel werden in einer kleinen Menge am linken Rand (linkes Bild) eingebracht und diffundieren mit der Zeit durch das ganze Medium bis sie sich gleich im Medium verteilt haben (rechtes Bild) [59]

Das erste Fick'sche Gesetz beschreibt den Zusammenhang zwischen Teilchenstromdichte J und Konzentrationsgradient $\frac{\partial c}{\partial x}$, deren Proportionalitätskonstante der Diffusionskoeffizient ist.

$$J = -D \frac{\partial c}{\partial x} \quad (3.25)$$

⁴im Weiteren als MSD bezeichnet von **M**ean **S**quared **D**isplacement

⁵von lateinisch *diffundere* ausgießen, verstreuen

Im eindimensionalen Fall kann man mit Hilfe der Kontinuitätsgleichung

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \frac{\partial J}{\partial x} \quad (3.26)$$

das zweite Fick'sche Gesetz herleiten, dass für konstante Diffusionskoeffizienten folgendes ergibt:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x} \left(D \frac{\partial c}{\partial x} \right) = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \quad (3.27)$$

Diese Gleichung beschreibt die Beziehung zwischen zeitlichen und örtliche Konzentrationsunterschieden.

Mittlere quadratische Verschiebung

Bei einer Brownschen Bewegung wie in Abbildung 3.12 startet man die Messung bei einem Zeitpunkt $t = 0$ und nach einer gewissen Wartezeit $t = \tau$ wird der Mittelwert der Teilchenposition wieder in der Nähe des Startpunktes sein, für $t = \infty$ sogar laut des zentralen Grenzwertsatzes im Mittel auf dem Startpunkt. Je länger man wartet, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit, ein Teilchen in größerem Abstand vom Startpunkt vorzufinden.

Die Fläche, die es bei einer zweidimensionalen Bewegung überstreicht und die man in konzentrische Kreise einteilen kann, wird durch die mittlere quadratische Verschiebung $\langle r^2(\tau) \rangle$ beschrieben deren Wurzel genau der Radius dieser konzentrischen Kreise ist.

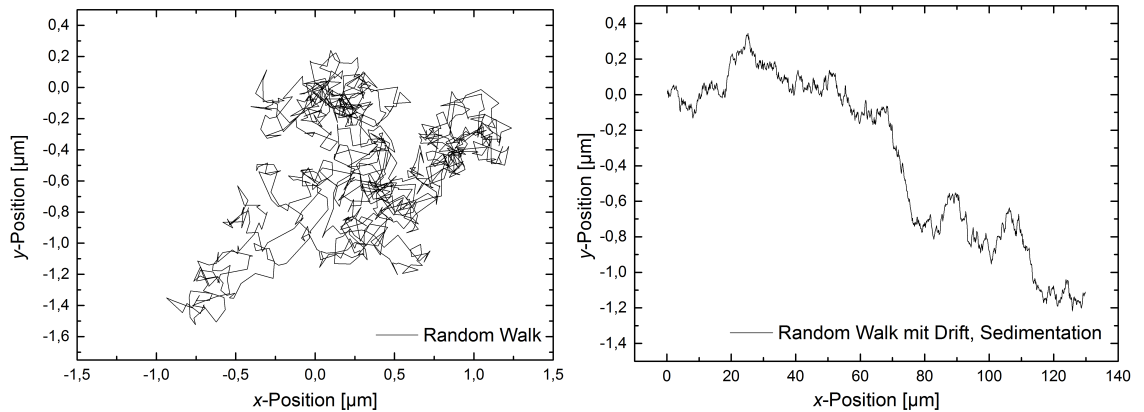


Abb. 3.12: Random Walk in 2 Dimensionen für einen Partikel ohne Drift und ohne Sedimentation (links) erzeugt mit einem *Matlab* Skript für $T=293$ K, $\eta = 1,15$ mPas, $r = 10$ μm und für einen Partikel mit einer Sedimentationsgeschwindigkeit von $v_x = 13$ μms^{-1} in x-Richtung und leichtem Drift von $v_y = -0,5$ μms^{-1} in y-Richtung (rechts)

Die mittlere quadratische Verschiebung wird über den Ensemblemittelwert vieler Trajektorien $\vec{R}_n(t)$, $n = 1 \dots N$ definiert:

$$\langle r^2(\tau) \rangle = \lim_{N \rightarrow \infty} \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N \left(\vec{R}_n(\tau) - \vec{R}_n(0) \right)^2 \quad (3.28)$$

Man mittelt über viele Teilchen, die jeweils für eine Zeitspanne τ beobachtet werden. Eine Alternative stellt die Mittlung über die Zeit einer Trajektorie $\vec{R}(t)$ dar, vor allem wenn nur wenige Trajektorien zu Analyse zur Verfügung stehen.

$$\text{MSD}(r) \equiv \langle r^2(\tau) \rangle := \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_0^T \left(\vec{R}(t + \tau) - \vec{R}(t) \right)^2 dt \quad (3.29)$$

Hier wird bei einem Teilchen ausgehend von verschiedenen Zeitpunkten t die Bewegung bis zu einem Zeitpunkt $t + \tau$ gemessen und es wird über die Verschiebungen aller möglichen Zeitspannen der Dauer τ innerhalb der Trajektorie gemittelt. [37,87] Bei dieser Methode setzt man die Ergodizität und Invarianz des Systems gegenüber zeitlichen Verschiebungen voraus.

MSD und Diffusionskoeffizient

Bei Diffusionsprozessen, die den Fick'schen Gesetzen folgen, steigt die mittlere quadratische Verschiebung der diffundierenden Teilchen mit der Zeit und es lässt sich ein einfacher Zusammenhang zum Diffusionskoeffizienten herleiten.

Für die normale Diffusion ergibt sich nach Referenz [15]

$$\langle r^2(t) \rangle = 2n \cdot D \cdot t \quad (3.30)$$

mit dem Diffusionskoeffizienten D und der Anzahl der Raumdimensionen n .

Falls ein gerichteter Fluss der Geschwindigkeit v hinzukommt, ergibt sich:

$$\langle r^2(t) \rangle_{\text{Drift}} = 2n \cdot D \cdot t + (v \cdot t)^2 \quad (3.31)$$

Eine mögliche Verallgemeinerung von Gleichung (3.30) ist

$$\langle r^2(t) \rangle_{\sigma} = 2n \cdot D_{\sigma} \cdot t^{\sigma} \quad (3.32)$$

dabei beschreibt σ die Anomalie der Bewegung. Der verallgemeinerte Diffusionskoeffizienten D_{σ} hat die Einheit $\text{m}^2\text{s}^{-\sigma}$. [88] Man spricht für $\sigma < 1$ von Subdiffusion und $\sigma > 1$ von Superdiffusion. Ein subdiffuses Verhalten tritt zum Beispiel im Zytoplasma von Hefezellen auf. [89] Ein Beispiel für Superdiffusion ist der Transport von Polymeren in Krebszellen. [90]

Ein weiterer Weg, den Diffusionskoeffizienten D experimentell zu bestimmen, ist die Stokes-Einstein Relation, die diesen für eine kleine Kugel mit der Viskosität η des Mediums verknüpft.

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta R} \quad (3.33)$$

mit der Temperatur T in Kelvin, der Boltzmann Konstante k_B und dem Radius der Kugel R .

Die Gleichung (3.33) ist gültig mit der Annahme, dass der Tracer Partikel sehr viel größer als eine entsprechende Struktur ist, die untersucht wird. Bei einer Lösung ist dies unproblematisch, bei Suspensionen vergleichbar großer Partikel versagt dieses

Gesetz jedoch. Man kann allerdings, wenn man ein aktives Fluid betrachtet und nur die Stöße der Partikel in die Beobachtung einschließt, eine effektive Temperatur berechnen, muss dafür jedoch den Diffusionskoeffizienten mit zum Beispiel der MSD Methode bestimmen. [45]

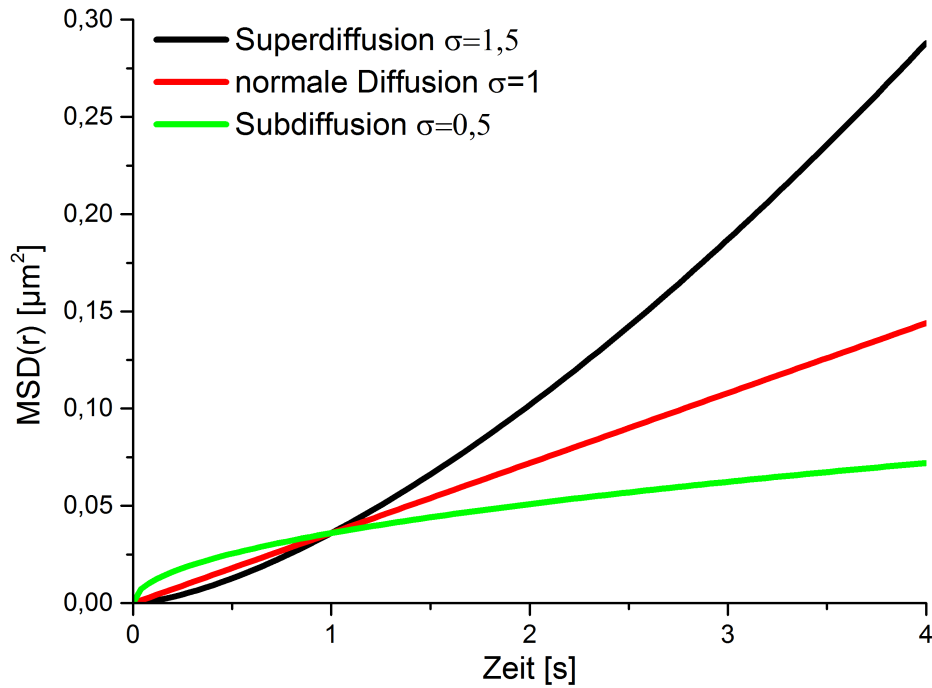


Abb. 3.13: MSD gegen die Zeit aufgetragen für verschiedene Diffusionsarten einer Kugel mit dem Diffusionskoeffizienten $D = 0,018 \mu\text{m}^2\text{s}^{-1}$, der für die Kugeln berechnet wurde, die in den mikrorheologischen Messungen genutzt werden.

3.5 Optische Pinzette

Neben den rheologischen Messungen, von denen man aus makroskopischen Eigenschaften einer großen Menge von Partikeln Schlüsse auf die mikroskopischen Eigenschaften eines einzelnen Partikels ziehen kann, wurde in dieser Arbeit auch das Instrument „Holografische Optische Pinzette“ genutzt um direkte Einzelzelluntersuchungen durchführen zu können. Im Folgenden werden die physikalischen Grundlagen dieses Instruments beschrieben.

3.5.1 Photonische Kräfte

Im Jahr 1970 veröffentlichte A. Ashkin die erste wissenschaftliche Abhandlung über Kräfte auf mikroskopische Partikel die durch Streuung von Licht verursacht werden. [91] Die Entwicklung des ersten Lasers 10 Jahre zuvor durch T. Maiman und die Weiterentwicklungen dieses Instruments bildeten die optimale Grundlage für eine passende Lichtquelle die zur Entwicklung der ersten optischen Falle genutzt wurde. [92] Diese konnte Partikel einfangen, indem im Wesentlichen ein Gleichgewicht von Gravitation und photonischer Kraft hergestellt wurde um dielektrische Partikel anzuheben. [93] Es folgten weitere Entwicklungen hin zur optischen Pinzette, die durch die Entwicklung stark fokussierender Objektive möglich wurde. [94, 95] Kurze Zeit später gelang erstmalig die Manipulation biologischer Objekte (Viren und Bakterien) mit dem neu entwickelten Instrument. [29]

Licht lässt sich in Wechselwirkung mit Materie durch den Welle-Teilchen Dualismus betrachten. Im Wellenbild wird es durch eine elektromagnetische Welle dargestellt, deren Energiefluss sich wie folgt beschreiben lässt:

$$\vec{S} = \frac{1}{\mu_0} (\vec{E} \times \vec{B}) \quad (3.34)$$

Dieses Vektorprodukt aus der elektrischen Feldstärke und der magnetischen Flussdichte geteilt durch die magnetische Permeabilität ($\mu_0 = 1,2566 \cdot 10^{-6} \text{ kgA}^{-2}\text{s}^{-2}$) nennt man bei transversalelektromagnetischen Wellen (TEM-Welle) den Poynting Vektor $\vec{S}$. Er gibt die Energieflussdichte und die Richtung des Energietransportes an. Der Betrag des Poynting Vektors entspricht der Intensität (Leistungsdichte) der Welle.

$$I = |\vec{S}| \quad (3.35)$$

Im Teilchenbild ergibt sich eine Kraft, welche bei vollständiger Reflexion und senkrechtem Auftreffen beschrieben werden kann durch

$$|\vec{F}| = \frac{dp}{dt} = \frac{1}{c} \frac{dW}{dt} = \frac{P}{c} \quad (3.36)$$

mit der Strahlungsleistung P . Hier wurde benutzt, dass der Betrag des Impuls $\vec{p}$ für eine elektromagnetische Welle gegeben ist durch

$$p = \frac{W}{c} \quad (3.37)$$

Bei einer Strahlungsleistung von 1 W ergibt sich eine Kraft von $F = 1$ nN. Man benötigt also eine Lichtquelle, die sehr intensitätsstark ist und nur eine kleine räumlich Ausdehnung hat. Der Laser⁶ bietet die gesuchten Eigenschaften um photonische Kräfte in der gewünschten Größenordnung auf mikroskopische Objekte abzubilden. Für die optische Pinzette muss man die Streukräfte der Photonen in Strahlrichtung den zu manipulierenden Partikel und die Gradientenkräfte, die durch Inhomogenitäten des elektromagnetischen Feldes wirken, betrachten.

3.5.2 Modell der Kräfte in optischen Pinzetten

Da die in dieser Arbeit mit optischen Pinzetten untersuchten Partikel viel größer sind als die Laserwellenlänge⁷, kann das Strahlenmodell genutzt werden um die Wechselwirkung zwischen Laserstrahl und Partikel zu modellieren. [95] Das Snellius'sche Brechungsgesetz besagt, dass ein Lichtstrahl beim Übergang von einem Medium mit Brechungsindex n_m in ein Medium mit Brechungsindex n_p eine Richtungsänderung erfährt die durch eine Winkelbeziehung zwischen dem Strahl und dem Einfallslot an der Grenzfläche gegeben ist:

$$n_p \sin \alpha_p = n_m \sin \alpha_m \quad (3.38)$$

Wenn man dieses Gesetz auf die Lichtstrahlen eines fokussierten Laserstrahls bei Durchgang durch ein mikroskopisches Objekt anwendet, für das $n_p > n_m$ gilt, erkennt man, dass die Änderung der Richtung des Impulses des Lichts einen Impuls auf das Objekt selbst gemäß den Gesetzen der Impulserhaltung ausübt wie in Abbildung 3.14 dargestellt. Gemäß dem 2. Newtonschen Gesetz versucht der Partikel dem Impuls entgegen zu wirken was zu einer rücktreibenden Kraft in Richtung des Intensitätsmaximums führt.

Wenn der Brechungsindex des Partikels geringer ist als der des Mediums in dem er suspendiert ist, dann wirkt die Kraft nicht mehr in Richtung des Intensitätsgradienten und der Partikel kann nicht gefangen werden. Die Photonen aus den Rändern des Gaussprofils tragen am stärksten zu der Gradientenkraft bei da der Winkel, in dem sie auf die Partikeloberfläche treffen, größer ist als bei denjenigen im Zentrum, die in einem Winkel von 0° auf den Partikel treffen und deshalb nur zur unerwünschten Streukraft beitragen. Es gibt mehrere Ansätze um die Streukraft zu reduzieren und die Gradientenkraft zu erhöhen. Neben dem eher einfachen Überfüllen, bei dem wegen

⁶engl. **L**ight **A**mplification by **S**timulated **E**mission of **R**adiation (Lichtverstärkung durch stimulierte Emission von Strahlung)

⁷Partikelgröße $5\text{-}10\text{ }\mu\text{m} > \lambda_{\text{laser}} = 1,064\text{ }\mu\text{m}$

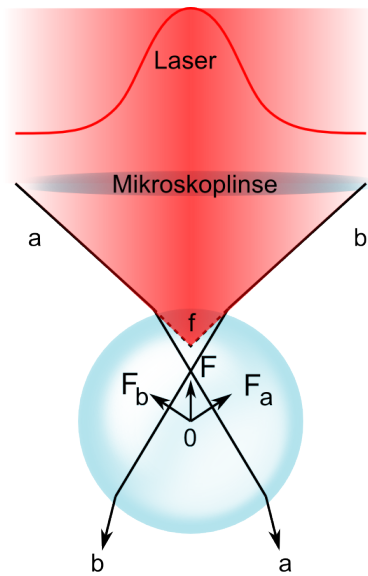


Abb. 3.14: Beispielhafter Strahlengang für zwei Lichtstrahlen (a) und (b) aus einem gaußschen Strahlenbündel. Die Strahlen werden durch ein Objektiv fokussiert und dringen durch eine Lösung mit dem Brechungsindex $n_m < n_p$ in einen Partikel mit dem Brechungsindex n_p ein. Die Impulsänderung der Photonen wird durch eine Impulsänderung des Partikels in Richtung des Brennpunktes kompensiert. Dadurch wird der Partikel „eingefangen“

Verlusten eine höhere Laserleistung benötigt wird, kann man das Intensitätsprofil zu einer „Doughnut“ Form modifizieren. [96]

Für einen wie in 3.15 abgebildeten, beispielhaften Strahlengang mit den Fresnel Koeffizienten $\mathcal{R}$, für Reflexion und $\mathcal{T}$, für Transmission, ergibt sich eine Gradientenkraft [97]

$$F_G = \frac{nP}{c} \left[\mathcal{R} \sin(2\theta) - \frac{T^2 \sin(2\theta - 2r) + \mathcal{R} \sin(2\theta)}{1 + \mathcal{R}^2 + 2\mathcal{R} \cos(2r)} \right] \quad (3.39)$$

und eine Streukraft

$$F_S = \frac{nP}{c} \left[1 + \mathcal{R} \cos(2\theta) - \frac{\mathcal{T}^2 \cos(2\theta - 2r) + \mathcal{R} \cos(2\theta)}{1 + \mathcal{R}^2 + 2\mathcal{R} \cos(2r)} \right] \quad (3.40)$$

mit dem Brechungsindex n des Partikels, der Laserleistung P , dem Einfallswinkel θ und dem Brechungswinkel r . Der Term in den eckigen Klammern wird als Qualitätsfaktor bezeichnet. [97]

Aus Referenz [97] ergibt sich ein Maximum in Q und damit auch der Gradientenkraft bei einem Einfallswinkel von 70° . Man benötigt für eine gute optische Falle folglich ein Objektiv mit hoher numerischer Apertur.

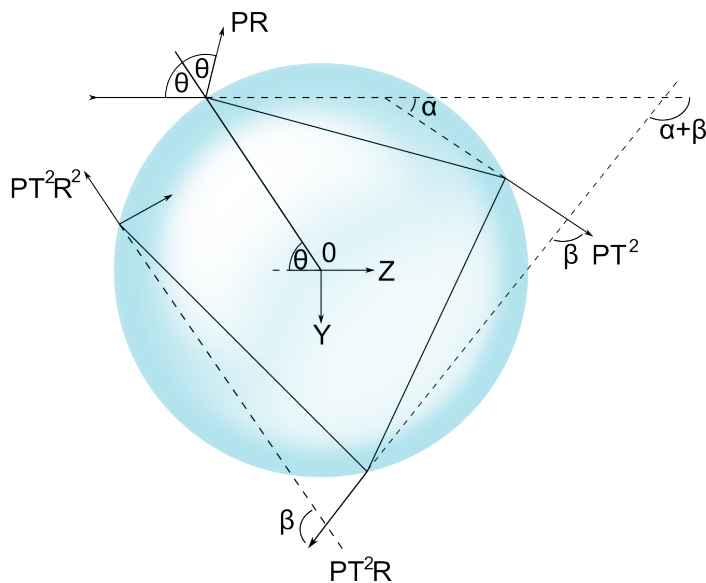


Abb. 3.15: Beispielhafter Strahlengang mit multiplen Reflexionen die verschiedene Reflektions- und Transmissionskoeffizienten ergeben

3.5.3 Holografische optische Pinzetten

Für unsere Anwendungen musste die optische Pinzette neben der Fixierung auch die Möglichkeit bieten, einen Partikel zu manipulieren, d.h. ihn zu bewegen oder auch optimalerweise mehrere Partikel zu manipulieren. Die in dieser Arbeit genutzte Apparatur nutzt einen SLM⁸ um diese Eigenschaften zu verwirklichen. Mit einer durch einen SLM realisierten holografischen optischen Pinzette ergibt sich durch Echtzeitanpassung und einer nanometergenauen räumlichen Auflösung ein mächtiges Werkzeug zur Manipulation mikroskopischer Partikel. Die Funktionsweise eines SLM ist eng verwandt mit der Holografie, welche kurz dargestellt werden soll.

Holografie

Unter Holografie versteht man ein Verfahren welche auf dem Wellencharakter des Lichts basiert. Bei einer holografischen Aufnahme wird ein Objekt mit kohärentem Licht beleuchtet, wobei durch Streuung und Reflexion ein Wellenfeld entsteht. Diese Objektwelle überlagert sich der Referenzwelle (dem ungestreuten Licht) wobei beide interferieren. Das entstehende Interferenzmuster wird auf eine Fotoplatte abgebildet und man erhält eine Aufzeichnung der relativen Phase.

Das Abbild des Objekts lässt sich rekonstruieren, indem man die Fotoplatte mit der Referenzwelle mit Licht der selben Wellenlänge beleuchtet. Durch Beugung des Lichtes am Interferenzmuster auf der Fotoplatte entsteht die exakte Wellenfront der ursprünglichen Objektwelle und man kann das Objekt wie durch ein Fenster betrachten.

⁸Spatial Light Modulator

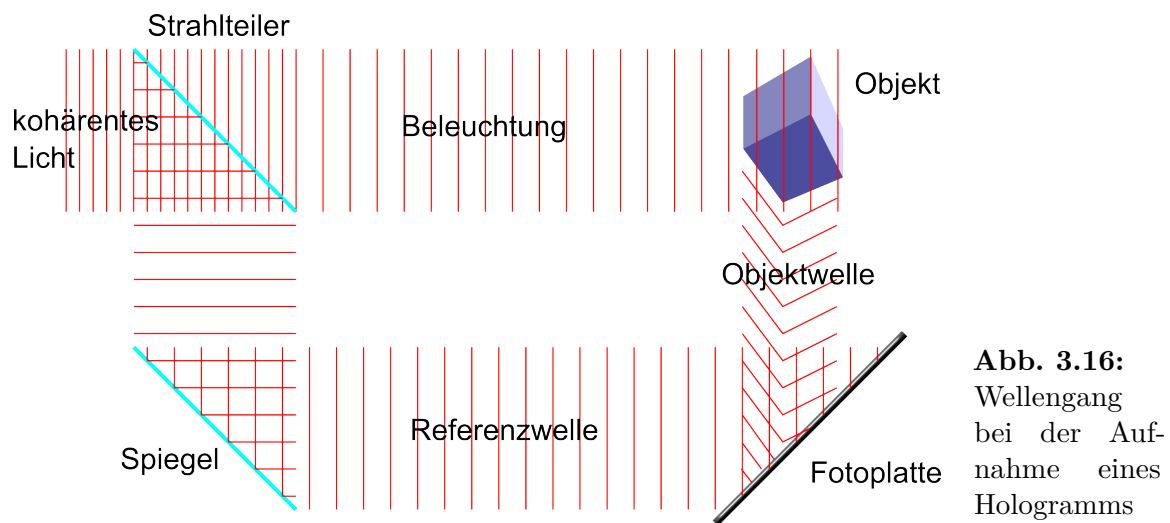


Abb. 3.16: Wellengang bei der Aufnahme eines Hologramms

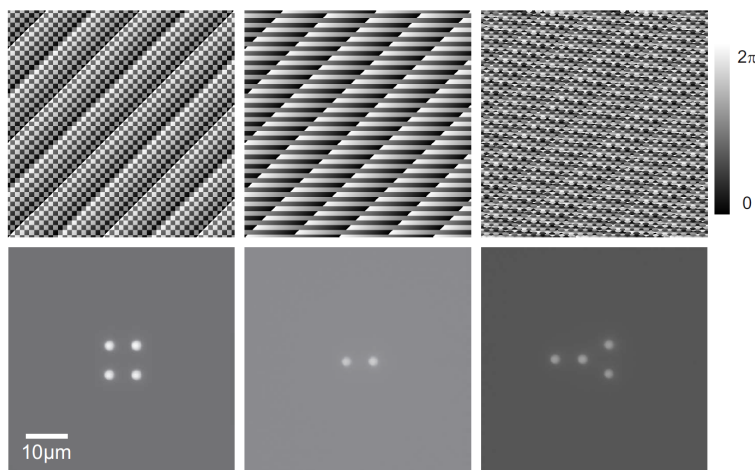


Abb. 3.17: Beispiele für Interferenzmuster (oben) und zugehörigen Fallenkonfigurationen (unten) (Abbildung aus [98])

Phasenmodulation

Bei der in dieser Arbeit verwendeten holografischen optischen Pinzette wird nur die Phase des Laserstrahls für die optische Falle moduliert. Durch die Verwendung des Phasenmodulators kann der Fokuspunkt des Laserstrahls frei im Raum variiert werden, weiterhin können auch mehrere Fokuspunkte generiert werden, was die Möglichkeit der Erzeugung mehrerer optischer Fallen aus einem kohärenten Laserstrahl bietet. Ein aus einem Flüssigkristallschirm bestehender Phasenmodulator übernimmt die Funktion der Fotoplatte. Die Flüssigkristalle können über die angelegte Spannung kontrolliert werden. Man erzeugt somit direkt die gewünschten Interferenzmuster auf dem Phasenmodulator. Die Abbildung 3.17 zeigt Beispiele für Interferenzmuster, die mit dem Phasenmodulator erzeugt werden können. Da dieser in Echtzeit über einen angeschlossenen PC kontrolliert werden kann, kann man mit einem solchen Setup somit in der Fokusebene zahlreiche, frei wählbare Potentiallandschaften generieren.

4

Experimentelle Techniken

Es existiert eine Vielzahl an Techniken, die in der Zellmechanik genutzt werden, was auch den verschiedenen Herangehensweisen geschuldet ist. Da die Zelle ein äußerst komplexes Lebewesen ist, kann man zwei grundlegende Herangehensweisen für den Erkenntnisgewinn unterscheiden. Zum einen gibt es den *Bottom-Up Approach*, bei dem ein großes System durch viele kleinere immer komplexer werdende Untersysteme beschrieben wird, um schließlich das große System als Ganzes zu verstehen. Viele Gebiete der Molekularbiologie arbeiten mit diesem Ansatz, wobei man beispielsweise Einzelmolekülexperimente, Einzelzellexperimente und ähnliches nennen kann. [99–102] Zum anderen wird der *Top-Down-Approach* genutzt, speziell ist dieser Ansatz geeignet um Erkenntnisse auf dem Gebiet der Mechanik von Zellen zu erhalten. Dabei wird ein Gesamtsystem untersucht und dessen Eigenschaften bestimmt. Danach betrachtet man eine sukzessive Verfeinerung des Systems und dessen Parameter. Die Rheologie ist ein aus der Materialwissenschaft bekanntes Verfahren, das dabei hilft, die Materialeigenschaften der Zelle beziehungsweise eines Zellverbunds zu bestimmen. Aus diesen kann man nun mit Kenntnis der Wirkung biochemischer Agenzien eine Manipulation des Systems durchführen, was eine Änderung der Eigenschaften nach sich zieht.

Eine weitere experimentelle Technik stellt die Zugabe mikroskopischer Partikel zu den Zellen selbst oder Suspensionen von Zellen und deren Beobachtung dar. Beim sogenannten *Particle Tracking* werden diese Partikel beobachtet und deren Trajektorien geben Aufschluss über das Fließverhalten der Flüssigkeit. Da in dieser Arbeit mit Zellsuspensionen gearbeitet wurde, nutzt man den *Top-Down-Approach*, um die betrachteten Systeme zu beschreiben. [103]

Als Messtechniken werden ein klassisches Rotationsrheometer, ein eigens konstruierter Mikrorheologieaufbau und eine holografische optische Pinzette genutzt. Dies wird in diesem Kapitel näher erläutert.

4.1 Klassische Rheometer als Messsysteme für biologische Suspensionen

Ein Rheometer für Messungen, wie in dieser Arbeit, zu nutzen bringt gewisse Herausforderungen mit sich. Da vor allem bei kleinen Scherraten ($\dot{\gamma} < 10 \text{ s}^{-1}$) und mit wässrigen Suspensionen gearbeitet wurde, war das Auflösungsvermögen des genutzten Rheometers ein begrenzender Faktor. Im diesem Abschnitt werden neben den Eigenschaften des Rheometers und der genutzten Geometrien diese messtechnischen Herausforderungen diskutiert.

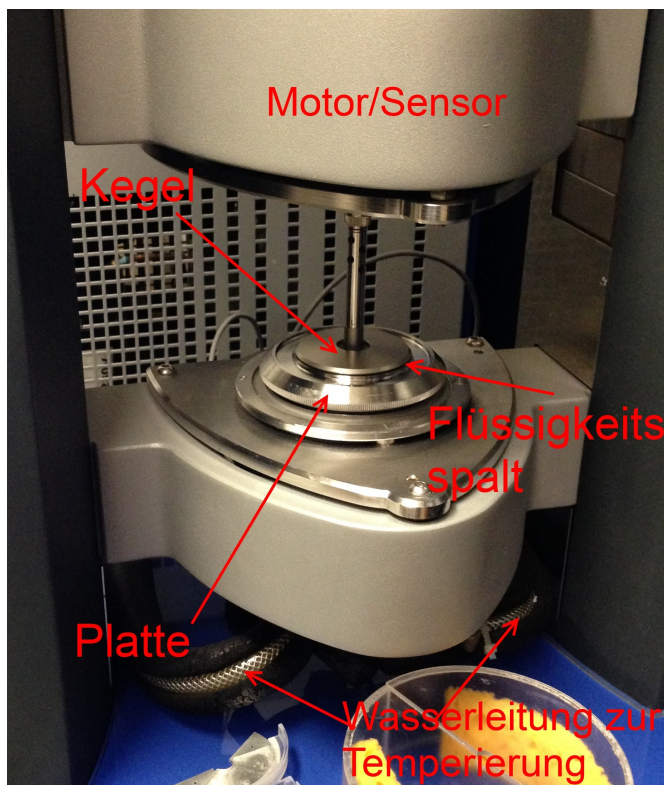


Abb. 4.1: Bild eines *Haake Mars 2* Rheometers. Zu sehen ist hier die Kegel-Platte Messgeometrie während einer Messung. Im Hintergrund erkennt man den Kältethermostaten *Phoenix C40P*

4.1.1 Rheometercharakteristika

Die Messungen zur Charakterisierung der aktiven Fluide wurden mit klassischen Rheometern durchgeführt. Der Großteil der Messung fand mit einem Rheometer des Modells *Haake Mars 2*, andere Messungen mit einem *Janus* statt (beide *Thermo Fisher Scientific*).

Es handelt sich um Rotationsrheometer, die spannungs- und deformationsgesteuerte Messungen erlauben, wobei das *Janus* auch eine Mess-/Antriebseinrichtung auf der Unterseite besitzt und somit bei einem Taylor-Couette System die Messung des durch das Fluid übertragene und auf dem Außenzylinder messbare Drehmoment zulässt. Es gibt eine Vielzahl an möglichen Messgeometrien, zum Beispiel Platte-Platte, Ring-Platte, Kegel-Platte und Taylor-Couette.

Auf Grund der hohen Empfindlichkeit des Messsystems und der niedrigen mechanischen Spannungen muss ein äußerer Einfluss durch Gebäudevibrationen oder Sonstiges durch einen gedämpften Tisch kompensiert werden. Ein weiterer Einfluss stellen die Vibrationen des auf dem gleichen Tisch installierten Kältethermostaten vom Typ *Phoenix C40P* dar, da dieser mit einem Kompressor mit einer Kühlleistung von 700 W bei $T = 20^\circ\text{C}$ betrieben wird. Dieser Thermostat wird genutzt um die Messgeometrie des Rheometers während der Messungen zu temperieren. Dies geschieht mit einer Temperaturvarianz von höchstens $\delta T = 0,01^\circ\text{C}$. Im Rheometer selbst wird die Temperatur mit einem Sensor des Typs *PT100* ermittelt, der auf Grund seiner Platzierung in der äußeren Messgeometrie ebenfalls Raum für einen zwar kleinen, dennoch vorhandenen systematischen Fehler lässt.

Der für die in dieser Arbeit durchgeführten Messungen genutzte Kegel hat einen Durchmesser von $d = 60$ mm bei einem Öffnungswinkel von $\epsilon = 2^\circ$. Als Bodenplatte kommt eine Metallplatte zum Einsatz. Die Füllmenge liegt hier bei 1 ml. Das Taylor-Couette System hat eine Höhe von $L = 80$ mm bei einem Innendurchmesser des Außenzylinders von $R_a = 22$ mm und dem des Innenzylinders von $R_i = 20$ mm. Damit ergibt sich ein Spalt von 1 mm und eine Füllmenge von 5 ml. Das *Haake Mars II* Rheometer hat laut Herstellerangabe eine Winkelauflösung von maximal 10^{-9} rad. [80] Experimentelle Fehlerquellen werden in der folgenden Aufzählung erläutert:

- Sedimentation
Die Zellen und Polystyrenekugeln unterliegen der Schwerkraft und sedimentieren während einer Messung. Referenz [104] gibt eine Sedimentationsgeschwindigkeit von $1,3 \mu\text{ms}^{-1}$ für gravitaktische CR an. Für lebende CR ist die Sedimentation wegen der Schwimmgeschwindigkeit von $v_{CR} = 50 \mu\text{ms}^{-1}$ vernachlässigbar. Für fixierte Zellen jedoch wird die Sedimentation bei sehr kleinen Scherraten (wegen der Verwirbelung) und einer langen Messdauer zu einer ernstzunehmenden Fehlerquelle. Bei einer typischen Messdauer von 30 min wäre eine Zelle im Mittel um 2 mm sedimentiert was der doppelten Höhe des Kegelvolumens entspricht. Da der Taylor-Couette Zylinder eine Höhe von 80 mm hat, kann die Sedimentation dort vernachlässigt werden.
- Mechanische Beeinträchtigungen
Die Zylinderexzentrizität auf Grund der Fertigungstoleranz sowohl der Geometrie als auch des Motorlagers hat einen Einfluss auf die Messergebnisse, kann im Mittel vernachlässigt werden. Auch ist die Exzentrizität verglichen mit dem Spaltabstand nicht groß genug, dass das Material entscheidend komprimiert wird und sich so seine Eigenschaften ändern.
- Gebäudeeinflüsse
Die Lagerung des Rheometers erfolgt auf einem nicht gedämpften Tisch mit einer schweren Platte im 3.OG des Gebäudes, man ist bei größeren Schwankungen auf Grund von Bauarbeiten nicht immer sicher vor Beeinflussungen. Außerdem befindet sich der Kältethermostat auf demselben Tisch und kann die Messung durch Vibrationen beeinflussen.

4.1.2 Präparation der Messungen in Rheometer und mikrorheologischem Aufbau

Für die Kalibrierungsmessungen wurden Mikrosphären mit 10 μm Durchmesser von *Dynoseeds* genutzt. Für die Präparation von gewünschten Volumenkonzentrationen von CR für die Messungen im Rheometer werden Drei-Tages Flüssigkulturen benutzt, wie in Abschnitt 8.1.2 beschrieben. Für große Kulturen von 1 l Stocksuspension mit einer Volumenkonzentration von 0,1% wurden mehrere Zentrifugationsschritte benötigt. Diese werden jeweils mit 200g zentrifugiert bis man eine Suspension mit $\phi = 20 - 40\%$ CR gewonnen hat, von der aus man die gewünschten Konzentrationen in den benötigten Mengen herstellt.

Für die Messungen von fixierten Zellen tötet man diese vor dem letzten Präparationsschritt in der hochkonzentrierten Suspension mit Formaldehyd ab. Formaldehyd wird in 4 – 8% Konzentration auch als Formalin bezeichnet und dient als Fixierungsmittel in der Histologie. Es ist ein proteinvernetzendes, additives Fixans, stoppt die Autolyse und macht Gewebe und Zellen dauerhaft haltbar. Die Eindringgeschwindigkeit liegt bei ca 1 mmh^{-1} , wobei allerdings die Vernetzungsgeschwindigkeit viel langsamer ist als die primäre Anlagerung. Dies kann zu Problemen führen, da die Anbindung durch Auswaschung mit Wasser rückgängig gemacht werden kann. [105] Nach 20 Minuten Einwirkzeit werden die fixierten Zellen, wie zuvor bei den lebenden Zellen beschrieben, für die Messung in gewünschten Konzentrationen präpariert.

4.1.3 Messdatenerfassung

Die Messdaten wurden mit der dem Rheometer zugehörigen Software *Rheowin* aufgenommen. Diese bietet die Möglichkeit, die Geometrien und Messvorgänge einzustellen. Ein einfaches Visualisierungs- und Analysetool ist ebenfalls enthalten. Da dies eine proprietäre Software ist, ergibt sich natürlich das Problem der Unkenntnis der genutzten Algorithmen und Mittlungen.

Auf Grund der in Abschnitt 4.1.1 diskutierten Auflösungsprobleme wurde in Zusammenarbeit mit *Thermo Fisher Scientific* ein modifiziertes Messprotokoll erstellt um bei der Durchführung der viskosimetrischen Messungen stets über mindestens eine volle Umdrehung der Messgeometrie integrieren zu können. Die Messdaten werden in einem proprietären Format gespeichert und über eine ASCII Export Funktion in das Programm *OriginPro* (*OriginLab Corporation*) exportiert um dort weiter ausgewertet zu werden.

Das Messprotokoll wurde auf kleine Scherraten angepasst. Eine Messung dauert 40 Minuten für die Kegel-Platte Geometrie und 30 Minuten für die Taylor-Couette Geometrie. Trotz dieser, für aktive biologische Systeme, relativ langen Messdauer kann man auf Grund von mikroskopischen Tests und Erfahrungen anderer Gruppen davon ausgehen, dass sich der Zustand der biologischen Probe und deren Eigenschaften während der Messung nicht entscheidend ändert.

Das Messprotokoll selbst besteht aus folgenden Schritten:

1. 110 s bei einer Scherrate von 5 s^{-1}
Zuerst wird die Viskosität bei der gewünschten Scherrate gemessen. Die Dauer der Messung ist so gewählt, dass gerade drei volle Umdrehungen durchgeführt werden
2. 60 s Pause ohne Scherung
Diese Zeit sollte nicht zu lange gewählt werden, da die Zellen sonst sedimentieren
3. Scherratentreppe mit Einzelschritten von $2 \text{ s}^{-1} - 20 \text{ s}^{-1}$, wobei jeweils eine halbe Umdrehung zum Equilibrieren genutzt wird und anschließend über eine vollständige Umdrehung als Integrationszeit gemittelt wird um die Viskositätswerte zu erhalten.
In diesem Schritt soll das Verhalten für niedriger Scherraten untersucht werden.
4. 60 s Pause ohne Scherung
5. Scherratentreppe mit Einzelschritten von $20 \text{ s}^{-1} - 100 \text{ s}^{-1}$, wobei jeweils eine halbe Umdrehung zum Equilibrieren genutzt wird und anschließend über eine vollständige Umdrehung als Integrationszeit gemittelt wird.
Im letzten Messschritt soll das Verhalten für hohe Scherraten, im Besonderen die Scherverdünnung, untersucht werden.

Ein erster Test, ob die biologische Probe sich verändert, ist im Messprotokoll enthalten, da man die Werte des ersten Schritts mit dem Wert für den 5 s^{-1} Schritt der Scherratentreppe vergleichen kann.

Auf Grund der großen Mengen an CR, die für solche Messungen benötigt werden, erfordert eine komplette Messreihe mehrere Messtage. Bei der Taylor-Couette Geometrie wird eine wesentlich größere Füllmenge benötigt als bei der Kegel-Platte Geometrie weshalb man aus Kulturgründen mehr Zeit für eine Messreihe benötigt. Die Datenpunkte wurden über einem Zeitraum von sechs bis acht Wochen aufgenommen, anschließend wurde die Messung wiederholt, um die Ergebnisse zu verifizieren. Die Messung wurde nach dem in Abschnitt 4.1.3 beschriebenen Protokoll durchgeführt.

4.1.4 Visualisierung von CR Suspensionen im Rheometer

Für die Kegel-Platte Geometrie wurde in der Literatur von Sekundärflüssen berichtet, die auch bei den in dieser Arbeit durchgeführten Messungen Einfluss auf die Messwerte haben können. [38, 106] Darüber hinaus ergibt sich ein interessanter Zugang zu den Unterschieden zwischen lebenden und fixierten Zellen in Suspension. Die Visualisierungsmessungen wurden in einem angepassten *Janus* Rheometer durchgeführt. Dabei wurde die Metallbodenplatte durch eine Quarzglasplatte (*QCS Quarzglas*) ersetzt und über einen Käfig, in dem sich ein Umlenkspiegel befindet, nach oben verlagert. Dadurch kann man mit einer Kamera Aufnahmen der Flüssigkeit machen, welche durch eine fiberoptische Lampe beleuchtet wurde, wie in Abbildung 4.2 beschrieben.

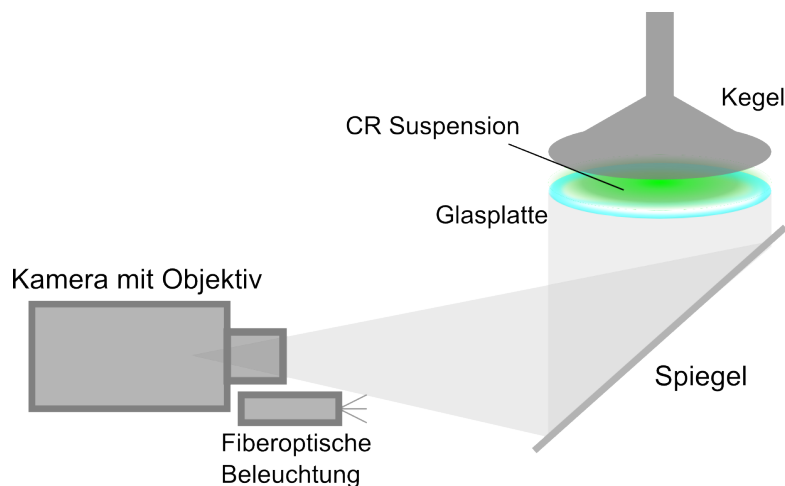


Abb. 4.2: Aufbau der Visualisierungsmessung in einem *Janus* Rheometer mit Kegel-Platte Geometrie

4.2 Mikrorheologische Methoden

4.2.1 Aufbau

Für die mikrorheologischen Messungen wurde ein Aufbau verwendet, dessen Kernelement ein aus Polydimethylsiloxan (PDMS) gefertigter Messkanal ist. PDMS ist farblos, durchsichtig und gilt als ungiftig und chemisch inert. Es wird zur Fertigung mikrofluidischer Kanäle mittels Maskenverfahren genutzt, da es die Masken bis auf Nanometerskala genau ausfüllen kann und leicht zu verarbeiten ist. [107] Für die Herstellung wurde zunächst der Kanal mit einem CAD Programm entworfen. Aus einem Aluminiumblock wurde gemäß der Konstruktionszeichnung ein Negativ ausgefräst. Für kleinere Strukturen benötigt man fotolithografische Verfahren, für die Anforderungen der in dieser Arbeit genutzten Mikrofluidiken ist dies nicht notwendig.

Die nächsten Schritte müssen in der staubfreien Umgebung einer Laminar Flowbox durchgeführt werden. Dort wird dann das PDMS mit einem Härter im richtigen Verhältnis gemischt, wobei die entstehenden Blasen in einer Vakuumblocke durch den Unterdruck aus der Lösung gesaugt werden. Anschließend wird die Lösung langsam, da keine Blasen entstehen dürfen, in die Negativform gegossen um diese anschließend eine Stunde bei 65°C in einen Ofen zu verbringen um auszuhärten.

Danach kann man den benötigten PDMS Abschnitt mittels eines Skalpells entnehmen. Zur Anbringung der Einlässe und des Auslasses werden jetzt Löcher in die Kanalenden gestochen. Der Kanal muss mittels einer Glasscheibe abgeschlossen werden, wofür normalerweise Deckgläser oder Objektträger, je nach Arbeitsabstand und benötigter Stabilität genutzt werden. Hier wurde ein herkömmliches Deckglas benutzt, dass zunächst mit Alkohol gereinigt wurde. Um das PDMS an das Glas zu binden, nutzt man einen Plasmareiniger, der die Hydrophobie des Glases erniedrigt. Im letzten

Schritt wird das PDMS Werkstück auf das Glas aufgebracht und eine weitere Stunde bei 50°C im Ofen temperiert.

Die hier genutzte Maße von 2 mm $\times$ 0,5 mm wurden gewählt, um eine Kanalgeometrie zu gewährleisten, die ein bis zwei Größenordnungen über dem Durchmesser der genutzten Kugeln liegt. Die Höhe sollte aus praktisch-experimentellen Gründen nicht zu groß sein, da man sonst die Kugeln zu oft suchen muss und sich die Messzeit stark erhöht. Dieser Umstand würde wegen des großen Speicherbedarfs der Messdaten und der begrenzten Speicherkapazität die Messzeit zu stark verringern. Die Breite ist größer gewählt, da auf dem Kamerasensor alle aufgenommenen Kugeln auswertbar sein sollen, ohne dass am Rand die Effekte der Wände zu großen Einfluss haben können.

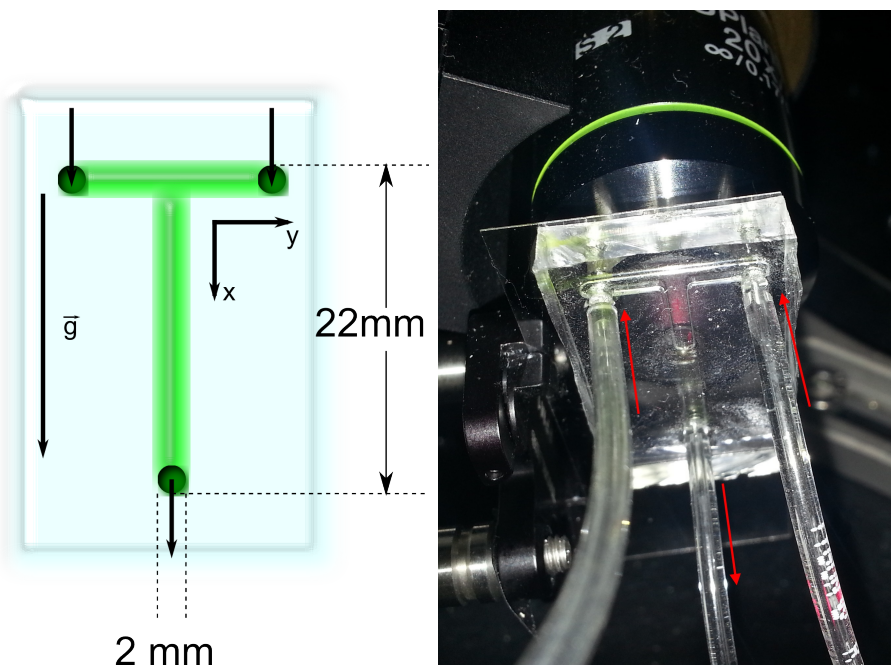


Abb. 4.3: links: Aufbau des T-Kanals mit einer Breite von 2 mm und einer Höhe von 0,5 mm rechts: T förmiger Kanal im Messaufbau. Die Pfeile geben die Flussrichtung der Suspension beim Befüllen (oben) und beim Entleeren (unten) an.

Der Messaufbau beinhaltet zur Bilderfassung eine Kamera des Typs *GX3300* von *Allied Vision Technologies* mit einem CCD Chip der Auflösung 3296 x 2472, einer Pixelgröße von 5,5 μm und einer maximalen Bilddrate von 17 Bildern pro Sekunde welche als unkomprimierter Datenstrom ausgegeben werden.

Die Kamera ist über zwei Gigabit Ethernet Ports an eine Server Netzwerkkarte angebunden und muss aufgrund eines nur sehr kleinen Zwischenspeichers von nur 8 Bildern schnell Daten ablegen können. Man benötigt ein Speichermedium mit einer Schreibrate von mindestens 150 MB/s, was beim aktuellen Stand der Technik nur eine Solid State Disk (SSD) zuverlässig bieten kann. Auf Grund der großen benötigten Speicherbandbreite muss trotz allem die Bildgröße von der maximal möglichen Auflösung um ungefähr 10% in der Bildbreite verringert werden.

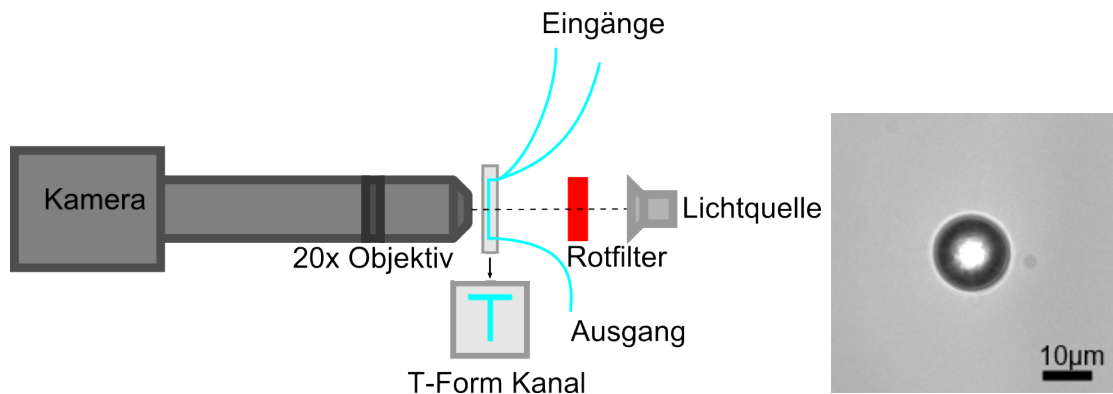


Abb. 4.4: Messaufbau für die mikrorheologischen Messungen bestehend aus einer Kamera, einem 20x Mikroskop Objektiv, dem T-Kanals und einer roten Lichtquelle (links nach rechts). Die rechte Abbildung zeigt eine Aufnahme einer Mikrosphäre mit 20 μm Durchmesser in TAP Medium

Es wurde ein für diese Kamera modifiziertes Beispielprogramm aus dem Software Development Kit zur Aufnahme genutzt. Der große CCD Chip stellt sicher, dass man möglichst Trajektorien mit großen räumlicher Ausdehnung aufnehmen kann. Dies ermöglicht eine gute Statistik für das Particle Tracking und die folgende Berechnung der mittleren quadratischen Verschiebung der beobachteten Kugeln.

An der Kamera ist über eine Röhre ein unendlich korrigiertes Objektiv des Typs *UplanFL N (Olympus)* mit 20-facher Vergrößerung angebracht. Davor wird mit einem Zwei-Klammer Halter der T-förmige Messkanal mit den zur Befüllung und Entleerung befestigten Schläuche und Schlauchklammern angebracht. Von der Rückseite aus wird dieser mit einer Faseroptik beleuchtet. Der rote Frequenzanteil des Lichtes wurde durch einen Rotfilter eliminiert, dies verhindert Phototaxis bei den CR-Zellen. Der Zwei-Klammer Halter ist an einem dreidimensional verstellbaren Mikrometertisch angebracht um das Einstellen der fokalen Ebene, des Wandabstands und der Kanalhöhe zu ermöglichen. Der Aufbau ist auf einer Platte für optische Aufbauten angebracht und wird von geschäumten Polystyrol-Platten möglichst lichtundurchlässig umschlossen. Auf Grund der in Abschnitt 3.1.3 vorgestellten Taxien ist eine Betrachtung des Einflusses von Umgebungslicht wichtig. Besonders groß kann dieser Einfluss bei den mikrorheologischen Experimenten werden. Deshalb musste das Labor verdunkelt und der Aufbau zusätzlich von Umgebungslicht abgeschirmt werden.

Innerhalb der Hülle wurde kontinuierlich die Temperatur gemessen um dafür zu sorgen, dass bei allen Messungen gleiche Temperatur herrschen. Das Labor selbst war klimatisiert und man muss lediglich auf die Abwärme der Kamera achten.

4.2.2 Messprotokoll Mikrorheologie

Für jede Messung wurde eine neue Suspension von CR und Kugeln (*Kisker Biotech* PMC-18.0) präpariert. Dazu wird eine Stocksuspension mindestens eine Stunde vor Beginn der Messungen auf die Temperatur des Labors eingestellt. Dabei muss sie sich ständig auf einem Magnetrührer befinden und beleuchtet werden um die normalen Kulturbedingungen aufrecht zu erhalten.

Der Messkanal wird einen Tag vor der Messung mit einer zweiprozentigen BSA¹-Lösung gespült, um die Kanalwände zu passivieren und somit eine Anhaftung von CR an den Wänden zu verhindern. [108] Dieses Anhaften würde zum einen die Beobachtung erschweren und zum anderen die Konzentration von CR im Kanal verfälschen. Die Kugeln werden ebenfalls eine Stunde lang in einer zweiprozentigen BSA-Lösung suspendiert um das Anhaften von CR zu vermeiden. Dennoch war es nicht möglich das Anhaften von CR-Zellen vollständig zu verhindern, insbesondere bei höheren CR-Zellkonzentrationen.

Zur Präparation einer Probe werden zunächst 2 ml der CR Stocksuspension in Zentrifugenröhrchen (*Eppendorfer* 1,5 ml) bei 1200 rpm zentrifugiert. Der Überstand wird entnommen, um eine Konzentration der Stocksuspension ($\phi = 0,1 - 0,3$ % Volumenkonzentration CR) von 20:1 bis 50:1 zu erreichen. Mit dieser Ausgangskonzentration wird zusammen mit 50 μ l Kugelsuspension in der Verdünnung 1:100 ein Probenvolumen von 200 μ l der gewünschten Konzentration eingestellt. Mit einer Spritze wird die komplette Messprobe in den Kanal eingebracht.

Nach Einstellung der Position des Kanals per Mikrometerschraube werden jeweils Intervalle von 5000 Bildern aufgenommen. Wenn alle Kugeln sedimentiert sind, wird die Suspension abgesaugt und neu aufgefüllt. Die Messung endet, wenn entweder der Speicherkapazität der SSD vollständig erschöpft ist oder die Wirkung der BSA Beschichtung erkennbar nachlässt und die Messung durch zu stark an den Kugeln anhaftenden CR verfälscht werden würde. Dies trat vermehrt bei hohen Konzentrationen $\phi > 1\%$ auf.

Die Volumenkonzentration von Suspensionen lässt sich bei kleinen Volumen nur ungenau einstellen, da jeder Schritt einen Messfehler durch zum Beispiel Über- oder Unterfüllung der Pipette verursachen kann. Um die genaue Konzentration zu bestimmen, wurden nach jedem Messdurchlauf eine Zellzählung auf mikroskopischem Level durchgeführt. Dazu wurde ein Teil des Messvolumens entnommen, die Zellen mit Ethanol fixiert und in einer Kapillare definierten Volumens gebracht. Mit einem invertierten Mikroskop wurden dann mit einem Phasenkontrastobjektiv nach vollständiger Sedimentation der Zellen zehn Bilder aufgenommen. Diese Bilder wurden mit dem Bildbearbeitungsprogramm *ImageJ* bearbeitet und mittels erprobter Verfahren ausgezählt. [109] Der Mittelwert der Zellanzahl dieser zehn Bilder und das zugehörige Probenvolumen ergeben die Volumenkonzentration. Die voreingestellte Konzentration weicht von dem genau ermittelten Wert um bis zu $\delta\phi = 0,7\%$ ab.

¹Bovines Serumalbumin

4.2.3 Auswertung

Pro Messtag wird eine sehr große Bilddatenmenge von 700-800 GB erreicht. Da diese auf Grund immenser Arbeitsspeicherbedürfnisse nicht ohne Weiteres ausgewertet werden können und die Kamera das Format PGM² nutzt, was von den genutzten IDL³-Algorithmen nicht unterstützt wird, müssen die Bildfolgen zunächst mittels *ImageJ* auf die Umgebung einzelner Trajektorien zugeschnitten und in TIFF⁴-Stacks konvertiert werden. Die Bildfolgen werden mit IDL Particle Tracking Skripten, wie in Abschnitt 4.4 beschrieben, ausgewertet um Trajektorienkoordinaten und mittlere quadratische Verschiebung zu erhalten. [110]

Bei den Auswertungen der Messungen hat sich herausgestellt, dass die Kugeln nicht entlang der gleichen Achse sedimentieren. Verschiedene Trajektorien haben jeweils verschieden Verkippungen zur angenommenen Gravitationsachse. Der scheinbare Drift der Kugel hat systematische Gründe. Im experimentellen Aufbau ist die Kamerabefestigung nicht vom Messkanal abgekoppelt. Deshalb kann eine kleine Bewegung oder auch das Wiederbefüllen des Kanals zur erneuten Durchmischung der Kugeln zu einer Verschiebung der Kamera führen. Diesen Fehler kann man durch eine Drehung des Koordinatensystems für einzelne Trajektorien korrigieren.

²Portable GrayMap

³Interactive Data Language

⁴Tagged Image Format File

4.3 Messaufbau der holografischen optischen Pinzette

Als Lichtquelle der holografischen optischen Pinzette dient ein diodengepumpter Nd:YAG Festkörper Laser (*Ventus*) mit einer Wellenlänge von $\lambda = 1064 \text{ nm}$ (Infrarot) und einer Maximalleistung von $P = 1,5 \text{ W}$ im kontinuierlichen Modus. Dieser stellt ein Gaußprofil in der Intensität, entsprechend einer TEM_{00} -Mode, zur Verfügung, die zur Realisierung der optischen Falle benötigt wird. Ein Strahlaufweiter des Typs BM.X (*Linos Photonics GmbH*) sorgt dafür, dass der Strahldurchmesser von 2,5 mm auf 20 mm erhöht wird um die Auflösung des PAL-SLM⁵ (*Hamamatsu Photonics*) optimal zu nutzen. Außerdem können optische Effekte, zum Beispiel chromatische Abberation, korrigiert werden. Das wichtigste Bauteil zur Kontrolle der holografischen optischen Pinzette ist der PAL-SLM. Mit diesem kann man dem Laser ein Phasenbild aufprägen in dem man eine Schicht nematischer Flüssigkristalle direkt über den VGA Ausgang eines PCs anspricht womit die Fallenkonfigurationen kontrolliert werden kann.

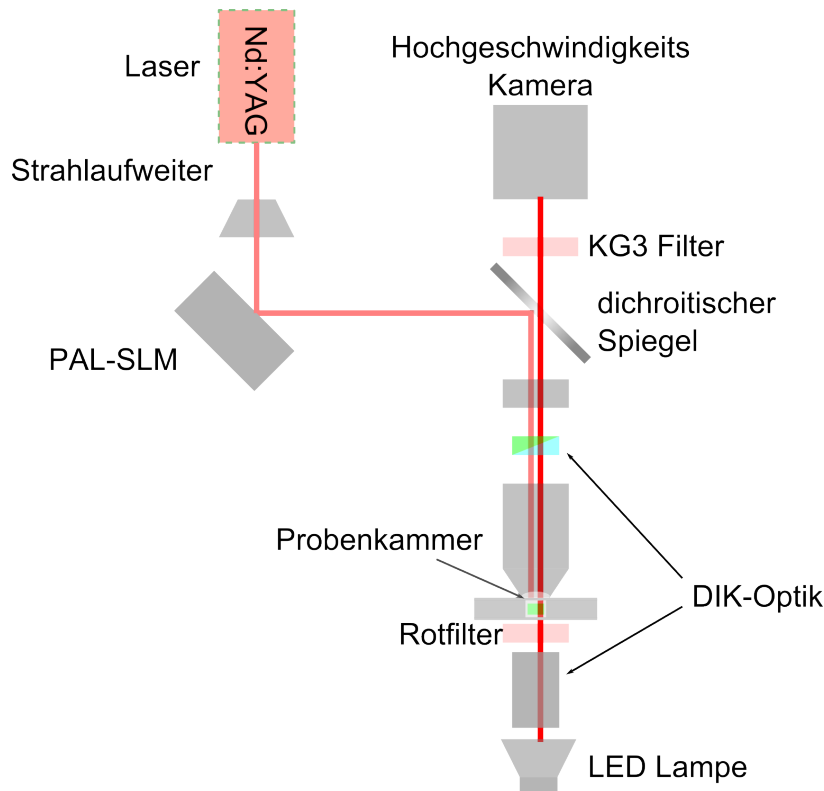


Abb. 4.5: Schematische Darstellung des Messaufbaus der verwendeten holografischen optischen Pinzette

Der so manipulierte Laserstrahl wird über einen dichroitischen Spiegel in den Strahlengang eines invertierten Mikroskops (*TE2000, Nikon Corp.*) eingekoppelt, wobei ein KG3 Filter (*Edmund Optics*) die zur Beobachtung und Bildaufnahme genutzten optischen Bauteile vor rückgestreutem Laserlicht schützt. Der Laser wird über ein unendlich korrigiertes Ölimmersionsobjektiv mit 60facher Vergrößerung und einer numerischen Apertur von $N_A = 1,25$ (*CFP Plan Fluor, Nikon Corp.*) zu der eingestellten

⁵parallel aligned liquid crystal spatial light modulator

Fallenkonfiguration in der zu messenden Probe fokussiert. Über dieses Objektiv wird die durch eine Hochleistungs-LED mit Rotfilter beleuchtete Messprobe wahlweise durch das Okular oder eine Hochgeschwindigkeitskamera (*Fastec Imaging HiSpec 2G*) beobachtet.

Das Mikroskop nutzt die DIK⁶ Technik, bei der mittels eines anspruchsvollen optischen Aufbaus die Unterschiede in der optischen Weglänge im betrachteten Objekt in Helligkeitsunterschiede des Bildes umgewandelt werden. Man kann dadurch transparente Objekte, welche nur die Phase des transmittierten Lichtes ändern, sichtbar machen beziehungsweise im Auflicht die Änderungen der Oberflächenmorphologie beobachten. Das entstehende Bild entspricht dem lokalen Gradienten des Brechungsindex der Probe.

Alle optischen Elemente sind für den Nahinfrarotbereich spezifisch antirefleksionsbeschichtet und der ganze Aufbau ist auf einem aktiv gedämpften optischen Tisch (*Vario, Halcyonics GmbH*) angebracht, der Vibrationen im Bereich 10 bis 100 Hz mit einer Effizienz von 98% dämpfen kann. Das Labor ist im Keller untergebracht, trotzdem haben sich bei Messungen Einflüsse durch die Klimaanlage im Nachbarraum durch charakteristische Frequenzen in den Messauswertungen bemerkbar gemacht. Diese sind jedoch sehr gering und beeinflussen nicht die Messergebnisse. Die Räume sind temperiert und weisen eine bis auf ± 1 K konstante Temperatur auf.

Ich verweise für eine genauere Beschreibung der einzelnen Bauteile und deren Funktionsweise auf andere in der Arbeitsgruppe entstandene Dissertationen. [98, 111, 112]

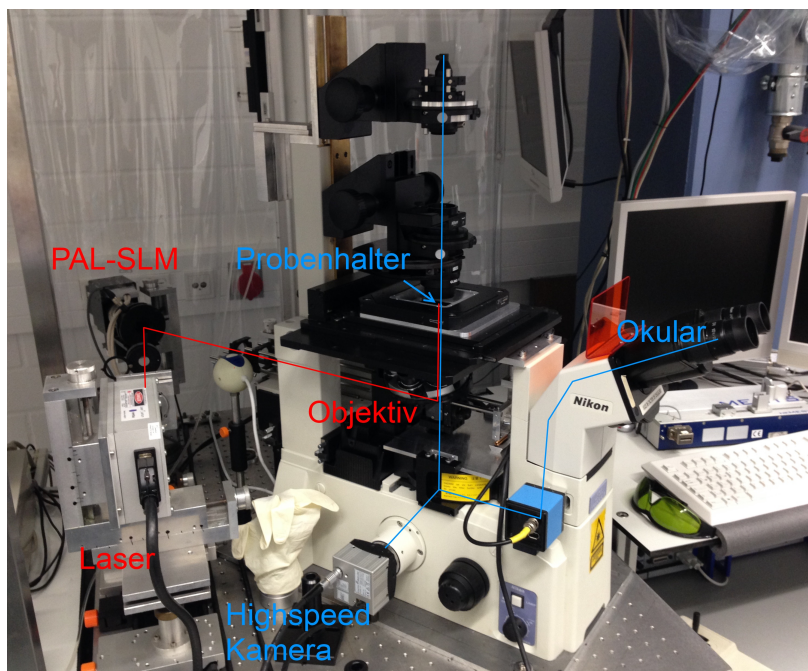


Abb. 4.6: Bild des Messaufbaus der verwendeten holografischen optischen Pinzette mit eingezeichnetem Laserstrahlengang (rot) und Beobachtungsstrahlengang (blau)

⁶Differentialinterferenzkontrast

Auswertung

Zur Auswertung der Messungen mit der optischen Pinzette wurde ein in der Arbeitsgruppe entwickeltes *Matlab* Skript genutzt. Die Bildauswertung besteht im Wesentlichen aus folgenden Schritten:

1. Aufbereitung des Bildes und Schwellwert-Binarisierung
2. Herausarbeitung der Zellmembran über Dilatation und Erosion des Bildes
3. Clusteranalyse mit Bestimmung des größten zusammenhängenden Gebiets, das auf Grund des Zellaufbaus als Zellwand angenommen werden kann
4. Anpassung einer Ellipse auf den größte Cluster, welcher mit einer Zelle identifiziert wurde
5. Über die Position des Mittelpunkts der Ellipse lässt sich die Position der Zelle bestimmen, über die Halbachsen der Ellipse lässt sich der Änderung der Ausrichtung der Zelle bestimmen.

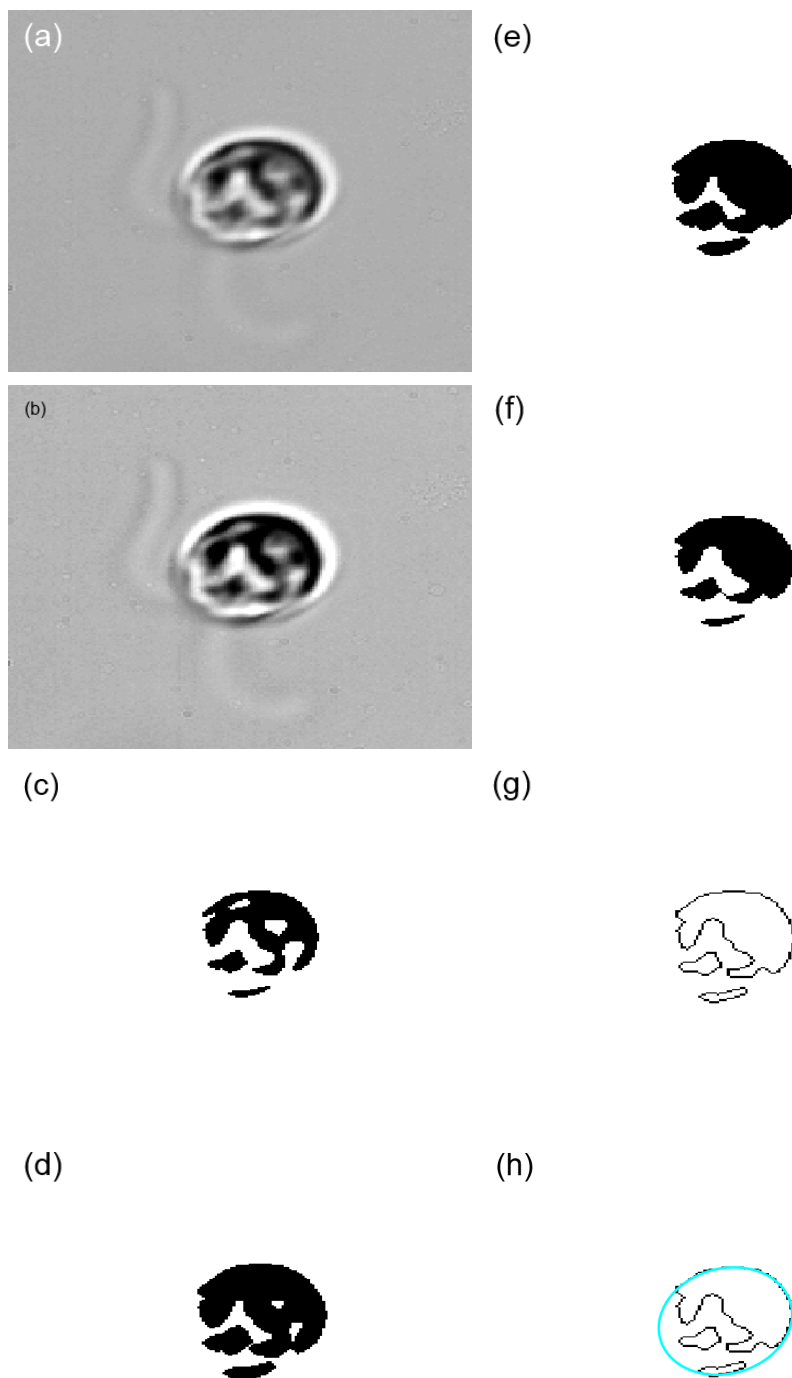


Abb. 4.7: Bildauswertung von CR Zellen in der holografischen optischen Pinzette: (a) Einlesen der Bilddatei; (b) Verbesserung von Kontrast und Helligkeit; (c) Schwellwertbinarisierung des Bildes; (d) Dilatation des Bildes; (e) Auffüllen der Bereiche im Zellkörper; (f) Erosion des Bildes; (g) Erkennung und Darstellung der Kanten; (h) Anpassung einer Ellipse auf den größten Cluster

Es wurden auch Versuche durchgeführt, um die Flagellen der Zelle selbst zu analysieren. Dafür wurde ebenfalls ein *Matlab* Skript genutzt, dass in Anlehnung an [113] folgende Schritte ausführt:

1. Aufbereitung des Bildes und Herausstellung der Flagellen durch eine Erosion des Bildes
2. Suche der Punkte geringster Intensität in einer ROI (Region of Interest), die nur die Flagelle enthält
3. Sortierung der Punkte und Anpassung der sich ergebenden Punktwolke mit einem Polynom

Die Abbildung 4.8 zeigt noch einmal anschaulich das Ergebnis des Verfahrens zur Erfassung der Flagelle und deren Parametrisierung durch ein Polynom dritten Grades.

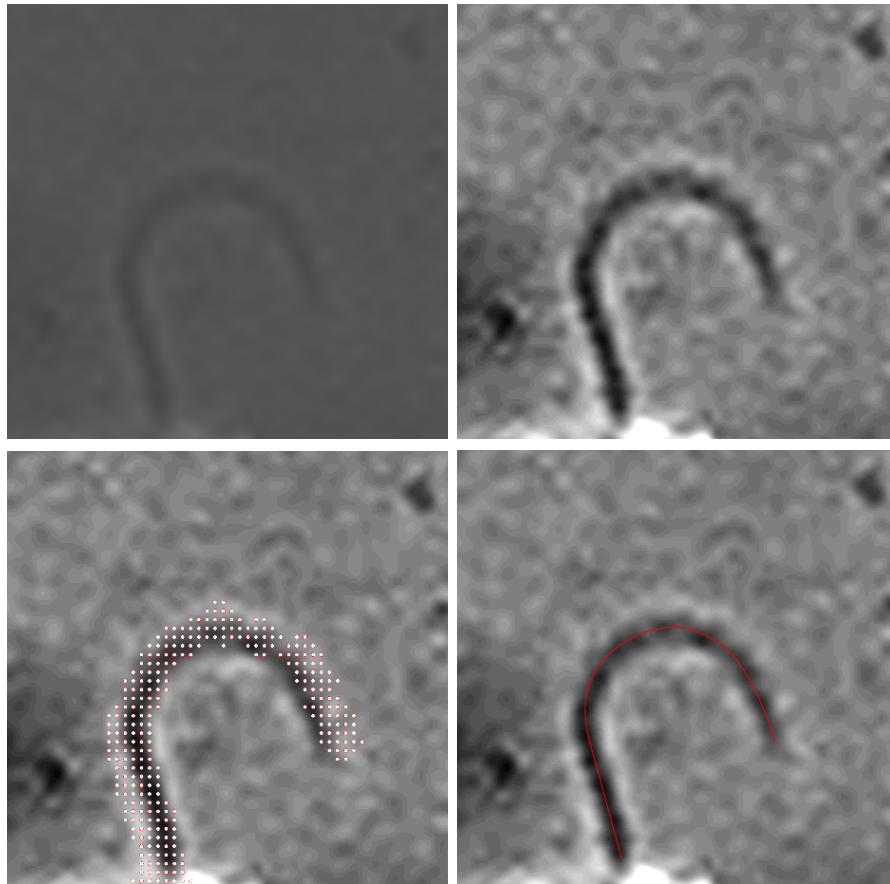


Abb. 4.8: Originalbild der Kamera (oben links), Verbesserung des Kontrastes für die Auswertung (oben rechts), Tracking der Flagellenbereiche (unten links), Anpassen der Flagelle mit einer parametrischen Kurve die auf einem Polynom dritten Grades basiert (hier wurde zur Anschauung eine Kurve per Hand eingezeichnet)

4.4 Particle Tracking und Mean Squared Displacement (MSD)

Für die Messungen in der optischen Pinzette und die mikrorheologischen Kanalmessungen wurde die Particle Tracking Methode genutzt, um die Bewegung der Partikel in für die Analyse verwertbare Trajektorien zu überführen. Für die mikrorheologischen Messungen wurde die *IDL* /footnote(*Interactive Data Language*) Implementation der Algorithmen von Crocker und Grier verwendet. [36] Im folgenden wird der Algorithmus von Crocker und Grier beschrieben:

1. Aufbereitung des Bildes

Zuerst muss das Bild aufbereitet werden. Es gibt verschiedene Einflüsse, die ein Bild stören können. Zum einen die geometrische Störung, wenn man eine Kamera mit nichtquadratischen Pixeln hat. Dies kann durch Standardbilder (Gitter o.ä.) bestimmt und zur Korrektur genutzt werden. Des weiteren kann der Kontrast wegen Ungleichmäßigkeiten in der Sensitivität der Pixel oder ungleichmäßiger Beleuchtung Gradienten aufweisen. Diesem Problem kann man mit Subtraktion des Hintergrunds begegnen.

2. Lokalisieren der Partikel

Ein Pixel mit einem Intensitätsmaximum dient als Kandidat für den Aufenthaltsort eines Partikels, falls sich in einer unmittelbaren Nachbarschaft keine helleren Pixel befinden. Danach legt man einen Schwellwert fest über der die Intensität des Pixels in Relation zur gesamten Intensitätsverteilung aller Pixel liegen muss.

3. Verbessern der Lokalisierung

Auf Grund falscher Identifizierungen und störender Einflüsse durch Rauschen muss man die Lokalisierung verbessern. Die Standardabweichung der Intensität lässt sich selbst bei moderatem Rauschen auf $\frac{1}{10}$ Pixel reduzieren. Durch Interpolation und Anpassung mit gaußförmigen Intensitätsprofilen kann eine Lokalisation im sub-Pixel Bereich erreicht werden.

4. Verbinden der Lokalisierungen zu Trajektorien

Die gefundenen Koordinaten werden zu Trajektorien verbunden und gespeichert.

Die Auswertung des MSD und die damit einhergehende Korrektur der Trajektorien wegen möglichen Drifts wurde mit einem für die Auswertung der Messung erstellten *Matlab* Skript durchgeführt.

1. Einlesen

Zuerst werden die nummerierten Trajektorien für eine Volumenkonzentration in aufsteigender Reihenfolge partikelweise in den Speicher gelesen

2. Vorbereiten

Um die Verkippung der Kamera zu bestimmen wird eine Anpassung der Funktion der Koordinaten $y(x)$ durchgeführt. Man erhält den Verkippungswinkel α_r . Dann werden alle Trajektorien so verschoben, dass sie am Koordinatenursprung starten.

3. Korrektur

Zur Korrektur der Kameraverkippung werden die ursprünglichen Koordinaten $\begin{pmatrix} x \\ y \end{pmatrix}$ mit einer Drehmatrix $\begin{pmatrix} \cos \alpha_r & -\sin \alpha_r \\ \sin \alpha_r & \cos \alpha_r \end{pmatrix}$ in die Koordinaten $\begin{pmatrix} x' \\ y' \end{pmatrix}$ transformiert. Außerdem wird über eine lineare Anpassung von $x(t)$ die Sedimentationsgeschwindigkeit in den einzelnen Trajektorien bestimmt.

4. Berechnung MSD

Für jede einzelne Trajektorie wird das MSD berechnet und anschließend über die MSDs einer Volumenkonzentration gemittelt. Die Berechnung des MSD wird ausführlicher in Abschnitt 3.4.2 gezeigt.

5. Ausgabe

Das MSD wird für einen Zeitraum von typischerweise $t = 4$ s bis $t = 10$ s berechnet, da bis zu diesem Zeitpunkt genügend Messwerte vorhanden sind um eine gute Statistik zu gewährleisten. Über diesem Wert werden die Fehler zu groß und geben nur noch einen groben Hinweis über das Verhalten für längere Zeiten.

5

Experimentelle Ergebnisse

Im experimentellen Teil werden die Versuche vorgestellt, welche in dieser Arbeit durchgeführt wurden. Zuerst werden rheologische Messungen an CR Suspensionen gezeigt, die auch Visualisierungen der Kegel-Platte Geometrie beinhalten. Anschließend werden die mikrorheologischen Messungen erläutert und den Abschluss bilden Messungen mit der holografischen optischen Pinzette.

5.1 Rheologische Messungen

In diesem Abschnitt werden die rheologischen Messungen vorgestellt. Zuerst werden vorbereitende Versuche gezeigt, um die Eignung des Rheometers für die Vermessung von Mikroschwimmersuspensionen zu prüfen. Dazu wurden Messungen an Kolloidsuspensionen durchgeführt.

Anschließend werden die viskosimetrischen Messungen von Mikroschwimmersuspensionen in einer Kegel-Platte sowie einer Taylor-Couette Geometrie unter Verwendung des Rheometers vorgestellt. Experimente in einem Visualisierungssetup, die die Auswirkung inertielle Effekte auf eine Mikroschwimmersuspension in einer Kegel-Platte Geometrie zeigen, ergänzen diesen Teil.

5.1.1 Viskosimetrische Messungen

Kontrollmessungen

Als vorbereitender Teil der rheologischen Messungen wurde die Viskosität von Suspensionen passiver, Partikeln untersucht, die in der gleichen Größenordnung wie CR liegen. Dies diente zum Einen der Entwicklung des Messprotokolls und zum Anderen der Charakterisierung des Rheometers, da es zu solchen Messungen Vergleichswerte in der Literatur beispielsweise in der Referenz [76] gibt.

In der Abbildung 5.1 werden Daten aus Messungen gezeigt, die mit Suspensionen von 10 µm großen Kugeln verschiedener Volumenkonzentrationen durchgeführt wurden. Es wurde die relative Viskositätsänderung gegen die Volumenkonzentration aufgetragen. Man erkennt deutlich an den eingezeichneten Graphen, jeweils für das Einsteingesetz

$$\eta_{eff} = \eta_0(1 + \alpha_E \phi) \quad (5.1)$$

und das Krieger-Dougherty Gesetz

$$\eta_{eff} = \eta_0 \left(1 - \frac{\phi}{\phi_m}\right)^{-\alpha \phi_m}, \quad (5.2)$$

dass das Einsteingesetz bei zu hohen Konzentrationen nicht mehr die Messdaten abbilden kann. Das ebenfalls eingezeichnete Krieger-Dougherty Gesetz kann eine gute phänomenologische Beschreibung der Ergebnisse liefern.

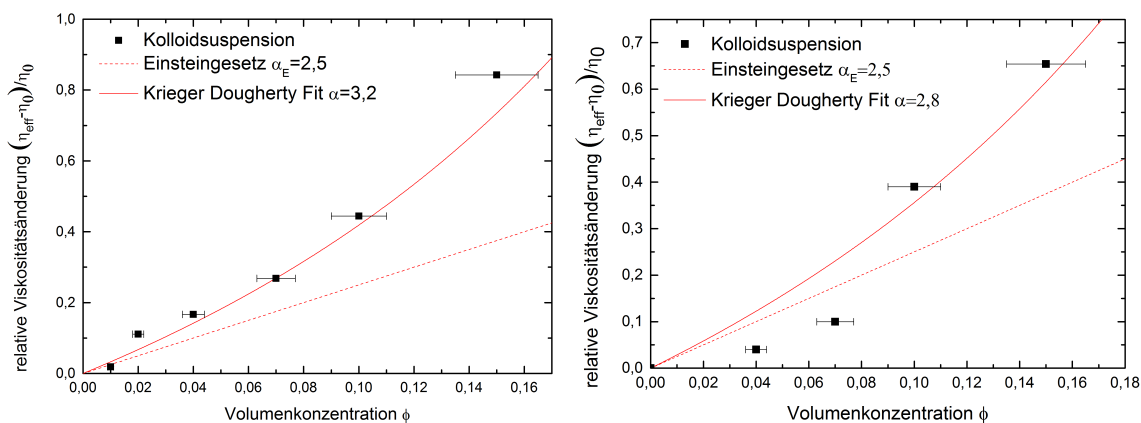


Abb. 5.1: In diesem Diagramm ist die relative Viskositätsänderung gegen die Volumenkonzentration einer Suspension von 10 µm großen Kugeln eingetragen, die in einer Kegel-Platte Geometrie (links) und einer Taylor-Couette Geometrie (rechts) bestimmt wurde. Die Fehlerbalken symbolisieren den Fehler bei der Bestimmung der Volumenkonzentration der Kolloidsuspension. Die gepunktete Linie zeigt das Einstein Gesetz, die durchgezogene Linie das Krieger-Dougherty Gesetz. Die Lösungsmittelviskosität betrug $\eta_0 = 1,15$ mPas.

Den höheren Wert für die intrinsische Viskosität α , den man durch eine Anpassung des Krieger-Dougherty Gesetzes an die Messdaten erhält, ist konsistent mit Literaturwerten wie beispielsweise in der Referenz [76] angegeben. Man kann festhalten, dass das Rheometer im Rahmen der Messauflösung das Verhalten von Kolloidsuspensionen wiedergeben kann.

Vergleich der intrinsischen Viskosität von CR Suspensionen

Ein weiterer Schritt war es, die Messungen aus der Referenz [49] zu erweitern. In dieser Studie wurde unter anderem gezeigt, dass eine CR Suspension eine höhere intrinsische Viskosität als eine Suspension mit fixierten CR hat.

Die Abbildung 5.2 zeigt Messwerte der relative Viskositätsänderung für verschiedene Volumenkonzentrationen von lebenden und fixierten CR. Diese wurden bei einer Scherrate von 5 s^{-1} aufgenommen. Über eine Anpassung mit dem Krieger-Dougherty Gesetz erhält man die intrinsische Viskosität. Dabei wird $\phi_m = 0,64$ gesetzt. Dies entspricht der maximalen Volumenkonzentration bei einer Suspension monodisperser Kugeln. Der Standardfehler der χ^2 Anpassung ist mit angegeben.

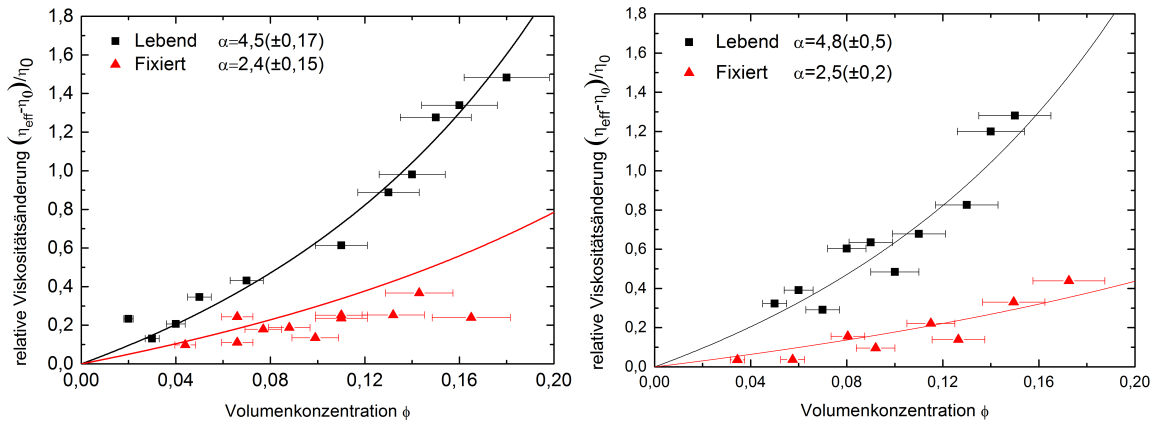


Abb. 5.2: Relative Viskositätsänderung von CR Suspensionen bei verschiedenen Volumenkonzentrationen in einer Kegel-Platte Geometrie(links) und einer Taylor-Couette Geometrie(rechts) bei einer Scherrate von $\dot{\gamma} = 5 \text{ s}^{-1}$. Die schwarzen Datenpunkte repräsentieren die Werte für Suspensionen von lebenden Zellen, rote Datenpunkte stehen für Suspensionen von abgetöteten (fixierten) Zellen. Gleichung (3.14) wird auf beide angepasst um die intrinsische Viskosität zu bestimmen. Die Lösungsmittelviskosität betrug $\eta_0 = 1,15 \text{ mPas}$.

Die relative Viskositätsänderung erhöht sich für beide Suspensionen mit der Volumenkonzentration. Dieser Effekt ist für lebende Zellen stärker ausgeprägt als für fixierte. Die Form der Zellen wird durch die Konservierung der Proteinstruktur mit Formaldehyd nicht geändert, jedoch werden die viskoelastischen Eigenschaften modifiziert. Dieser Effekt bewirkt jedoch keine gravierende Änderung der Eigenschaften der Probe, da bereits die lebende Zelle durch die angreifenden Kräfte nicht stark deformiert wird wie man in der Referenz [114] an Zellen mit wesentlich schwächerem

Zytoskelett festgestellt hat. In der Kegel-Platte Geometrie wurde für die lebenden CR Suspensionen $\alpha_{\text{lebend}} = 4,5(\pm 0,17)$. Für die Suspensionen fixierter CR findet sich $\alpha_{\text{fixiert}} = 2,4(\pm 0,15)$. Es ergibt sich eine gute Übereinstimmung mit Referenz [49]. Dies zeigt eine gute Vergleichbarkeit der Messprotokolle und Materialien.

Die in der Kegel-Platte Geometrie vorgestellten Messungen wurden in vergleichbarer Weise in einer Taylor-Couette Geometrie durchgeführt. Diese hat den Vorteil, dass der Schergradient senkrecht zur Gravitation ist und eventuelle Effekte eines *heavy bottom swimmer* Verhaltens ausgeschlossen werden können. In der Taylor-Couette Geometrie wurden Messreihen analog zu der Abbildung 5.2 (links) durchgeführt, um zu untersuchen, welchen Effekt eine Entkopplung des Schergradienten von der Gravitationsachse bewirkt. Direkt ersichtlich aus der Abbildung 5.2 (rechts) ist, dass auch in dieser Messreihe eine unterschiedliche intrinsische Viskosität für die lebenden und fixierten Zellen ermittelt werden kann. Der Wert für die fixierten Zellen ist identisch mit dem aus der Kegel-Platte Geometrie ermittelten Wert, allerdings ist der Wert für die lebenden Zellen etwas höher als in der Kegel-Platte Geometrie, liegt aber auf Grund der ebenfalls höheren Varianz durchaus in der Messgenauigkeit. In der Taylor-Couette Geometrie wurde für die lebenden CR Suspensionen $\alpha_{\text{lebend}} = 4,8(\pm 0,5)$. Für die Suspensionen fixierter CR findet sich in dieser Geometrie $\alpha_{\text{fixiert}} = 2,5(\pm 0,2)$. Dieses wichtige und für diesen Teil der Arbeit zentrale Ergebnis wird im Diskussionsteil weiter erörtert.

Zur Erstellung der Abbildung 5.3 wurde für jede gemessene Scherrate eine Anpassung der Viskosität-Volumenkonzentration Kurve analog zu der Abbildung 5.2 mit der Gleichung (3.14) durchgeführt und der ermittelte Wert für die intrinsische Viskosität eingetragen.

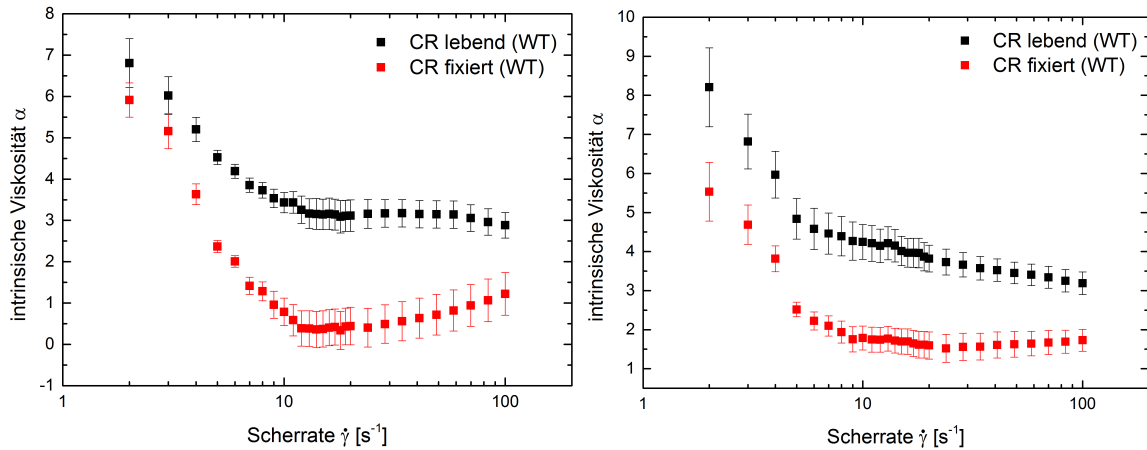


Abb. 5.3: Intrinsische Viskosität aufgetragen gegen die Scherrate für lebende (schwarze Datenpunkte) und fixierte (rote Datenpunkte) CR in einer Kegel-Platte Geometrie(links) und einer Taylor-Couette Geometrie (rechts)

Die Werte für die intrinsische Viskosität, bestimmt aus einer Anpassung der Viskositätsdaten mit dem Krieger-Dougherty Gesetz, weisen im Scherratenbereich von

$\dot{\gamma} = 4 \text{ s}^{-1} - 8 \text{ s}^{-1}$ die kleinste Varianz auf. Dieser Bereich ist offensichtlich am ehesten für eine weitere Auswertung geeignet. Beide Datensätze beginnen bei ähnlich hohen Werten, die hauptsächlich durch Trägheitseffekte der Geometrie bestimmt sind, weichen dann aber bereits ab $\dot{\gamma} = 4 \text{ s}^{-1}$ voneinander ab. Der größte Abstand der Werte von lebenden und fixierten Zellen wird im Bereich von $\dot{\gamma} = 10 \text{ s}^{-1} - 20 \text{ s}^{-1}$ erreicht, bei höheren Scherraten laufen die Werte wieder zusammen. Der Verlauf der intrinsischen Viskosität für lebende Zellen ergibt qualitativ eine gute Übereinstimmung mit der in Referenz [47] berechneten dimensionslosen Viskosität für *puller* Suspensionen.

Der Abstand im mittleren Scherratenbereich zeigt wiederum den aus der Motilität der Mikroschwimmer resultierenden Einfluss auf die intrinsische Viskosität. Eine Erklärung für die erneute Annäherung könnte bei den lebenden Zellen die endgültige Überwindung des durch die Motilität verursachten hydrodynamischen Widerstands sein. Bei den höheren Scherraten werden die fixierten Zellkörper zunehmend zerstört und verlieren ihre Flagellen. Das Zytoplasma vermischt sich mit dem Medium und erhöhen mit den frei umher schwimmenden Flagellen die Viskosität. Man kann für die Viskosität des Zytoplasmas einen Wert von $3 < \eta < 5 \text{ mPas}$ angeben was mit dem Beitrag der Flagellen zur Viskosität zu einer Erhöhung auf ungefähr $\eta_{eff} = 1,5 \text{ mPas}$ für eine zehnprozentige Suspension führen kann. [115, 116]

Ein weiterer Punkt, der eine Erhöhung der Viskosität bei den fixierten CR erklären könnte, sind die im Abschnitt 5.1.2 näher untersuchten Sekundärflüsse die ab einer Scherrate von circa $\dot{\gamma} = 50 \text{ s}^{-1}$ immer mehr Einfluss auf das Messergebnis haben. Es ist bereits aus der Literatur bekannt, dass Sekundärflüsse ein effektives Drehmoment auf den Sensor (in diesem Fall der Kegel) ausüben und die Messung dadurch beeinflussen in dem sie die Viskosität erhöhen. [38, 39, 81, 117] Für eine 15-prozentige Suspension konnte beispielsweise eine Erhöhung der effektiven Viskosität von $\eta_{eff} = 1,6 \text{ mPas}$ bei $\dot{\gamma} = 50 \text{ s}^{-1}$ auf $\eta_{eff} = 1,8 \text{ mPas}$ bei $\dot{\gamma} = 100 \text{ s}^{-1}$ gefunden werden.

Auch für diese Messreihe wurde wieder eine Auftragung der intrinsischen Viskosität in Abhängigkeit der Scherrate angefertigt. Dabei ist das Verhalten der CR Suspensionen durchaus vergleichbar zu den Messungen in der Kegel-Platte Geometrie. Qualitativ ergibt sich ein fast äquivalentes Verhalten, wobei allerdings die Scherverdünnung über einen größeren Bereich andauert. Die Erhöhung der Viskosität der fixierten CR Suspension tritt auch in der Taylor-Couette Geometrie auf.

Ein Vergleich der Viskositätsdaten in der Abbildung 5.4 für zehnprozentige Suspensionen von lebenden und fixierten CR für die Taylor-Couette sowie die Kegel-Platte Geometrie zeigt eine vergleichbare Größenordnung der Messdaten. Auffällig ist in allen Datensätzen die starke Scherverdünnung bis zu einer Scherrate von $\dot{\gamma} = 10 \text{ s}^{-1}$ welche bereits in der Literatur vorhergesagt wird, in diesen Messungen aber zusätzlich andere Ursachen haben kann, da der betrachtete Bereich an der Auflösungsgrenze des Rheometers liegt, was die Interpretation der Messwerte erschwert. [47]

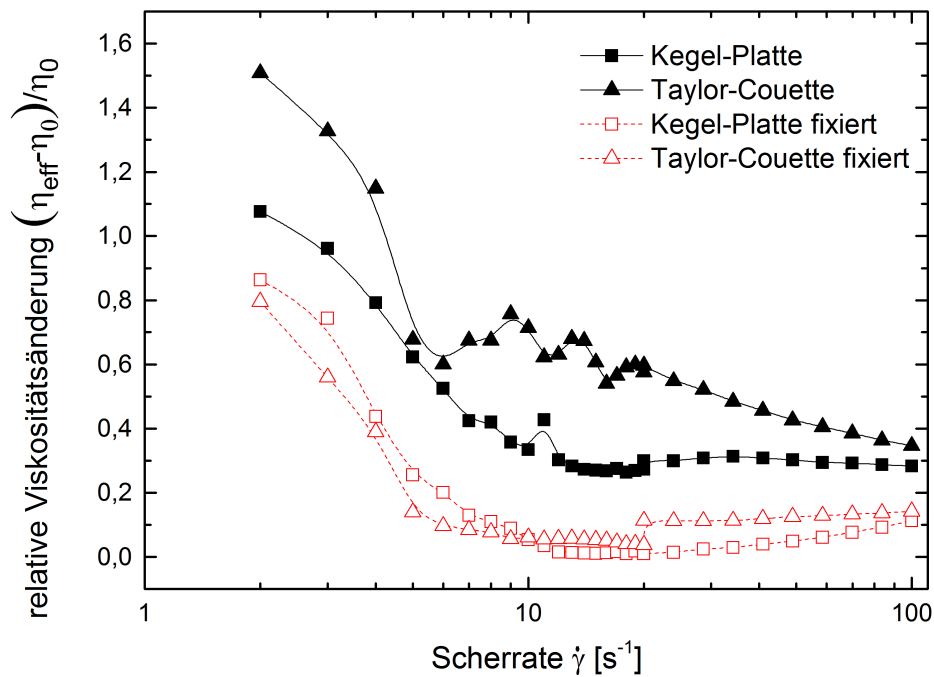


Abb. 5.4: Vergleich der relativen effektiven Viskositätsänderung von zehnprozentigen Suspensionen lebender und fixierter CR aufgenommen in einer Kegel-Platte Geometrie und einer Taylor-Couette Geometrie. Die schwarzen (roten) Quadrate repräsentieren die Daten aus der Messung lebender (fixierter) CR in einer Kegel-Platte Geometrie. Die schwarzen (roten) Dreiecke repräsentieren die Daten aus der Messung lebender (fixierter) CR in einer Taylor-Couette Geometrie. Zur Anschaulichkeit sind Hilfslinien eingezeichnet.

Im mittleren Scherratenbereich der lebenden Zellen weist der Datensatz der Taylor-Couette Geometrie ein deutliches Fluktuieren der Messwerte auf und geht schließlich in einem scherverdünnenden Bereich über. In den Messdaten für lebende Zellen der Kegel-Platte Geometrie kann man ab $\dot{\gamma} > 10 \text{ s}^{-1}$ keinen oder nur noch einen sehr geringen scherverdünnenden Effekt feststellen, wie schon in der Referenz [49] gezeigt wurde. Bei den Messungen der fixierten Zellen weisen beide Geometrien eine annähernd gleiche Charakteristik auf und zeigen eine leichte Scherverdickung bei höheren Scherraten, welche auf der Erhöhung der Viskosität durch die Zerstörung der Zellkörper basiert.

Messungen am CR Mutanten *pf22*

Um den Einfluss der Flagellenlänge auf die rheologischen Messungen zu untersuchen, wurden Mutanten des Typs *pf22* untersucht. Dieser Phenotyp zeichnet sich durch eine beeinträchtigte Motilität aus. Bei diesem Mutanten gibt es Fehlbildungen an den Dyneinarmen, die Bestandteile der Flagellen sind, wodurch sich die Flagellenlängen lediglich in dem Bereich von ein bis zwei Dritteln der Länge des Wildtyps (WT) bewegt. [118]

Die Vorhersagen bei Suspensionen von *puller* Mikroschwimmern geben an, dass die durch die Bewegung der Flagellen hervorgerufenen hydrodynamischen Wechselwirkungen zur Erhöhung der Viskosität der Suspension führen. Bei einer Änderung der Kraftausübung durch die Flagellen sollte daher auch ein geringerer Wert für die intrinsische Viskosität auftreten. Die Schlagfrequenz ist bei *pf22* vergleichbar der des Wildtyps.

In der Abbildung 5.5 wurde eine Messreihe in gleicher Weise wie zu der Abbildung 5.2 durchgeführt. Während die intrinsische Viskosität für die fixierten Mikroschwimmer dem Wert des Wildtyps entspricht, ist der Wert für die lebenden Zellen um 0,6 geringer. Die Bewegung der Flagellen entspricht einer mechanischen Welle und der Zusammenhang zwischen Länge der Flagellen und Kraftausübung ist nichtlinear. [27] Dies kann einen Grund für die geringere intrinsische Viskosität darstellen. Die Änderung des Flussfeldes durch die geringere Kraftausübung, die bei konstanter Frequenz zu erwarten ist, spielt ebenfalls eine Rolle, da dieses Flussfeld einen der wichtigsten Gründe für eine höhere intrinsische Viskosität bei aktiven Fluiden darstellt.

Auch für den Typ *pf22* wurde eine Messung der intrinsischen Viskosität in Abhängigkeit von der Scherrate durchgeführt. Die Messwerte bei den *pf22* Schwimmern liegen tendenziell auf einem höheren Niveau, fallen aber für die lebenden Zellen bereits ab $\dot{\gamma} = 10 \text{ s}^{-1}$ kontinuierlich ab. Die intrinsische Viskosität der fixierten Zellen fällt zu Beginn der Messreihe sehr schnell auf einen für passive Partikel typischen Wert ab. Der Anstieg mit dem erneuten Abfall am Ende der Messskala lässt sich nicht mehr durch die Zerstörung der Zellmembran erklären.

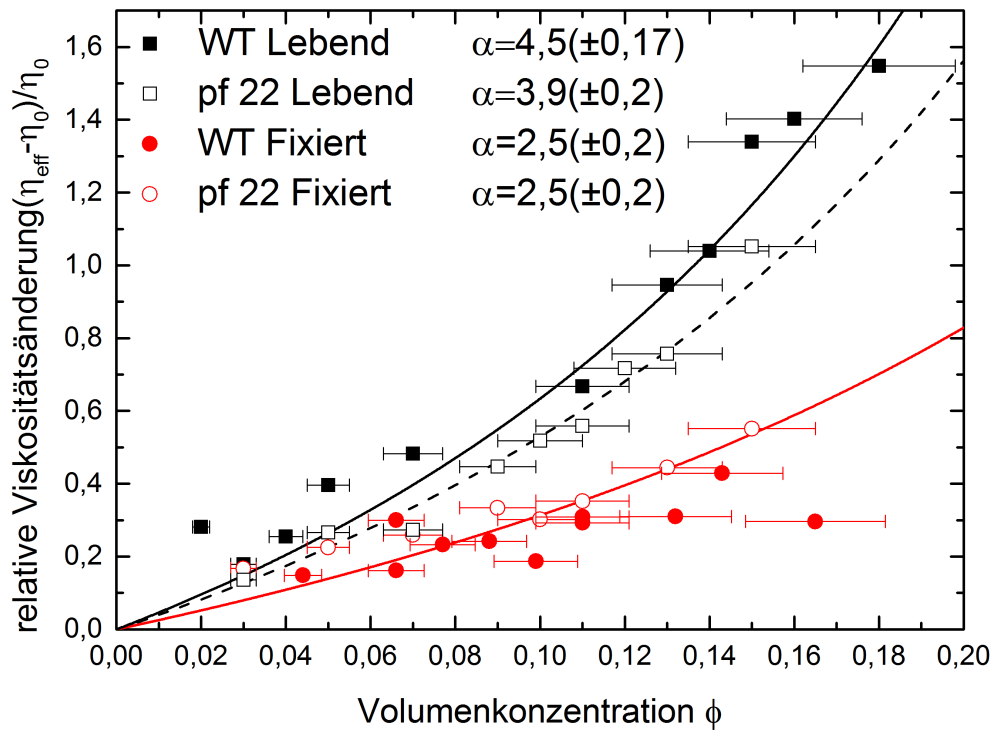


Abb. 5.5: Relative Viskositätsänderung von Suspensionen von CR des Stamms *pf22* mit verschiedenen Volumenkonzentrationen in einer Kegel-Platte Geometrie. Die schwarzen nicht gefüllten Quadrate repräsentieren die Werte für Suspensionen von lebenden Zellen, rote Kreise stehen für Suspensionen von abgetöteten (fixierten) Zellen. Gleichung (3.14) wird auf beide angepasst um die intrinsische Viskosität zu bestimmen. Die Lösungsmittelviskosität beträgt $\eta_0 = 1,15\text{mPas}$. Zum Vergleich sind die Daten für lebende CR des Wildtyps aus der Abbildung 5.2 in schwarzen gefüllten Quadraten eingezeichnet. Die Messwerte wurden bei $\dot{\gamma} = 5\text{ s}^{-1}$ aufgenommen.

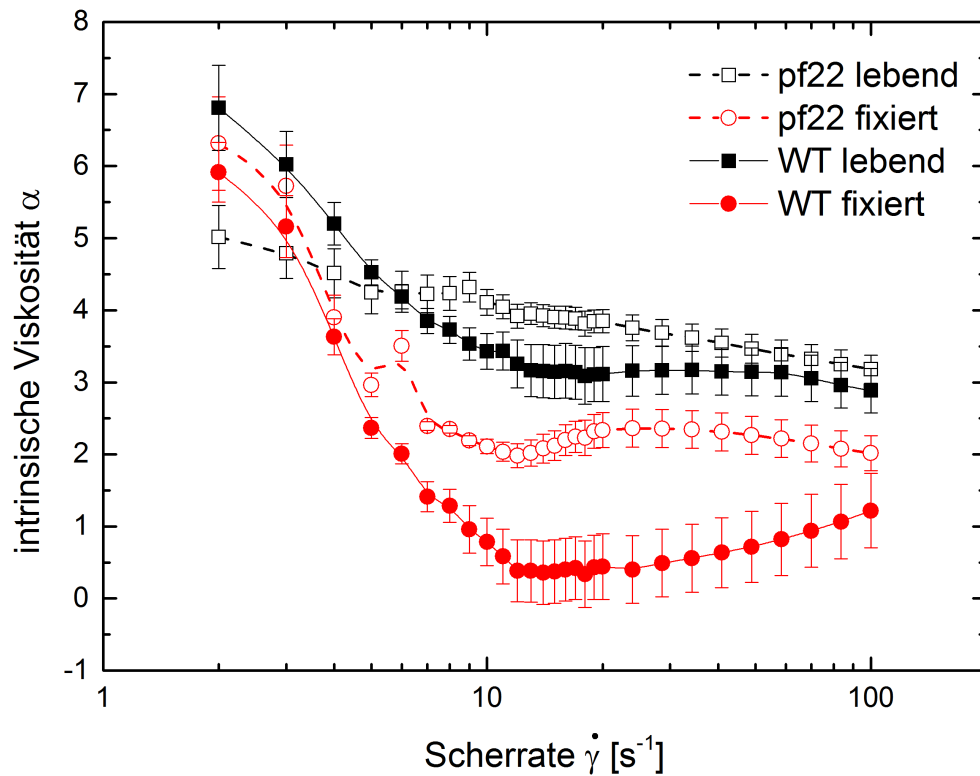


Abb. 5.6: Intrinsische Viskosität aufgetragen gegen die Scherrate für lebende und fixierte CR des Stamms *pf22* in einer Kegel-Platte Geometrie. In schwarzen nicht gefüllten Quadraten sind die lebenden *pf22* aufgetragen, in roten nicht gefüllten Kreisen die fixierten. Zum Vergleich sind aus Abbildung 5.3 in schwarzen Quadraten die Werte für den lebenden Wildtyp und in roten Kreisen für den fixierten eingezeichnet. Zur besseren Anschaulichkeit wurden Linien für die Verläufe der Graphen eingezeichnet.

5.1.2 Visualisierung in einer Kegel-Platte Geometrie

Nach den Messungen in der Kegel-Platte Geometrie konnte man oft einen auffälligen Bereich beobachten, in dem in einem gewissen Radius eine wesentlich erhöhte Konzentration vorlag, es wurden also Zellen in diesen Bereich transportiert. In den im folgenden vorgestellten Messungen wurden einfache Scherratenrampen von $\dot{\gamma} = 10 \text{ s}^{-1} - 100 \text{ s}^{-1}$ über $t = 300 \text{ s}$ durchgeführt. Dabei wurden Aufnahmen durch die transparente Bodenplatte hindurch gemacht um auch eine visuelle Auswertung der Flussverhältnisse in der Geometrie durchführen zu können. Die Abbildung 5.7 zeigt Kameraaufnahmen aus der Kegel-Platte Geometrie. Diese zeigen deutlich die Bildung eines Rings höherer Volumenkonzentration ab einer Scherrate von ungefähr $\dot{\gamma} = 50 \text{ s}^{-1}$, dessen radiale Position immer mehr zum Mittelpunkt migriert, während die Konzentration zunimmt.

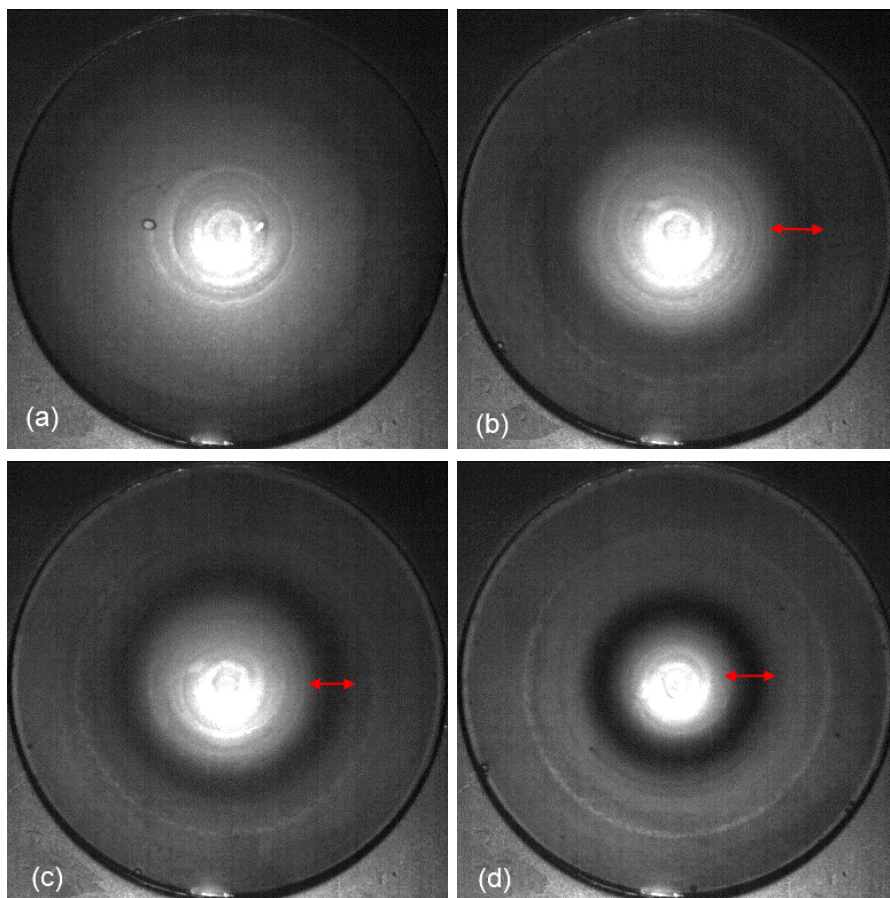


Abb. 5.7: Visualisierung des Sekundärflusses einer fünfprozentigen CR Suspensionen in einer Kegel-Platte Geometrie, Bild (a) ist eine Aufnahme bei 20 s^{-1} , die Suspension ist noch homogen konzentriert, in Bild (b) erkennt man, dass sich ab einer Scherrate von 50 s^{-1} ein dunkler Ring ausbildet, in Bild (c) bei 60 s^{-1} formiert dieser sich schon sehr deutlich und gegen Ende der Messung in Bild (d) bei 90 s^{-1} hat der Ring minimalen Radius und maximale Konzentration erreicht. In rot sind Lage und Breite des Rings markiert.

Um die folgenden Abbildungen zu erhalten, wurden jeweils die azimuthalen Mittelwerte entlang Linien durch den Mittelpunkt der Geometrie ausgewertet und die auf 1 normierte Intensität aufgetragen, die umgekehrt proportional zur Volumenkonzentration ist. Die Intensität fällt bereits in Ruhe mit dem Radius ab, da ein Kegel genutzt wird und somit die Flüssigkeitshöhe mit dem Radius steigt und folglich die vom Kegel zurück gestreute Intensität sinkt.

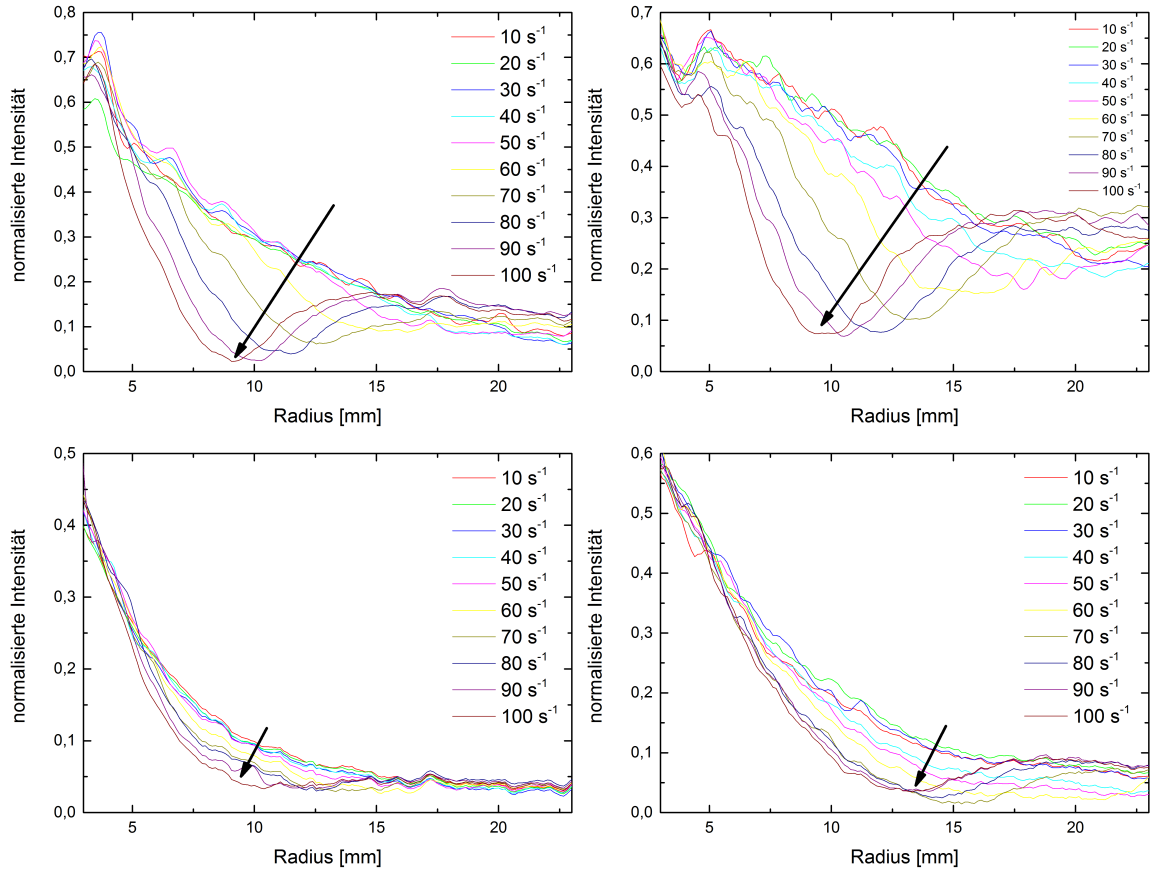


Abb. 5.8: Normalisierte Intensität des vom Kegel rückgestreuten Lichts in Abhängigkeit des Plattenradius für eine fünfprozentigen lebende (links oben) und fixierte (rechts oben) CR Suspension in einer Kegel-Platte Geometrie. Analog sind darunter die entsprechenden Daten für 15-prozentige Suspensionen abgebildet. Die Pfeile verdeutlichen, wohin sich der Ring geringer Intensität bei Erhöhung der Scherrate bewegt.

Zuerst werden Messungen an fünfprozentigen Suspensionen fixierter und lebender Zellen gezeigt. Die Werte aus der Mitte der Geometrie, also Radius < 5 mm liegen auf der Kante, an der der Öffnungswinkel des Kegels ansetzt und liefern keine verwertbaren Informationen. Wichtig ist der Radiusbereich zwischen 5 mm und 20 mm. Dort erkennt man deutlich anhand abnehmender Intensität, wie bereits in den Aufnahmen in der Abbildung 5.7 gezeigt, dass ab ungefähr $\dot{\gamma} = 50 \text{ s}^{-1}$ eine Migrationsbewegung zur Drehachse hin bis zu einem Bereich von ungefähr einem Drittel des Radius einsetzt. Diese Bewegung verstärkt sich mit höherer Scherrate immer weiter. Die normalisierte

Volumenkonzentration in den Auswertungen entspricht nicht der absoluten Volumenkonzentration ϕ . Sie wird bestimmt als Relativwert zum Wert der Intensität am Rand des Kegels zur gemessenen Intensität am untersuchten Radius.

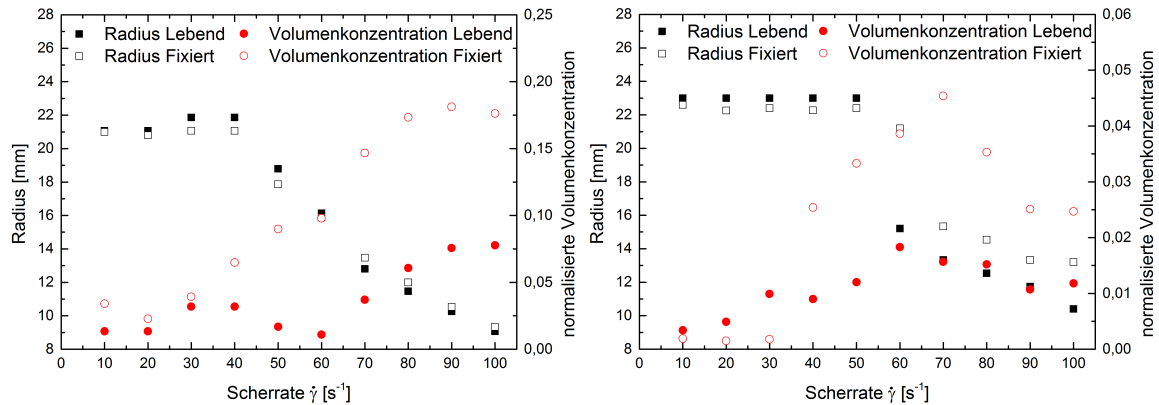


Abb. 5.9: Für fünfprozentige (links) und 15-prozentige (rechts) CR Suspensionen von lebenden und fixierten Zellen ist hier für einen Scherratenbereich von $\dot{\gamma} = 10 - 100 \text{ s}^{-1}$ die radiale Position der höchsten Volumenkonzentration (schwarze Quadrate) und deren Wert (rote Kreise) eingetragen

In der Abbildung 5.9 erkennt man einen Unterschied im Zeitablauf der Ausbildung der Ringe zwischen den lebenden und fixierten Zellen. In der radialen Position entscheiden sich beide Suspensionen kaum, jedoch im Wert der Volumenkonzentration selbst. Die Abbildung 5.9 zeigt, dass die radiale Position der höchsten Volumenkonzentration von einem Plateau, dass im Wesentlichen zeigt, dass Sekundärflüsse noch keine Rolle spielen, ab $\dot{\gamma} = 40 \text{ s}^{-1}$ abnimmt und anzeigt, dass der Einfluss des Sekundärflusses ab dort entscheidenden Einfluss auf das Flussfeld hat.

Wie man an den Intensitätsverläufen und nachfolgend in der Abbildung 5.9 erkennen kann, ist die Formierung der Sekundärflüsse wesentlich schwächer ausgeprägt, wenn von Anfang an eine im Gesamten höhere Volumenkonzentration von CR in der Suspension vorliegt. Man kann auch feststellen, dass die Ausbildung des Ringes etwas später einsetzt ($\dot{\gamma} = 60 \text{ s}^{-1}$) als bei einer niedriger konzentrierten Suspension. Ab dem abrupten Einsetzen der Ringformation unterscheidet sich der Verlauf zwischen den lebenden und fixierten Zellen deutlicher als bei der fünfprozentigen Suspension. Die Ringformation bei den fixierten Zellen ist verzögert gegenüber den lebenden CR. Da der Zeitpunkt ab dem die Sekundärflüsse einen großen Einfluss auf das Flussverhalten haben jedoch von mehreren Parametern abhängt, unter anderem ist die Kennzahl umgekehrt proportional zur kinematischen Viskosität, kann man davon annehmen, dass das unterschiedliche Verhalten im Bezug auf den Radius des Volumenkonzentrationsmaximums seine Ursache in der unterschiedlichen Viskosität von lebenden und fixierten Suspensionen hat, der bei einer 15-prozentigen Suspension wesentlich höher als bei der fünfprozentigen Suspension ist (siehe Abbildung 5.2). [38]

Die radiale Position des Bereichs höchster Volumenkonzentration hängt im Wesentlichen von den geometrischen Parametern des Kegel und der Viskosität des Mediums

ab. Auch für die 15-prozentigen Suspensionen ergibt sich ein Unterschied in der maximalen Volumenkonzentration an der betrachteten radialen Position, die analog zur fünfprozentigen durch den Widerstand der lebenden Zellen gegen die Scherung nach innen erklärt werden kann.

5.2 Mikrorheologische Messungen

In diesem Abschnitt werden die mikrorheologischen Messungen vorgestellt. Zuerst wurde das Messsystem mit Diffusionsmessungen von Mikrosphären in TAP Medium charakterisiert. Anschließend wurden die Trajektorien von Mikrosphären in verschiedenen konzentrierten CR Suspensionen ermittelt. Die darauf folgenden Auswertungen stellen den aktuellen Kenntnisstand dar.

5.2.1 Messung von Kugeln in TAP Medium

Zur Überprüfung des Messsystems wurden zuerst Trajektorien von Kugeln in TAP Medium aufgewertet. Im folgenden wird die x -Richtung als Richtung der Sedimentation (Gravitation) bezeichnet und die y -Richtung als Richtung senkrecht zur Sedimentation. Zur Berechnung der Diffusionskonstante einer der betrachteten Mikrosphären wird die Gleichung

$$D_E = \frac{k_B T}{6\pi\eta R} \quad (5.3)$$

benutzt. Zur Anpassung des MSD nutzt man die Gleichung

$$\langle r^2(t) \rangle = 2n \cdot D \cdot t \quad (5.4)$$

In der Abbildung 5.10 ist das MSD für die verschiedenen Koordinaten einer Kugel in reinem TAP Medium aufgetragen. In der y -Richtung zeigt das MSD einen Verlauf, der auch für Zeiten $t > 1$ s annähernd einer Gerade entspricht. Für die x -Richtung, also die Richtung der Sedimentation zeigt sich bereits für Zeiten ab $t = 1$ s eine deutliche Abweichung vom linearen Verhalten. Die Ursache dafür könnte die neben der schwachen Statistik für große Zeiten ein Rauschen bei der Ermittlung der x -Position des Partikels sein, da er sich in diese Richtung deutlich schneller bewegt als in y -Richtung. Die Diffusionskoeffizienten lassen sich durch Anpassung des MSD mit der Gleichung (3.30) berechnen zu:

$$\begin{aligned} D_r &= 0,02568 \text{ } \mu\text{m}^2\text{s}^{-1} \\ D_x &= 0,03064 \text{ } \mu\text{m}^2\text{s}^{-1} \\ D_y &= 0,02072 \text{ } \mu\text{m}^2\text{s}^{-1} \end{aligned}$$

Der Fehlerbalken in der rechten Grafik von Abbildung 5.10 stellt den Standardfehler ζ des arithmetischen Mittels dar und wird berechnet mit

$$\zeta(MSD(t)) = \frac{\zeta}{\sqrt{n}} \quad (5.5)$$

wobei n die Anzahl der Trajektorien ist. Die schraffierte Fläche zeigt die gewichtete Standardabweichung. Es zeigt sich, dass der Fehler bei der Berechnung des MSD ab einer Zeit von $t = 5$ s überproportional ansteigt. Für die Messungen in reinem TAP Medium ($\eta = 1,15$ mPas) ist allerdings die Anzahl der Datensätze klein und auch die Aufzeichnungsdauer gering, weshalb die Statistik bei den Messungen in CR

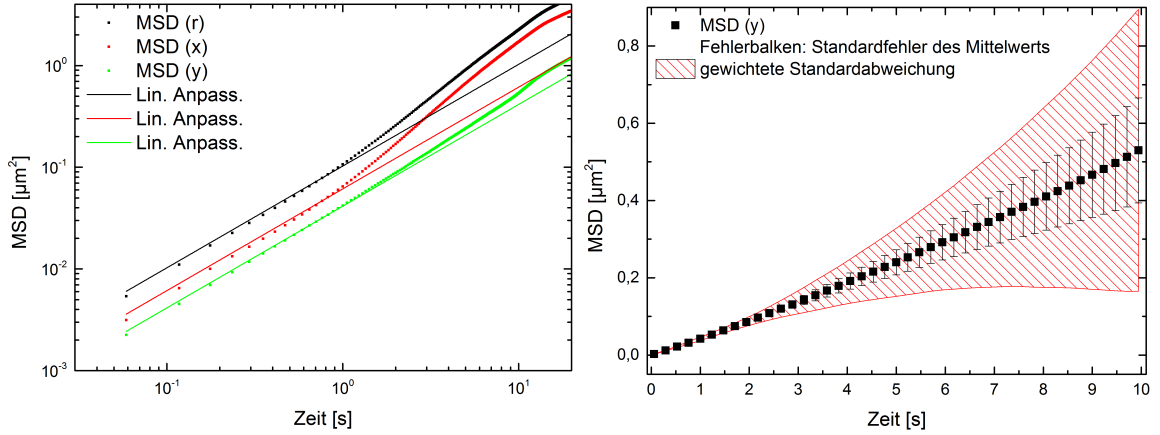


Abb. 5.10: Links: MSD in x - und y -Richtung einer Mikrosphäre aufgetragen gegen die Zeit. Außerdem ist das zweidimensionale MSD eingetragen. Lineare Anpassungen dienen der Berechnung der Diffusionskoeffizienten. Rechts: Fehlerdarstellung zur Berechnung des MSD. Die Fehlerbalken stellen Standardfehler des arithmetischen Mittels der MSD Bildung aus den verschiedenen Trajektorien dar. Die schraffierte Fläche zeigt die gewichtete Standardabweichung.

Suspensionen robuster ist. Man kann bei den folgenden Messungen also mit der nötigen Vorsicht bei der Interpretation einen Bereich bis ungefähr $t = 10$ s betrachten. Zum Vergleich der Messwerte kann man die Diffusionskoeffizienten eines Partikels im Größenbereich der für diese Messungen genutzten Mikrosphäre mit der Gleichung (3.33) bestimmen. Da sowohl der Temperaturbereich als auch der Radius der Mikrosphären Schwankungen beziehungsweise Fertigungstoleranzen unterliegt zeigt die folgende Abbildung die zu erwartenden Diffusionskoeffizienten in einem Temperaturbereich von $T = 23,5^\circ$ bis $26,5^\circ$ und einem Kugelradius von $r = 9 \mu\text{m}$ bis $r = 12 \mu\text{m}$. Die zur Berechnung notwendigen Viskositätswerte für Wasser wurden aus der Gleichung (3.9) bestimmt.

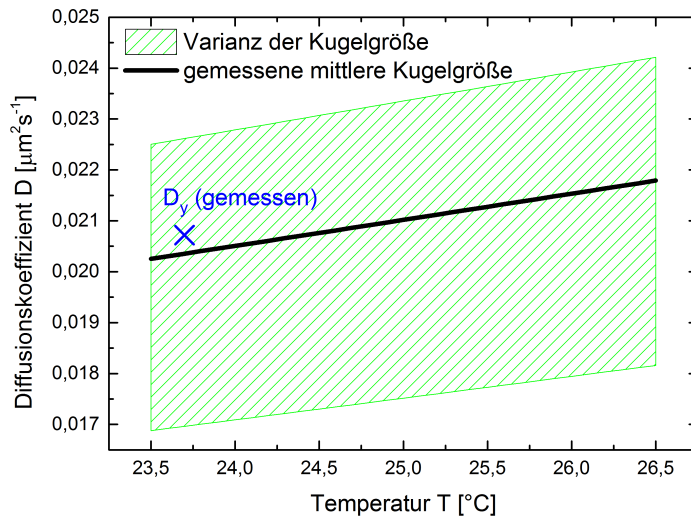


Abb. 5.11: Berechneter Diffusionskoeffizient D_E für sphärische Partikel im Radienbereich $9 \mu\text{m}$ bis $12 \mu\text{m}$ (grün schraffiert) in einem Temperaturintervall von $T = 23,5^\circ$ bis $T = 26,5^\circ$. Die schwarze Linie ergibt den aus Gleichung (3.33) bestimmten Diffusionskoeffizienten für den Mittelwert des optisch gemessenen Kugelradius an. Das blaue Kreuz gibt den aus MSD(y) und Gleichung (3.30) bestimmten Diffusionskoeffizienten an.

Die Abbildung 5.11 verdeutlicht, dass das in dieser Arbeit genutzte Messsystem im Rahmen der erreichbaren Messgenauigkeit für die Größenordnungen der genutzten Partikel geeignet ist und den Anforderungen für die folgenden Messungen mit CR Suspensionen erfüllt.

5.2.2 Bestimmung der Diffusionskoeffizienten von Kugeln in *Chlamydomonas reinhardtii* Suspensionen

Nachdem das Messsystem mit den Messungen von Trajektorien und Diffusionskoeffizienten von Mikrosphären in TAP Medium charakterisiert wurde, folgten Messungen von Kugeln in CR Suspensionen.

Die Abbildung 5.12 zeigt eine Mikrosphäre in einer dreiprozentigen CR Suspension aufgenommen während der Aufzeichnung der Trajektorie. Man erkennt deutlich die um die Kugel schwimmenden CR. Bei diesen Messungen gibt es natürlich auch Kontakte und Stöße zwischen den Zellen und der Kugel. Diese Interaktionen und die Änderungen im Flussfeld durch vorbei schwimmende CR führen zu Translationen der Kugel, die mittels des im Abschnitt 4.4 beschriebenen Particle Tracking Verfahrens detektiert wurden.

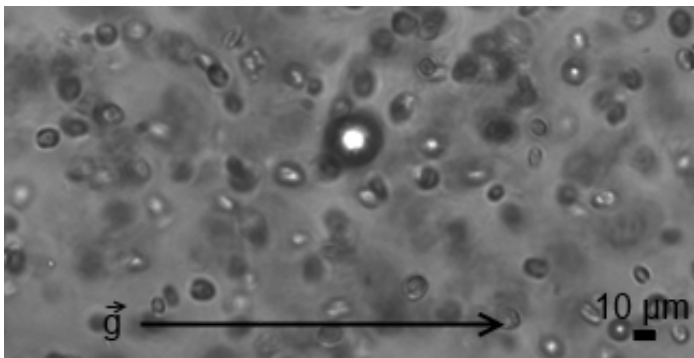


Abb. 5.12: Eine Kugel mit 20 μm Durchmesser in einer dreiprozentigen CR Suspension

Die Abbildung 5.13 zeigt beispielhaft eine Trajektorie einer Mikrosphäre in einer CR Suspension. Man erkennt, dass es einen Drift in die negative y -Richtung gibt. Dies ist einer Verkipfung der Kamera zuzuordnen und man kann mit einer linearen Anpassung von $y(x)$ einen Drehwinkel ermitteln. Im nächsten Schritt kann man über eine Drehung des Koordinatensystems die Trajektorien korrigieren.

Zur Korrektur der Trajektorien wird wie in Abschnitt 4.4 beschrieben das Koordinatensystem gedreht und die Sedimentationsgeschwindigkeit subtrahiert. In Abbildung 5.14 wird das Ergebnis der Korrektur dargestellt.

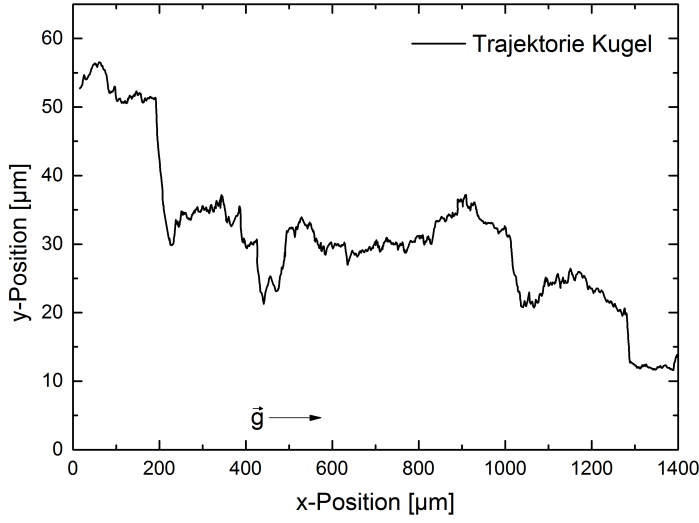


Abb. 5.13: Beispiel einer Trajektorie einer Mikrosphäre in einer CR Suspension mit einer Volumenkonzentration von $\phi = 0,006$.

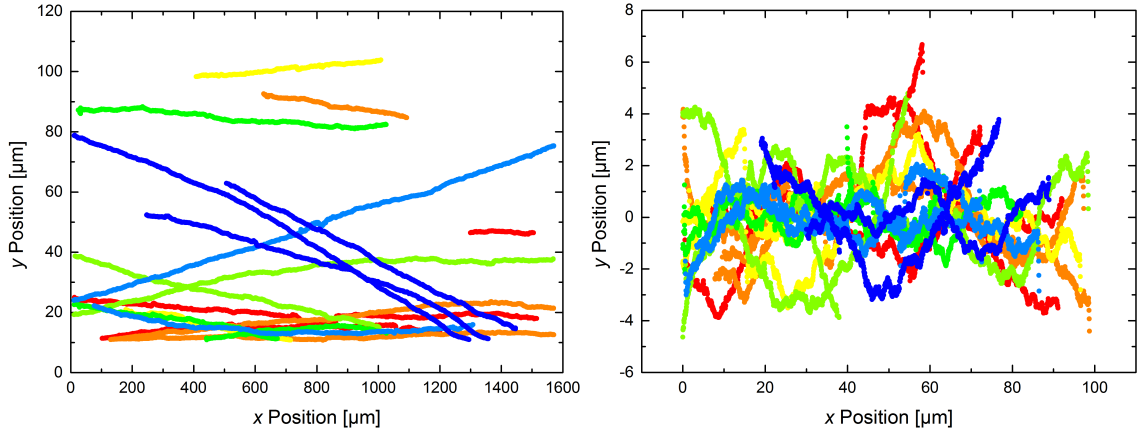


Abb. 5.14: Links: Trajektorien von Kugeln in einer CR Suspension mit einer Volumenkonzentration von $\phi = 0,0007$. Man erkennt die Verkipfung einzelner Trajektorien gegenüber der angenommenen Gravitationsrichtung (x -Richtung). Rechts: Die Trajektorien aus der linken Abbildung wurden korrigiert.

Eine wichtige Messgröße ist die Sedimentationsgeschwindigkeit der Kugeln in Abhängigkeit der CR Konzentration. Diese ist für passive Kolloidsuspensionen gut erforscht und als Funktion der Volumenkonzentration ϕ beschrieben. Ein oft genutztes Modell findet sich in der Referenz [119], wo die Sedimentation von Kugeln in einem stationären Fluid untersucht wurde. Bis auf die Aktivität der Mikroschwimmer existiert eine prinzipielle Ähnlichkeit mit den in dieser Arbeit durchgeführten Experimenten.

Nach der Referenz [119] kann man für die mittlere Sedimentationsgeschwindigkeit einer Kugel mit kleiner Reynoldszahl schreiben:

$$v_x(\phi) = v_{x,0} \cdot (1 - \phi)^5 \quad (5.6)$$

Dabei ist $v_{x,0}$ die Sedimentationsgeschwindigkeit einer einzelnen Kugel im Medium.

In der Abbildung 5.15 wird gezeigt, dass trotz der großen Varianz der Geschwindigkeit eine gute Übereinstimmung mit einem theoretischen Modell nach den Referenzen [120] und [119] erzielt werden kann. In den zitierten Studien wurden keine Suspensionen von Mikroschwimmern sondern Kolloidsuspensionen bestehend aus passiven Partikeln untersucht. Man kann festhalten, dass die Sedimentationsgeschwindigkeit von Kugeln in CR Suspensionen in den betrachteten Konzentrationen in der gleichen Größenordnung von passiven Kolloidsuspensionen liegen und das Verhalten qualitativ vergleichbar ist. Für höhere Konzentrationen wird der Unterschied der Messwerte zu den mit der Gleichung (5.6) berechneten Werten allerdings größer. Die Fluktuation der Geschwindigkeiten, die aus der Standardabweichung der Geschwindigkeitsverteilung ersichtlich wird, lässt sich wahrscheinlich auf die unterschiedliche Beschaffenheit einzelner Kugeln zurück führen.

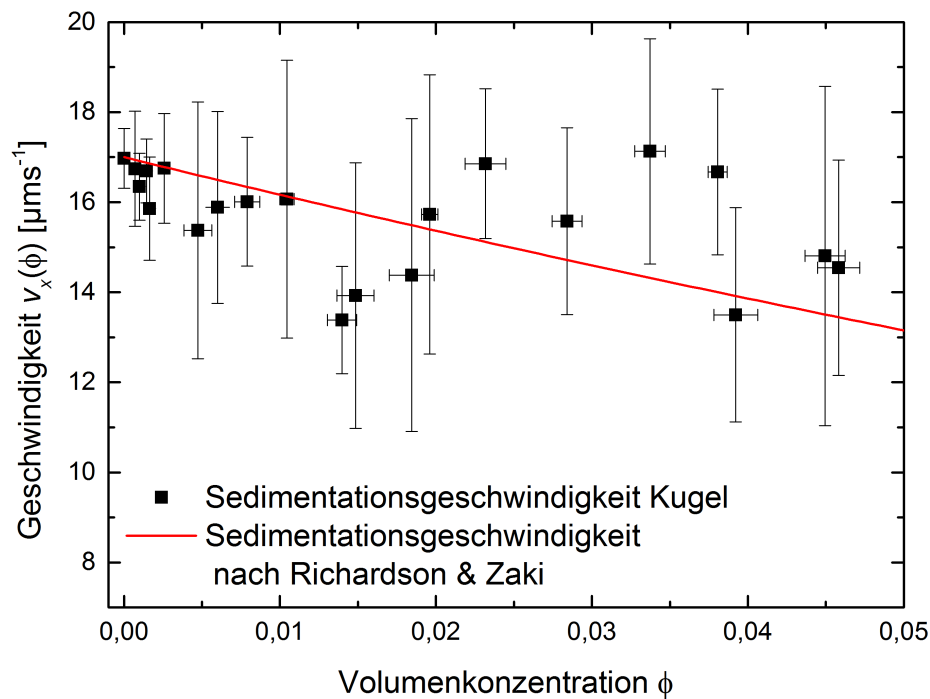


Abb. 5.15: Sedimentationsgeschwindigkeiten einer Mikrosphäre in CR Suspensionen mit verschiedenen Volumenkonzentrationen. Eingezeichnet ist eine Funktion nach Gleichung (5.6) mit $v_{x,0} = v_x(0) = 17 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$. Die vertikalen Fehlerbalken stellen die Standardabweichung der Geschwindigkeitsverteilung dar, die horizontalen den Fehler bei der Bestimmung der Volumenkonzentration.

In der Abbildung 5.16 sind beispielhaft einige MSD(y) der Kugeln in CR Suspensionen für verschiedene Konzentrationen aufgetragen. Die beiden eingezeichneten Geraden dienen der Orientierung und zeigen einen linearen Zusammenhang und ein Potenzgesetz mit dem Exponenten $\sigma = 1,5$. Man sieht deutlich, dass, speziell für längere Zeiten, der lineare Zusammenhang das Verhalten besser beschreiben kann, wobei man allerdings die Unsicherheit in diesem Bereich berücksichtigen muss. Für kürzere Zeiten $t < 2 \text{ s}$

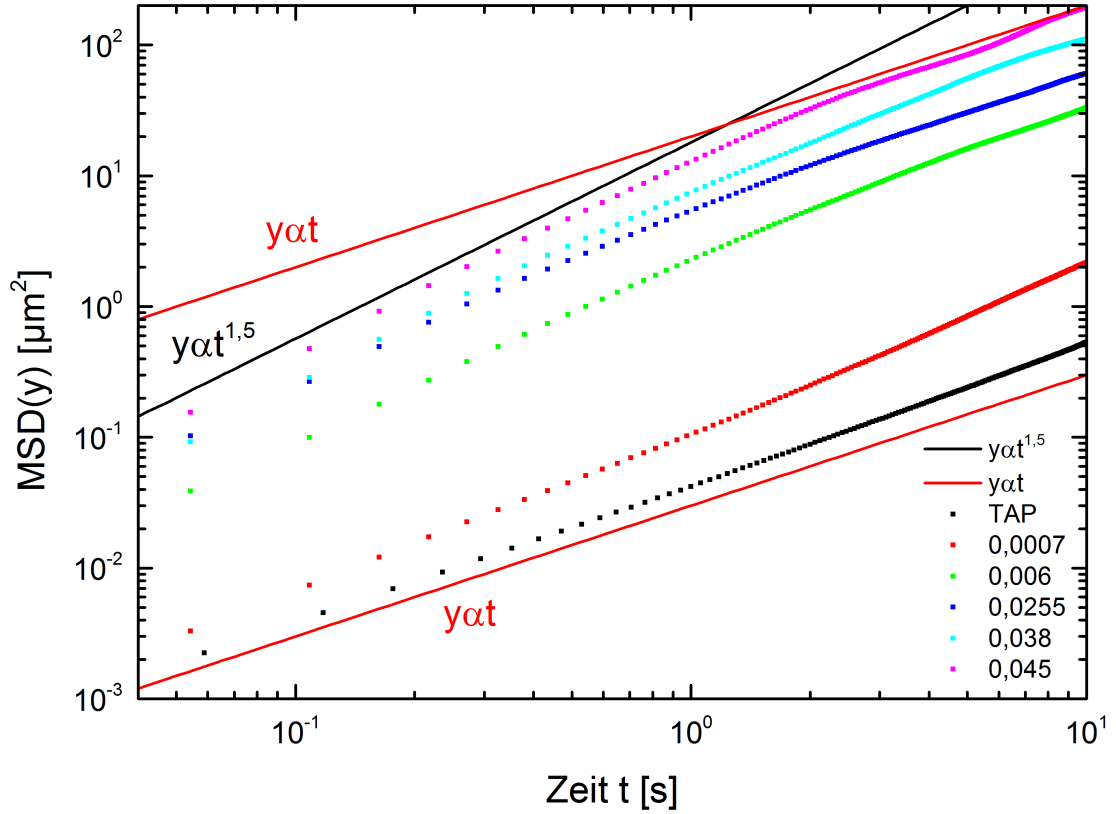


Abb. 5.16: Doppelt-Logarithmischer Auftrag des MSD in y -Richtung von Kugeln in CR Suspensionen verschiedener Volumenkonzentrationen in verschiedenen Farben für einen Zeitraum von $t = 10$ s. Die roten Linien zeigen Orientierungslinien für lineares Verhalten, die schwarze Linie zeigt ein Potenzgesetz mit dem Exponenten $\sigma = 1,5$.

können die meisten MSD durch das Potenzgesetz mit dem Exponenten $\sigma = 1,5$ besser beschrieben werden. Somit kommt man in den Bereich der anomalen Diffusion, genauer Superdiffusion.

In der Abbildung 5.17 wird beispielhaft ein MSD Datensatz für die Volumenkonzentration $\phi = 0,0028$ herausgegriffen und anhand dessen gezeigt, wie die einzelnen MSD Kurven analysiert werden. Die Datenpunkte werden für die Anpassungen nach Anzahl der zur Berechnung des Datenpunkts dieses Zeitintervalls verwendeten Einzelmessungen gewichtet. Es wird zunächst die Übergangszeit von einem Diffusionsregime in das nächste identifiziert, indem verschiedene Potenzgesetzanpassungen durchgeführt werden. Der zweite Abschnitt für die längeren Zeiten muss auf Grund der Fehlerdarstellung in der Abbildung 5.10 mit Vorbehalt betrachtet werden.

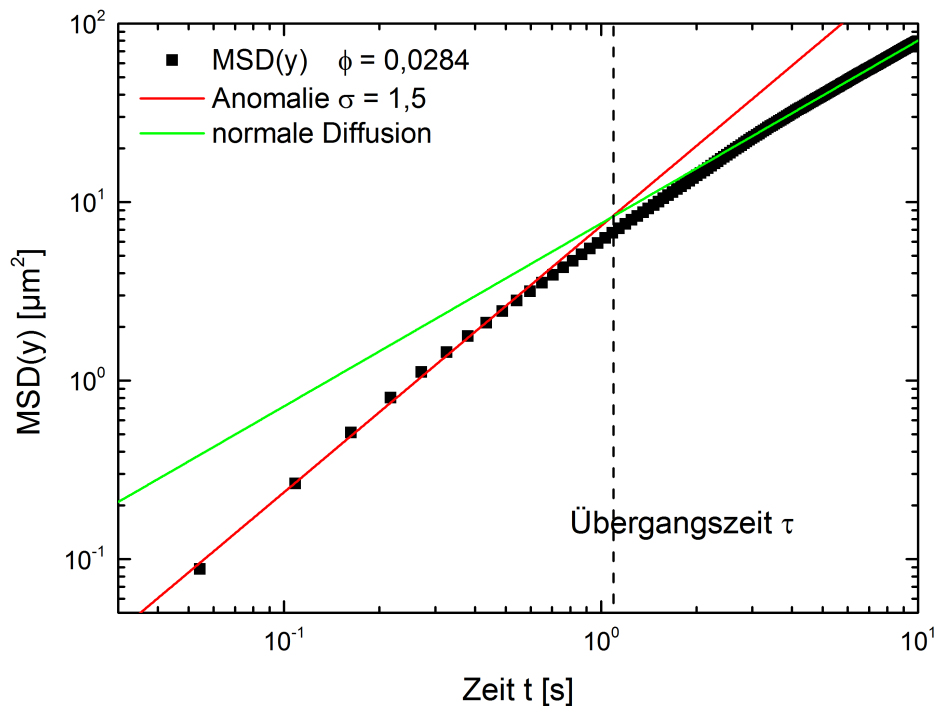


Abb. 5.17: Beispiel eines MSD Datensatzes für eine Volumenkonzentration $\phi = 0,0028$. Es ist eine Anpassung mit einem Potenzgesetz (rot) und eine lineare Anpassung (grün) für die beiden verschiedenen Diffusionsregime eingezeichnet.

In der Abbildung 5.18 werden die Ergebnisse aus der Anpassung des MSD in y -Richtung mit der Gleichung

$$\langle y^2(t) \rangle = 2 \cdot D_\sigma \cdot t^\sigma \quad (5.7)$$

gezeigt für die beiden Diffusionsregime gezeigt. Man erreicht für die meisten Konzentrationen mit Gleichung (5.7) eine gute Anpassung, deren Werte in Abbildung 5.18 nochmals genauer gezeigt werden. Die Anomalie σ zeigt im ersten Abschnitt für kleine Konzentrationen zunächst einen Wert $\sigma < 1,5$, stabilisiert sich für höhere Konzentrationen auf einem Wert von $\sigma = 1,5$. Im zweiten Abschnitt geht das System zur normalen Diffusion über. Man kann dabei den linearen Anteil der Diffusion, wie in der Referenz [41, 121] beschrieben, als eine Art thermische Diffusion mit einer Effektivtemperatur ansehen. Bei den niedrigen Volumenkonzentrationen $\phi < 0,0028$ verhalten sich die dort identifizierten zwei Diffusionsregime zunächst umgekehrt im Bezug auf die Anomalie der Diskussion. Dort ist für kurze Zeiten eine Anomalie von $\sigma < 1,25$ ermittelbar und für längere Zeiten oberhalb einer Sekunde eine Anomalie von $\sigma < 1,5$.

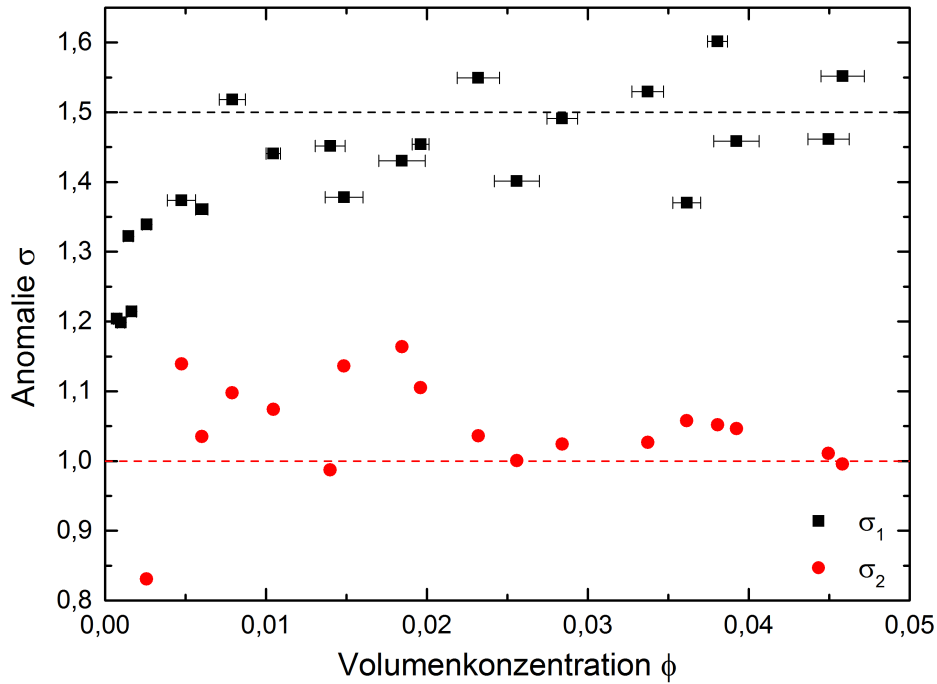


Abb. 5.18: Anomalien σ_i in Abhängigkeit der Volumenkonzentration ϕ . Es sind Linien für $\sigma = 1$ und $\sigma = 1,5$ eingezeichnet.

Eine weitere Möglichkeit der Beschreibung des Systems ist es, einen zeitabhängigen Diffusionskoeffizienten anzunehmen. Dieses Vorgehen wird genutzt um Diffusionskoeffizienten eines Systems mit „Gedächtnis“, in dem die aktuelle Bewegung von der Vorgeschichte abhängig ist, zu beschreiben. [88] Dafür müssen kollektive Effekte im System existieren.

Man kann ein Modell annehmen, in dem zwei Zeitskalen existieren, wobei eine die Stöße der CR an der Kugel beschreibt. Diese typische Zeit soll mit t bezeichnet werden. Eine andere typische Zeit τ hingegen beschreibt das Verhalten beim gerichteten Transport, der im Prinzip in der Betrachtung langer Zeiten eine stochastische Kraft darstellt, auf dessen Zeitskala jedoch durch die Richtung eine höhere Wahrscheinlichkeit existiert, dass für eine bestimmte Zeit, in Größenordnungen von ein bis zwei Sekunden, die Richtung des Transports beibehalten wird. In dieser Betrachtung ist die Bewegung auf τ also von der Vorgeschichte abhängig. [88, 122]

Für Sedimentationsprobleme in passiven Kolloidsuspensionen wird oft ein zeitabhängiger Diffusionskoeffizient genutzt. [122] Dieser wurde für die in dieser Arbeit durchgeführten Messungen heuristisch hergeleitet und ist ähnlich der Anpassungsfunktion, die in Referenz [41] genutzt wurde. Die Anomalie der Diffusion, die bei den hier vorgestellten Messungen nicht im ballistischen Bereich liegt, erfordert eine Anpassungsfunktionen, die diesem Fakt Rechnung trägt:

$$D(t) \equiv D_0 \left[1 - \exp \left(- \left(\frac{t}{\tau} \right)^{\sigma^*} \right) \right] = \frac{\langle y^2 \rangle}{2t} \quad (5.8)$$

Hier ist σ^* vergleichbar mit $1 + \sigma_1$ (siehe Abbildung 5.18).

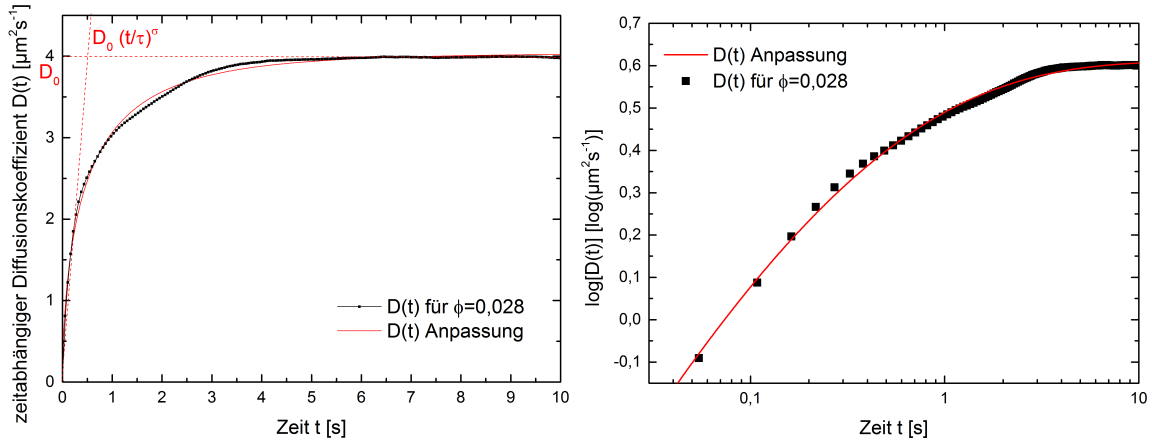


Abb. 5.19: Links: Beispiel der Anpassungsfunktion (5.8) für eine Kugel in einer CR Suspension von $\phi = 0,028$. Die Langzeitasymptote ergibt den Wert für D_0 , die Kurzzeitasymptote ist mit der Zeit τ assoziiert. Rechts: Der gleiche Datensatz in einer logarithmischen Skala.

Die Anpassung des zeitabhängigen Diffusionskoeffizienten mit der Gleichung (5.8) ergibt einen linearen Diffusionskoeffizienten D_0 , der in einer mit den vorherigen Auswertungen bestimmten Diffusionskoeffizienten vergleichbaren Größenordnung liegt. Die Anpassung liefert auch die Zeit τ , die man als typische Zeit Übergangszeit von kollektiven Effekte zu normaler Diffusion interpretieren kann. Da bei kleinen Volumenkonzentrationen, wie in der Abbildung 5.16 ersichtlich, der Bereich normaler Diffusion nicht erreicht wird, divergiert τ für diese ϕ .

In Abbildung 5.20 ist der zeitabhängige Diffusionskoeffizient $D(t) = \langle y^2 \rangle / 2t$ gegen die Zeit aufgetragen. Man erkennt, dass die $D(t)$ nach wenigen Sekunden gegen die Langzeitasymptoten D_0 streben und sich somit eine normale Diffusion einstellt. Lediglich für die beiden höchsten Konzentrationen ändert sich der Verlauf von $D(t)$. Dies könnte auch auf Grund des großen Abstands zu den niedrigeren Werten in einer unzureichenden Statistik begründet sein. Die Form des zeitabhängigen Diffusionskoeffizienten ist ähnlich den Ergebnissen in Referenz [122]. Dort wurden die Asymptoten von $D(t)$ bestimmt. Auch in den erzielten Ergebnissen strebt $D(t)$ zu einer Langzeitasymptote D_0 , die meist bereits ab $t = 1$ s bis $t = 1,5$ s das Verhalten für die längeren Zeiten wiedergeben kann. Ein ähnliches Verhalten wird in Referenz [122] für Zeiten $t > 6$ s mit passiven Partikeln beobachtet. Die Gleichung (5.9) gibt die Zeit der mittleren freien Wegstrecke (MFW) einer CR Zelle mit der Geschwindigkeit v_{CR} in Abhängigkeit der Volumenkonzentration ϕ an.

$$\tau_{MFW} = \frac{r_{CR}}{v_{CR}} \left(\frac{\frac{4}{3}\pi}{\phi} \right)^{1/3} \quad (5.9)$$

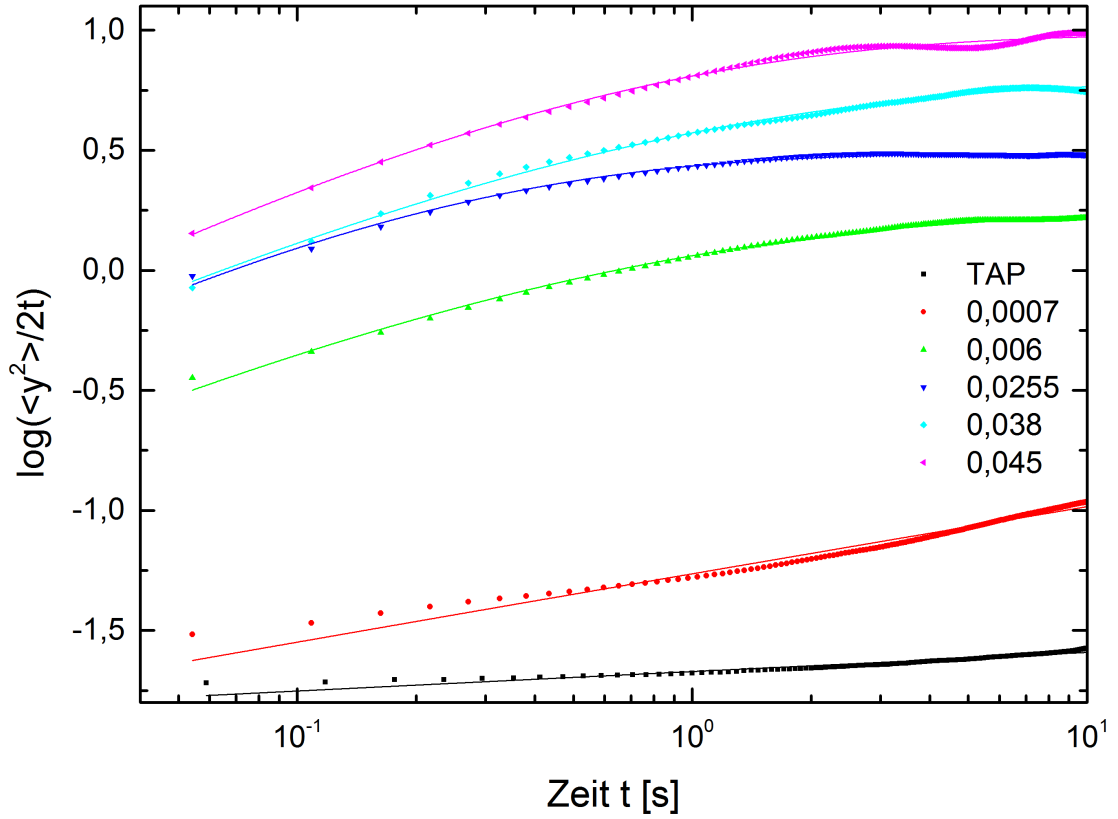


Abb. 5.20: Zeitabhängiger Diffusionskoeffizient $D(t)$ für verschiedene Volumenkonzentrationen mit Anpassung nach Gleichung (5.8)

In Abbildung 5.21 werden der aus der Gleichung (5.8) bestimmte Langzeitgrenzwert D_0 der Diffusion und die Übergangszeit τ gezeigt. Anhand des eingezeichneten Potenzgesetzes mit dem Exponenten $2/3$ erkennt man dass sich D_0 mit der Volumenkonzentration ϕ erhöht. Diese Exponent lässt sich über die Fluktuation des Geschwindigkeitsfelds von Dipolschwimmern herleiten (siehe 8.3). [123]. Ein lineare Anpassung liefert ebenfalls eine gute Übereinstimmung und wird von anderen Referenzen für aktive Suspensionen vorhergesagt beziehungsweise gemessen. [41, 44, 124]

Bei der Übergangszeit τ kann man festhalten, dass die Werte aus der Anpassung 5.8 genauso wie die theoretischen Werte bestimmt aus 5.9 für kleine ϕ divergieren, liegen tendenziell jedoch über den Werten aus der Anpassungsfunktion. Aus der Herleitung in Abschnitt 8.3 erhält man ebenfalls die Beziehung $\tau \propto \phi^{-2/3}$.

Die Anomalie $\sigma^* + 1$ steigt von dem Wert $\sigma^* + 1 = 1,05$, welcher sich nur wenig von normaler Diffusion unterscheidet auf einen Wert von circa $\sigma^* + 1 = 1,4$. Das bedeutet, dass man bei Verringerung der Volumenkonzentrationen letztendlich, wie zu erwarten wäre nur noch normale Diffusion in der Suspension vorfindet. Bei Erhöhung der Volumenkonzentration erreicht man bereits bei $\phi = 0,005$ den Wert, der auch für höhere Volumenkonzentrationen die Anomalie des Systems beschreibt.

Die Gleichung (5.10) stellt eine phänomenologische Beschreibung des Systems dar. [123] Sie entstammt der Überlegung was für einen hydrodynamischen Einfluss ein

Dipolschwimmer an einer gewissen Position auf dem Aufenthaltsort eines passiven Partikels hat. Wenn man diese Überlegung ausdehnt auf eine gleichverteilte Menge an Dipolen, kann man das n -te Moment der Geschwindigkeitsfluktuation berechnen. Mit geometrischen Überlegungen und die Symmetrie des Systems ausnutzend erhält man dann zusammen mit der Annahme das ein Prozess ähnlich des brownischen Random Walk vorliegt Gleichung (5.10), die die Abhängigkeit des Quotienten D_0/τ für eine feste Geschwindigkeit der Mikroschwimmer v_{CR} von der Volumenkonzentration ϕ angibt. Die Herleitung wird im Anhang in Abschnitt 8.3 gezeigt.

$$\frac{D}{\tau} = 0,71 \cdot v_{CR}^2 \cdot \phi^{4/3} \quad (5.10)$$

In Abbildung 5.21 zeigt die aus 5.20 bestimmten Diffusionskoeffizienten $D_0(\phi)$ geteilt durch $\tau_{MFW}(\phi)$ bestimmt aus der Gleichung (5.9), die aus 5.20 bestimmten Werte von D_0 und τ als Quotient D_0/τ gegen die Volumenkonzentration ϕ aufgetragen. Außerdem ist die Funktion (5.10) aufgetragen für $v_{CR} = 50 \mu\text{ms}^{-1}$. Man erkennt, dass Gleichung (5.10) die Datenwerte nur beschreiben kann, wenn man eine höhere Geschwindigkeit v_{CR} annimmt. Für die Werte von D_0/τ_{MFW} erreicht man nur für die niedrigen Volumenkonzentrationen $\phi < 0,02$ eine gute Übereinstimmung mit Gleichung (5.10).

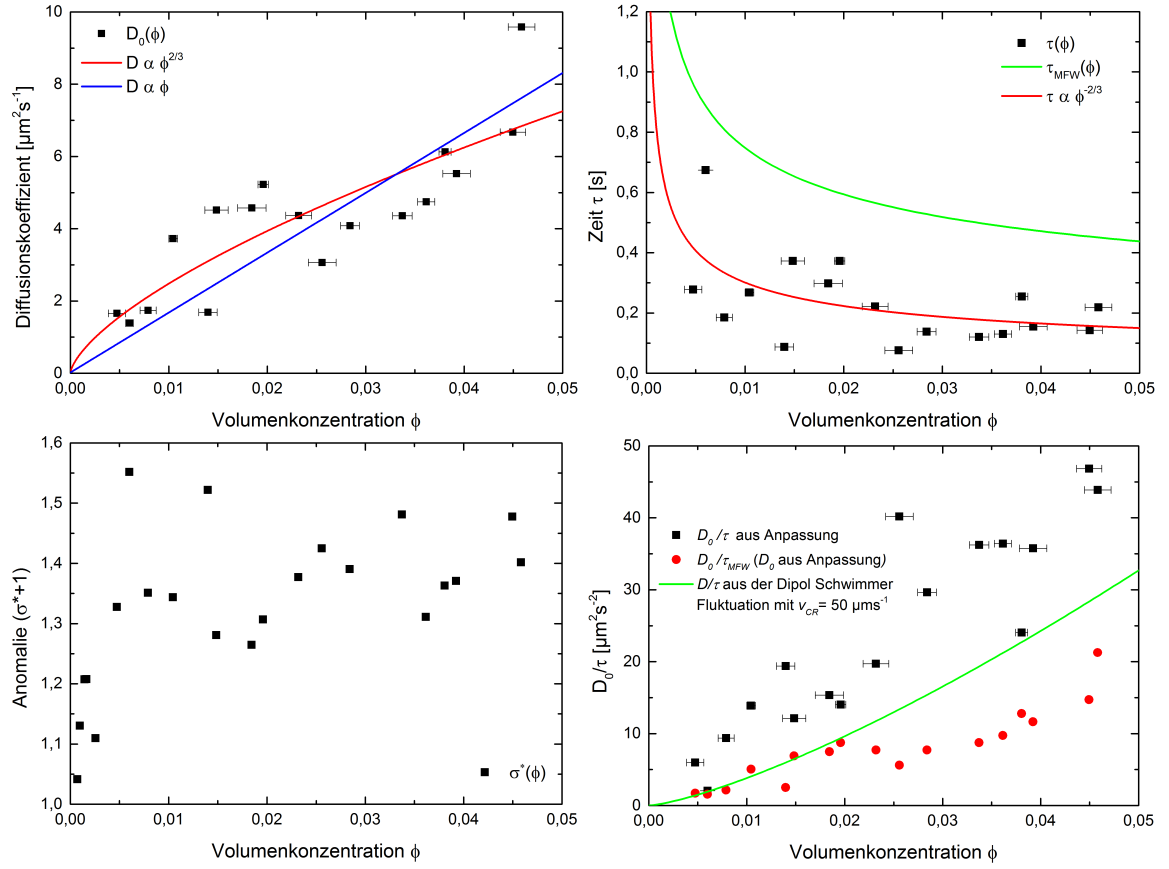


Abb. 5.21: Links oben: Langzeitasymptote D_0 aus der Anpassung von $D(t)$ mit Gleichung (5.8) aufgetragen gegen die Volumenkonzentration. Eingezeichnet ist ein außerdem als rote Linie eine lineare Anpassung. Rechts oben: Übergangszeit τ aus der Anpassung von $D(t)$ mit Gleichung (5.8) aufgetragen gegen die Volumenkonzentration. In grün die berechnete Übergangszeit τ_{MFW} berechnet mit (5.9), in rot eine Anpassung mit einem Potenzgesetz mit dem Exponenten $-2/3$ und in blau eine lineare Anpassung. Links unten: Anomalie der Diffusion gegen die Volumenkonzentration aus der Anpassung von $D(t)$ mit der Gleichung (5.8). Zur Verdeutlichung der Vergleichbarkeit mit Anomalien der Diffusion wird $\sigma^* + 1$ gezeigt. Rechts unten: Auftragung von D_0/τ auf drei verschiedene Arten. In schwarz D_0/τ entnommen aus den Anpassungen der Daten in 5.20 mit Gleichung (5.8), in rot die Werte aus der Abbildung 5.18 geteilt durch τ berechnet aus Gleichung (5.9), als grüne Linie aufgeführt die Gleichung (5.10) mit $v_{CR} = 50 \mu\text{ms}^{-1}$

5.3 Messungen mit der holografischen optischen Pinzette

In diesem Abschnitt werden Messungen von Einzelzellen in der optischen Pinzette vorgestellt. Zuerst werden Trajektorien von gefangenen CR präsentiert anschließend wird eine Auswertung der Trajektorien bezüglich der Schlagfrequenz der Flagellen und des Rotationsdiffusionskoeffizienten gezeigt.

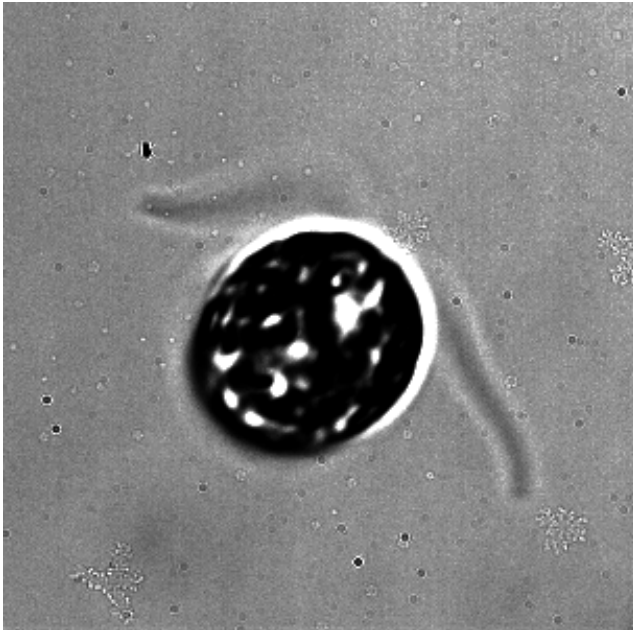


Abb. 5.22: CR Zelle in einer optischen Falle. Man erkennt Teile der inneren Struktur und eine Verkippung des Flagellenaufhängepunktes nach unten. Deshalb sind die Flagellen nur halb zu erkennen.

Die Auftragung der x - und y -Positionen zeigt, dass sich die Zelle oszillatorisch mit einer Frequenz von ungefähr $f_{CR}=0,5$ Hz um ihre eigene Achse dreht, was der helikalen Bewegung zuzuordnen ist, die bereits in Abschnitt 3.1.3 beschrieben wurde. Die Phasenverschiebung der beiden Koordinaten weist auf eine kreisförmige Bewegung hin. Der Schwerpunkt der Zelle bewegt sich, wie in Abbildung 5.23 gezeigt, ellipsenförmig um einen Mittelpunkt der nicht im Zentrum der optischen Falle liegt. Dies liegt zum Einen an der leicht elliptischen Form der Zelle, kann aber auch seine Ursache darin haben, dass nicht der geometrische Mittelpunkt der Zelle gefangen wurde sondern eine andere Struktur im Zellkörper, welche nicht im Mittelpunkt liegt. Man erkennt außerdem die Zickzackbewegung des Zellkörpers mit einer Frequenz von etwa 35 Hz die aus den Schlägen der Flagellen folgt.

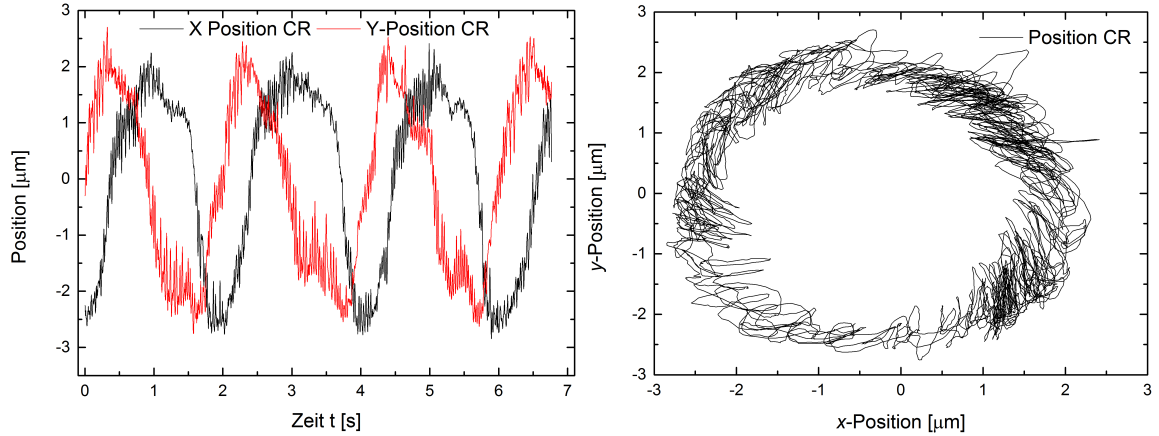


Abb. 5.23: Links: x - und y -Position von CR in einer optischen Falle. Man erkennt eine oszillatorische Bewegung mit einer Frequenz von ungefähr 0,5 Hz. Rechts: Die Trajektorie einer CR in einer optischen Falle. Die Drehung der Zelle um ihre eigene Achse erzeugt eine donutartige Form, deren Breite durch die Flagellenschläge zur Fortbewegung bestimmt ist. Man beachte die Amplituden der Bewegung im Vergleich zum Zelldurchmesser von ungefähr 10 μm .

5.3.1 Frequenzmessung an Einzelzellen

Man kann aus den Trajektorien von CR mittels einer Frequenzanalyse ein Kraftspektrum erstellen. Dieses Spektrum wird so genannt, da eine translatorische Auslenkung aus dem optischen Fallenpotential mit einer proportionalen Rückstellkraft gekoppelt ist. Dazu wurde eine Fourieranalyse der Trajektorien $x(t)$ beziehungsweise $y(t)$ durchgeführt. Zur besseren Darstellung wird eine Glättung über 20 Punkte mit einem Savatzky-Golay Filter durchgeführt. Das Betragsmaximum ist leicht zu identifizieren und kann, um die dominante Frequenz zu bestimmen, mit einer gaußschen Glockenkurve angepasst werden. [31] Dies ergibt einen genaueren Wert für die vorherrschende Frequenz der Positionssoszillation und somit des Flagellenschlags. Im Folgenden werden zusätzlich zu der aus der Abbildung 5.23 erkennbaren Frequenz der Bewegung der Zelle die Frequenzen analysiert, die dem Flagellenschlag zuzuordnen sind.

Auf Grund der schon vorher vorgestellten leichten Asynchronität beziehungsweise Desynchronisierung des Flagellenschlags der *cis*- und *trans*-Flagelle gibt es zwei Maxima im Kraftspektrum. Man kann diese jedoch nicht bei allen Messungen identifizieren. Dies liegt zum Einen an der Drehung der Zelle um die optische Achse aber auch der helikalen Drehung in der Ebene. Wenn diese Effekte zusammen fallen, ergibt sich nur ein einzelnes Maximum wie in der Abbildung 5.24 zu sehen ist.

In dieser Messung kann man die mittlere Schlagfrequenz der Flagellen bei $f_{CR} = 33,3 \text{ Hz}$ identifizieren. Es ist jedoch keine Unterscheidung der Maxima der *cis*- und *trans*-Flagelle möglich.

Eine weitere Analyse ist in der Abbildung 5.25 (links) gegeben. Hier erkennt man deutlich, dass zwei Maxima auftreten, wobei das Maximum bei einer niedrigeren

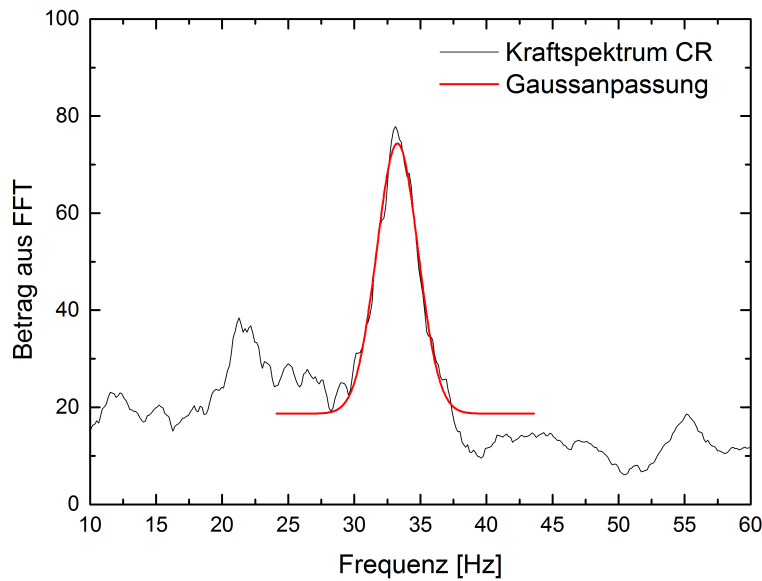


Abb. 5.24: Kraftspektrum von CR in einer optischen Falle. Das Maximum des Betrags wird mit einer Gaußkurve angepasst um die mittlere Schlagfrequenz der Flagellen zu bestimmen.

Frequenz, wie in der Referenz [23] beschrieben, eine stärkere Schlagkraft des Flagellums zeigt. Die Anpassung an eine Superposition von zwei gaussförmigen Profilen ergab die Frequenzen $f_{cis} = 33,3$ Hz und $f_{trans} = 35$ Hz. Die mittlere Frequenz liegt in dieser Messung bei $f_{CR} = 34,2$ Hz und ist damit in einem ähnlichen Bereich wie zuvor. Eine Änderung der Form des Maximums auf Grund einer Beschädigung der Zellen durch die Falle kann ausgeschlossen werden, da die Zelle direkt nach dem Einfangen aufgezeichnet wird und dies nur wenige Sekunden in Anspruch nimmt. In den meisten Fällen lassen sich die Frequenzen unterscheiden, wie Abbildung 5.25 (rechts) zeigt. Es sind zwei Maxima zu erkennen, wobei das eine bei $f_{cis} = 33,8$ Hz liegt und das andere bei $f_{trans} = 40$ Hz. Im Mittel ergibt in dieser Messung einen Wert von $f_{CR} = 36,9$ Hz, was mit den beiden zuvor analysierten CR vergleichbar ist. Die Stärke, mit der beide Flagellen zur translatorischen Bewegung beitragen, ist bei dieser Zelle auf vergleichbaren Niveau. Ein solches Verhalten deutet auf eine Phasenverschiebung der Flagellenschläge nach einer Desynchronisierung hin, wie sie in Referenz [52] geschildert wird.

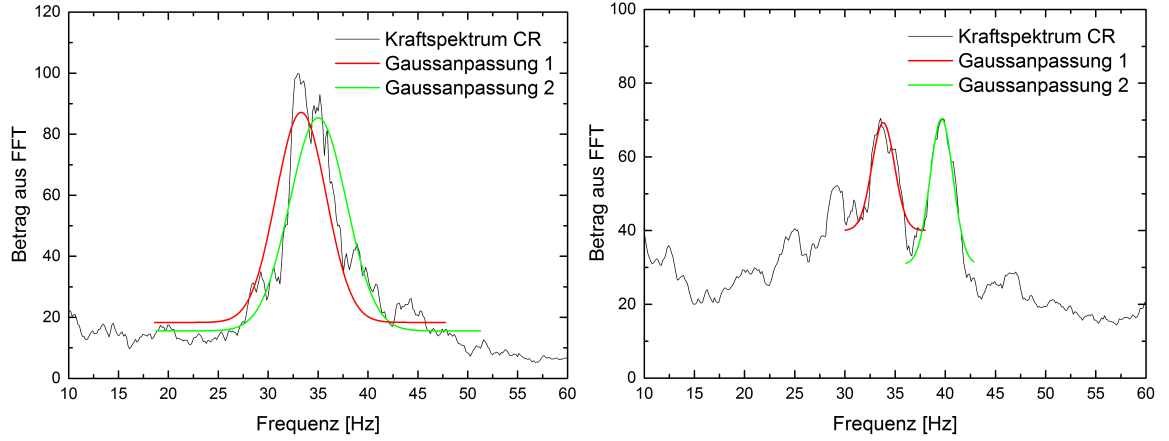


Abb. 5.25: Kraftspektren von CR in einer optischen Falle. Das hier bereits aufgesplante Maximum des Betrags wird mit zwei Gaußkurven angepasst um die Schlagfrequenzen der Flagellen zu bestimmen.

5.3.2 Bestimmung des Rotationsdiffusionskoeffizienten

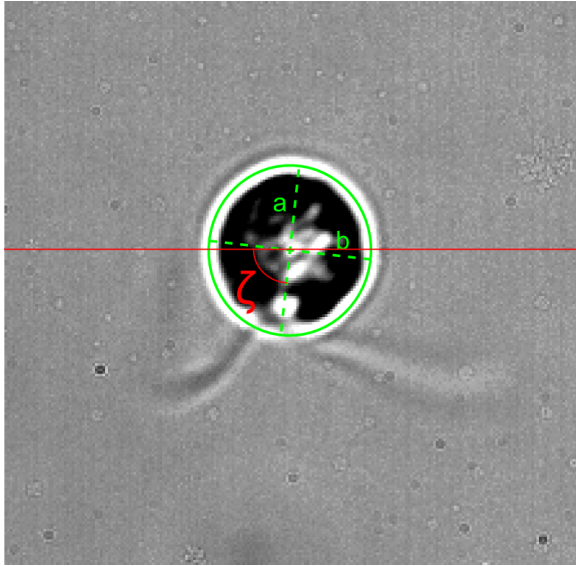


Abb. 5.26: CR Zelle in einer optischen Falle, die Achse Flagellenaufhängepunkt-Nukleus zeigt vertikal nach unten. Man erkennt die Flagellen unterhalb des Zellkörpers. Eingezeichnet ist eine Ellipse mit beiden Halbachsen zur Verdeutlichung der Auswertung dieser Messungen.

Zur Bestimmung des Rotationsdiffusionskoeffizienten wurden einzelne Zellen in der holografischen optischen Pinzette gefangen und für mehrere Sekunden bei einer Bildrate von eintausend Bildern pro Sekunde aufgenommen. Aus den Trajektorien wurden analog zu der im Abschnitt 3.4.2 vorgestellten Methode das MSAD¹

$$\langle \Delta \zeta^2(\Delta t) \rangle = [\langle \zeta(t + \Delta t) \rangle - \langle \zeta(t) \rangle]^2 \quad (5.11)$$

¹Mean Square Angular Displacement: mittlere quadratische Winkelverschiebung

berechnet mit dem Winkel ζ . Aus diesem lässt sich dann der Rotationsdiffusionskoeffizient D_R mit

$$4D_R\Delta t = \langle \Delta\zeta^2(\Delta t) \rangle \quad (5.12)$$

bestimmen ähnlich wie in der Referenz [125]. Die Abbildung 5.27 zeigt das MSAD für fünf verschiedene Zellen. Die bestimmten Werte folgen nur annähernd einer Geraden und weisen leichte Oszillationen auf. Dies kann man damit erklären, dass die Rotation der Zellen für kleinen Zeiten durch die Schwimmbewegung überlagert wird. Im vorherigen Abschnitt wurde gezeigt, dass die *cis*- und *trans*-Flagelle von CR mit leicht unterschiedlichen Frequenzen schlagen, was natürlich zu einer Rotationsbewegung des Zellkörpers führt, die diese Messung beeinflusst und zu den angesprochenen Oszillationen führen kann.

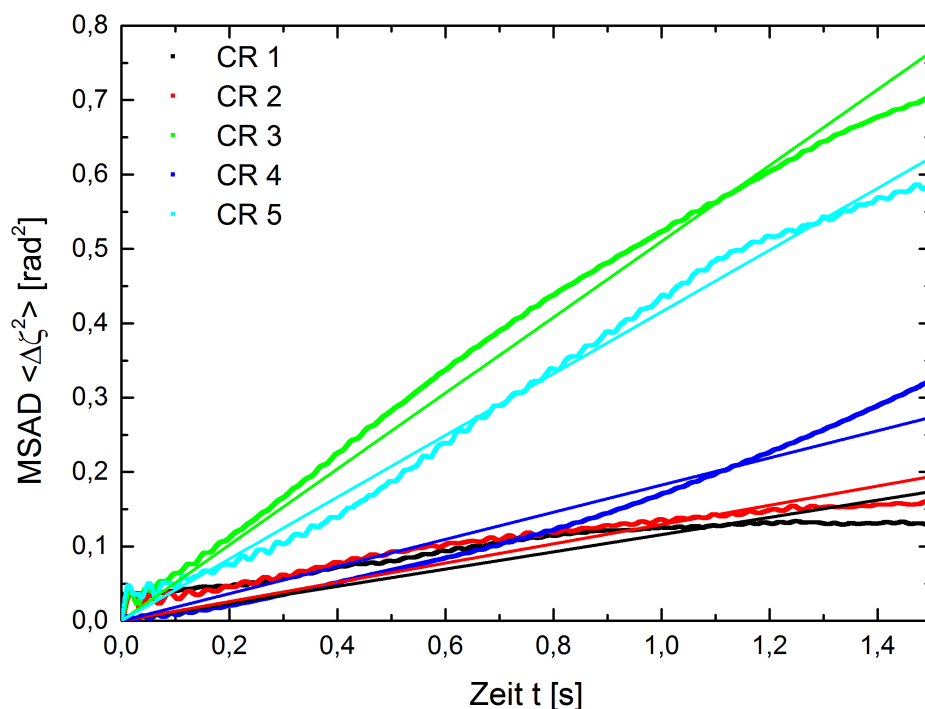


Abb. 5.27: MSAD Berechnungen für fünf verschiedene CR-Zellen jeweils für einen Zeitraum von $t=1,5$ Sekunden. Die Steigung der linearen Anpassung ergibt den Rotationsdiffusionskoeffizienten

Die leicht parabolische Form von CR4 im Speziellen und die Abweichungen des MSAD der anderen CR von einer Geraden im Allgemeinen kann man dadurch erklären, dass unterschiedliche Organellen gefangen wurden, was der Zelle eine bevorzugte Richtung der Rotation geben konnte. Es kann auch passieren, dass sich die Zelle relativ zur Falle verschob, da sie sich für kurze Zeit los reißen konnte und an einem anderen Punkt des Zellkörpers kurz danach erneut gefangen wurde.

Die gezeigten Messungen wurden aus einer Vielzahl von Messungen ausgewählt. Es lassen sich auf Grund des im Abschnitt 4.3 erläuterten Verfahrens zur Analyse der Bilder und Bestimmung des Winkels keine Messungen auswerten, in denen die Zellen

Zelle Nummer	Rotationsdiffusionskoeffizient D_R (rad ² s ⁻¹)
1	0,06
2	0,07
3	0,25
4	0,09
5	0,21
Mittelwert	0,13 ± 0,09

Tab. 5.1: Rotationsdiffusionskoeffizienten für verschiedene Zellen und der Mittelwert

zu rund sind. Ein ausreichender Unterschied in den Halbachsen ist notwendig, sonst werden diese schon bei leichten Bewegungen der Zelle nicht mehr zuverlässig erkannt und es gibt starke Änderungen in den Winkeldaten von einem Bild zum nächsten, was eine Bestimmung des Rotationsdiffusionskoeffizienten unmöglich macht.

Ein weiteres Problem ist das Fangen der Zellen selbst. Da der Fokuspunkt der Falle klein gegen das Ausmaß des Zellkörpers selbst ist, wird meist eine der Organellen gefangen. Diese sind im Zellkörper nicht starr und ein Teil der Bewegung wird unterdrückt, da die Bewegungsenergie in das Verschieben der Organelle gegen das nichtisotrope Zellinnere aufgewendet wird. Optimal für eine Messung des Rotationsdiffusionskoeffizienten wäre es, durch die Fallengeometrie eine äußere Barriere zu erstellen, statt die Zelle selbst festzuhalten. Im inneren der Zelle hat sich jedoch herausgestellt, dass das Festhalten einer der größeren Bestandteile wie Zellkern oder Pyrenoid die verlässlichsten Ergebnisse liefert.

5.3.3 Bestimmung des Rotationsdiffusionskoeffizienten von CR Zellen im Fluss

Weitere Messungen wurden mit einer zweidimensional verfahrbaren Piezobühne durchgeführt. In diesen wurde untersucht, wie sich eine CR Zelle in einer einfachen Scherung verhält. Die CR wurden hierbei in der Falle gehalten und die Bühne mit einer vorher festgelegten Geschwindigkeit im Kreis bewegt. Dazu wurde, wie in der Abbildung 5.28 gezeigt, die Bühne translatorisch in die x - und y - Richtung bewegt um dadurch eine Kreisbewegung zu ermöglichen mit:

$$\vec{r}(t) = \begin{pmatrix} x(t) \\ y(t) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} R \cos \omega t \\ R \sin \omega t \end{pmatrix} \quad (5.13)$$

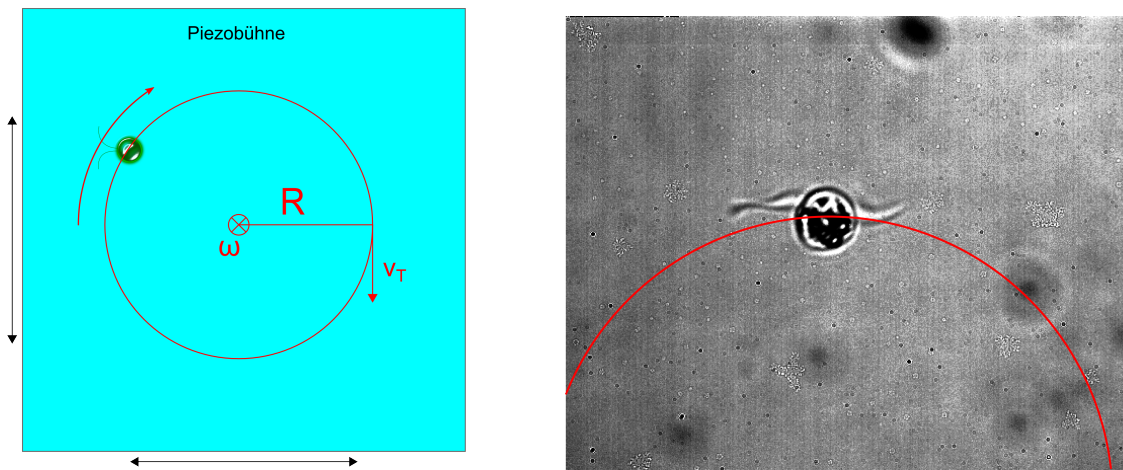


Abb. 5.28: Rechts: Skizze einer gefangenen CR Zelle in der bewegten Piezobühne. Links: Aufnahme einer CR Zelle während der Kreisbewegung

Das Fluid weiter weg vom Kreismittelpunkt bewegt sich mit einer höheren Geschwindigkeit, was zu einer effektiven Scherung führt, die an der Zelle angreift, da die Geschwindigkeit des Fluids auf Grund der Bewegung der Bühne mit konstanter Kreisfrequenz Richtung Mittelpunkt hin niedriger wird. Die tangentielle Geschwindigkeit der Kreisbewegung lag in der gezeigten Messung bei $v_r = 3,2 \mu\text{m s}^{-1}$ bei einem Radius von $R = 40 \mu\text{m}$, was eine Winkelgeschwindigkeit von $\omega = 0,08 \text{ rads}^{-1}$ ergibt. Dieser Wert entspricht der halben Winkelgeschwindigkeit einer Kegelgeometrie im Rheometer bei einer Scherrate von $\dot{\gamma} = 5 \text{ s}^{-1}$. Auf die Zelle selbst wirkt auf Grund ihrer Geometrie eine Scherrate von ungefähr $\dot{\gamma} = 0,5 \text{ s}^{-1}$ beziehungsweise wenn man einen wie in der Referenz [71] angenommenen effektiven Strömungsellipsoid mit einer Ausdehnung von $7 \cdot R_{CR}$ annimmt $\dot{\gamma} = 7 \text{ s}^{-1}$.

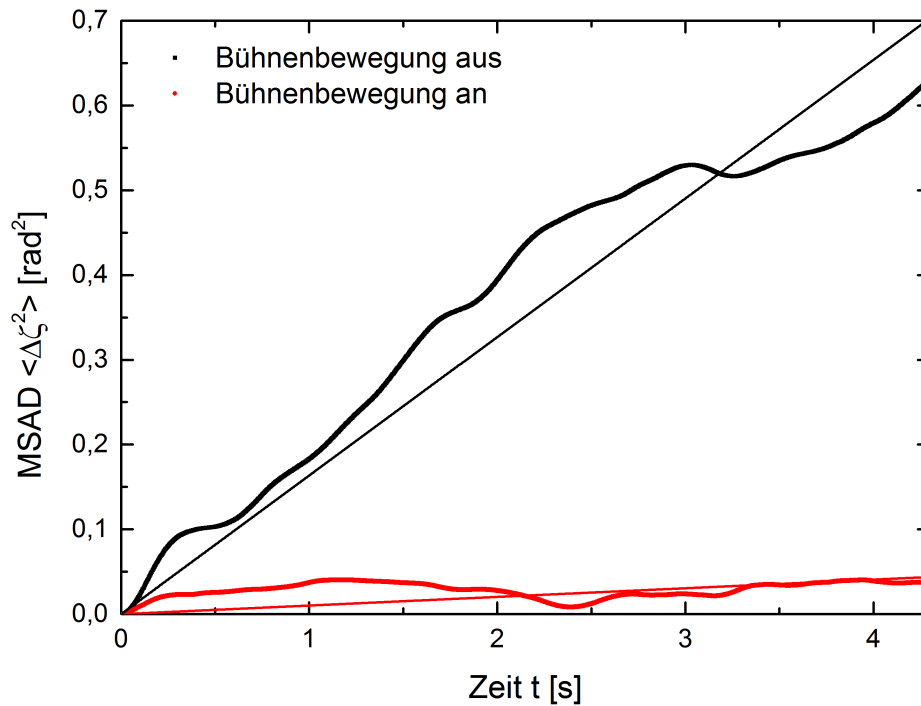


Abb. 5.29: Winkel MSD einer CR mit und ohne Bühnenbewegung. In beiden Fällen steigt das MSD zunächst für kleine Zeiten wegen der Schwimmbewegung an, ohne die Bühnenbewegung verläuft der Graph ähnlich wie zuvor gezeigt, mit eingeschalteter Bühne verschwindet der Rotationsdiffusionskoeffizient

In der Abbildung 5.29 wird das Winkel MSD einer gefangenen Zelle CR ohne äußeren Fluss und mit aktivierter X-Y Bühne gezeigt. Der Rotationsdiffusionskoeffizient ohne Fluss beträgt in dieser Messung $0,08 \text{ rad}^2\text{s}^{-1}$, wenn jedoch die x - y Bühne aktiviert und somit ein Fluss angelegt wird, verringert sich der Rotationsdiffusionskoeffizient sehr stark und beträgt nur noch $0,005 \text{ rad}^2\text{s}^{-1}$. In den Aufnahmen der Zellen (vergleiche Abbildung 5.28) erkennt man, dass sie sich nicht einfach so ausrichten, dass ihr Strömungswiderstand möglichst gering ist. Dies würde eine Ausrichtung der Zelle in Flussrichtung oder gegen die Flussrichtung sein. Sie bildet aber mit der Tangente an den Kreis der Bewegung einen Winkel zwischen 60° und 90° und stellt sich somit dem Fluss entgegen wie zuvor bereits vorhergesagt und in anderen Messverfahren gezeigt. [35, 49, 71]

6

Diskussion der Ergebnisse

Auf den folgenden Seiten werden die im vorangehenden Kapitel vorgestellten Messergebnisse im Kontext aktueller Forschungserkenntnisse diskutiert, es wird ein Zusammenhang der Ergebnisse, die auf verschiedenen Skalen gemessen wurden, hergestellt sowie Unterschiede herausgearbeitet.

6.1 Rheologische Ergebnisse

Es wurden Messungen von CR Suspensionen in Kegel-Platte und Taylor-Couette Geometrien durchgeführt. In beiden Geometrien erkennt man den gleichen Effekt, dass die Suspensionen lebender Zellen eine erhöhte Viskosität gegenüber den Suspensionen fixierter Zellen bei gleicher Volumenkonzentration aufweisen. Die Quantifizierung dieses Effekts ergibt eine Steigerung der intrinsischen Viskosität von $\alpha = 2,5$ auf einen Wert von 4,5 beziehungsweise 4,8. [58] Für passive Kolloidsuspensionen wird nach Einstein ein Wert von $\alpha = 2,5$ erwartet. [15]. Dieser Wert wurde bei Suspensionen fixierter CR gemessen.

Es wurde in früheren Arbeiten gezeigt, dass oftmals in einzelligen schwimmenden Algen das Massenzentrum nicht mit dem geometrischen Zentrum übereinstimmt und dieser Effekt, den man auch *heavy bottom swimmer* nennt, für eine Erhöhung der Viskosität verantwortlich sein kann. [126] Bei dieser Betrachtung würde die Ausrichtung durch die Bodenlastigkeit der Zelle verursacht und könnte bis zu einer gewissen Scherrate beibehalten werden. Die Ausrichtung der Algen senkrecht zur Gravitation würde durch die Beeinflussung der Vortizität des Flusses die Viskosität der Suspension selbst über den Wert für eine passive Suspension erhöhen. [35, 127, 128]

Allerdings lassen sich mit dem *heavy bottom swimmer* Modell nicht alle im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnisse erklären. Es wurde hier eine vergleichbare Erhöhung der Viskosität in einer Kegel-Platte und einer Taylor-Couette Geometrie gemessen obwohl nur in der Kegel-Platte Geometrie die Bedingungen herrschen, in

denen man das *heavy bottom swimmer* Modell nutzen kann. In einer Taylor-Couette Geometrie liegt eine abweichende Situation vor, wie in der Abbildung 6.1 erkennbar ist, ist hier der Schergradient senkrecht zur Gravitation.

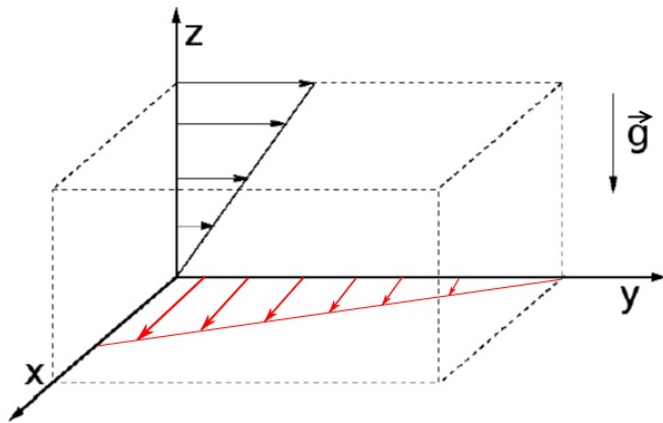


Abb. 6.1: Geschwindigkeitsfeld von Kegel-Platte Geometrie (schwarz) und Taylor-Couette Geometrie (rot). Die roten und schwarzen Pfeile zeigen die jeweiligen Geschwindigkeitsvektoren [58]

Bei einem *heavy bottom swimmer* Modell würde sich also die Zelle so ausrichten, dass die virtuelle Achse durch den Aufhängepunkt der Flagellen und den Schwerpunkt senkrecht zum Schergradienten steht. Die Zelle würde sich durch die Scherung mit einer Drehrate von $\dot{\gamma}/2$ um diese Achse drehen (vergleiche Abbildung 6.2 links), was den hydrodynamischen Widerstand auf einen Wert senken würde, der einer passiven Kugel entspricht. [49] Da dieses Ergebnis hier nicht gefunden wurde, muss man den gemessenen Effekt anders erklären. [50]

CR im Scherfluss

CR hat eine typische Persistenzzeit von $t = 2-4$ s, dann findet ein Richtungswechsel statt. Die mit einem Scherfluss von $\dot{\gamma} = 5 \text{ s}^{-1}$ assoziierte typische Zeit ist jedoch 0,2 s. Einzelzellaufnahmen im Scherfluss zeigen dass die lebende Zelle viel länger der Scherung widersteht und dann sehr schnelle Drehungen vollzieht um wieder in die gleiche Lage relativ zur Scherung zurückzukehren. Im Gegensatz dazu rotieren fixierte Zellen dauerhaft um ihre eigene Achse. [49] In Referenz [50] wird in einer numerischen Studie gezeigt, dass man durch Erhöhung und Erniedrigung der Rotationsrate eines passiven Partikels eine Erniedrigung beziehungsweise Erhöhung der effektiven Viskosität erreichen kann.

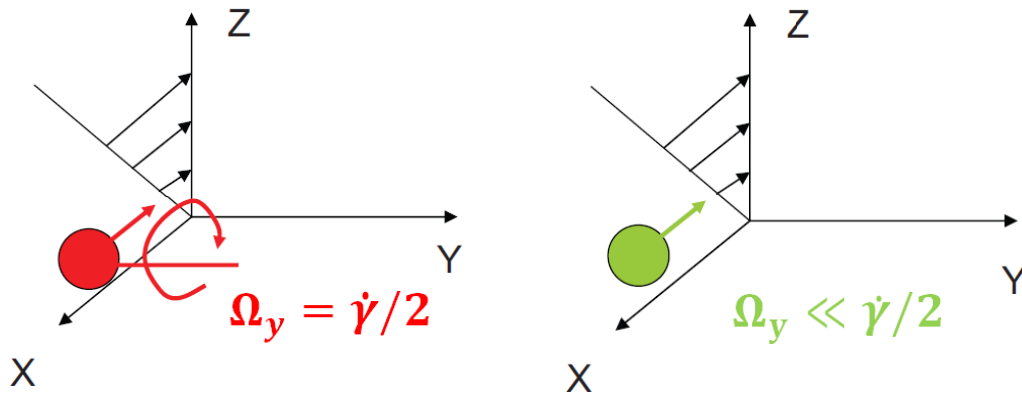


Abb. 6.2: Links: Eine fixierte Zelle rotiert im Scherfluss mit der halben Scherrate um ihre eigene Achse wie eine passive Kugel. Der gerade rote Pfeil zeigt die Bewegungsrichtung der Kugel an. Rechts: Eine lebende Zelle versucht, sich der Scherung entgegen zu stellen deshalb rotiert sie bei Scherraten von $\dot{\gamma} = 5 \text{ s}^{-1}$ nur sehr selten um ihre Achse. Der gerade grüne Pfeil zeigt die Bewegungsrichtung der Kugel an.

Taxis von CR

Es wurden im Rahmen der aus dieser Arbeit entstandenen Publikation [58] auch mikroskopische Messungen von der Mitautorin S. Rafai durchgeführt. Die Abbildung 6.3 zeigt eine Messung, bei der die Verteilungsfunktion von CR in Gravitationsrichtung und einer Richtung senkrecht zur Gravitation (horizontal) aufgenommen wurde, indem man in einer Mikrokapillare die Trajektorien mehrerer hundert Zellen über 20 Minuten ausgewertet hat. Man kann dabei keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Richtungen feststellen, nur eine leichte Asymmetrie der Verteilung ist erkennbar.

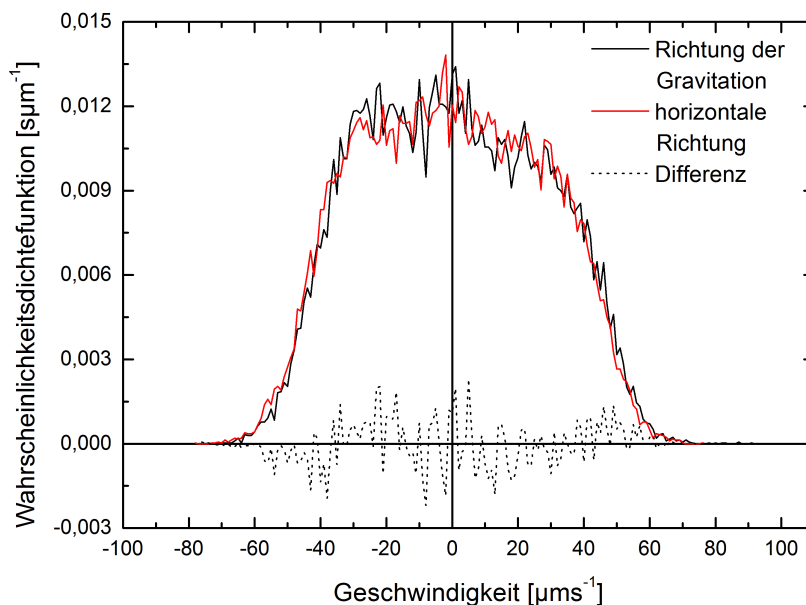


Abb. 6.3: Verteilung der Geschwindigkeiten von mehreren hundert Zellen über mehrere Minuten gemessen. Aufgetragen ist die Verteilung in Richtung der Gravitation (schwarz) im Vergleich zu einer dazu senkrechten Richtung (rot). Außerdem ist die Differenz der beiden Verteilungen (gestrichelt) aufgetragen. (modifiziert aus [58])

Zur Aufnahme der Messergebnisse in der Abbildung 6.4 wurde eine Lichtquelle rechts der Kapillare bei $x > 0$ platziert. Daraus folgt eine starke Verschiebung der Verteilungsfunktion in Richtung der Lichtquelle. Man kann aus den Abbildungen 6.4 und 6.3 schließen, dass der benutzte Stamm kein *heavy bottom swimmer* Verhalten zeigt, wohl aber phototaktisch ist.

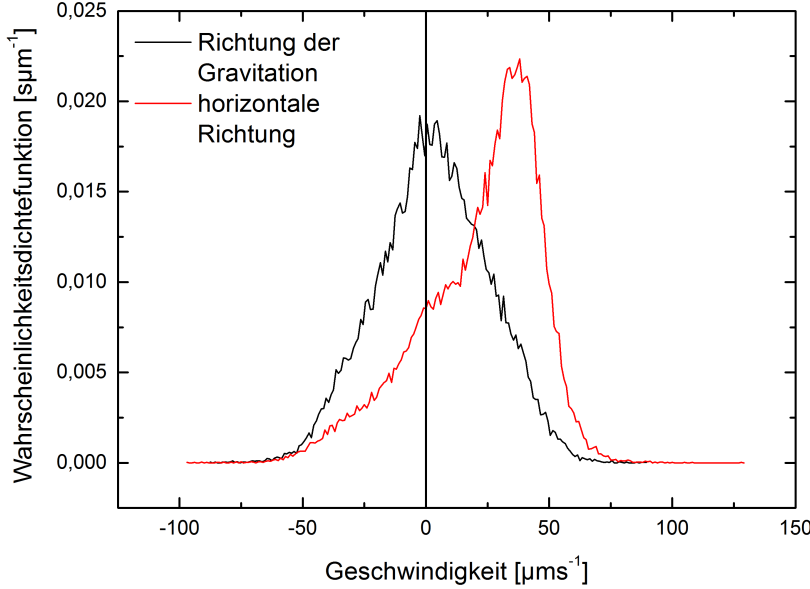


Abb. 6.4: Verteilungsfunktion der Geschwindigkeiten von CR in Richtung der Gravitation(schwarz) im Vergleich mit einer eingeschalteten Lichtquelle in einer Richtung senkrecht zur Gravitation(rot). (modifiziert aus [58])

Geometrischer Ansatz

Die vorgestellten Daten zeigen, dass die Auswirkungen der Motilität der Schwimmer auf die makroskopische Rheologie ihrer Suspensionen nicht nur eine einfache Konsequenz aus ihrer Orientierung zur Gravitationsachse ist. Viel mehr muss man die Bewegungsmechanismen der Zelle selbst auf mikroskopischer Ebene, speziell im Scherfluss, in die Betrachtung des Problems miteinbeziehen.

Einen weiteren Zugang zum Verstehen des Effekts können geometrische Betrachtungen liefern. Der Zellkörper von CR hat eine leicht ellipsoide Form, was einen Beitrag zur intrinsischen Viskosität in der Form $\alpha = 2,5 + \delta$ liefert. δ ist hier die analytische Korrektur, die aus der Präsenz asphärischer Mikroschwimmer resultiert¹. Diese Größe wurde in der Referenz [46] in einer Scherströmung hergeleitet.

$$\delta = \frac{27v_{CR}bD_rN(5\lambda^2 + 10\lambda + 2)}{10a^2(36D_r^2 + \dot{\gamma}^2)(1 + \lambda)^4}\epsilon + \mathcal{O}(\epsilon^2) \quad (6.1)$$

Es ist gegeben: Geschwindigkeit $v_{CR} \approx 50 \mu\text{ms}^{-1}$; Halbachsen $a \approx 7 \mu\text{m}$ und $b \approx 7,7 \mu\text{m}$, daraus $\epsilon = (b/a) - 1 \approx 0,1$; $(1 + \lambda)/b$ ist die Distanz des geometrischen Zentrums vom Kraftangriffspunkt mit $\lambda \approx 0,75$; die von den Flagellen ausgeübte Kraft ist $f = 6\pi\eta bNv$ mit der skalaren Funktion N , die den Zugkraftkoeffizienten reskaliert

¹ $\delta < 0$ für *pusher*, $\delta > 0$ für *puller*

und nach [46] mit $N = 0,5$ gewählt wird; die Scherrate $\dot{\gamma} = 5 \text{ s}^{-1}$; der Rotationsdiffusionskoeffizient wurde in der Referenz [35] auf $D_R = 0,067 \text{ rads}^{-1}$ abgeschätzt.² Allerdings muss man hier auch erwähnen, dass dieser Rotationsdiffusionskoeffizient für *Chlamydomonas nivalis* bestimmt wurde, die als *heavy bottom swimmer* bekannt ist. Der Rotationsdiffusionskoeffizient des in dieser Arbeit genutzten CR Stamms sollte also über dem abgeschätzten Wert liegen. Mit diesen Parametern berechnet man nach Gleichung 6.1 $\delta = 0,0037$, was sehr viel kleiner als der gemessene Wert von $\delta_{\text{Kegel-Platte}} = 2,0$ beziehungsweise $\delta_{\text{Taylor-Couette}} = 2,3$. Der in Abschnitt 5.3.2 bestimmte Rotationsdiffusionskoeffizient ist ungefähr doppelt so groß wie der in der Referenz [35] abgeschätzte Wert. Wenn man mit dem gemessenen Wert die Rechnung aus dem letzten Absatz wiederholt, ergibt sich $\delta = 0,012$. Eine rein geometrische Betrachtung führt also nicht zu einer Erklärung des gemessenen Effekts.

Erklärungsansatz durch das Kraftdipolmodell

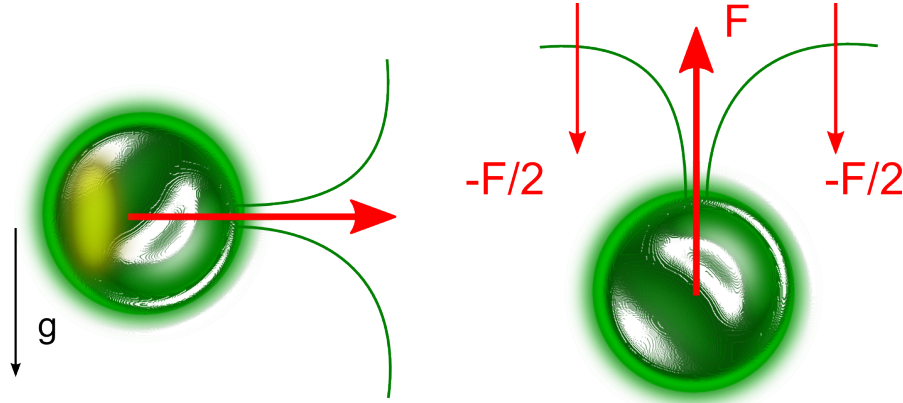


Abb. 6.5: Links: *heavy bottom swimmer* Modell, die Gravitation führt zu einer Ausrichtung des Schwimmers. Rechts: Skizze des Kraftdipolmodells mit eingezeichneten Kraftvektoren.

Einen besseren Erklärungsansatz bietet das in der Abbildung 6.5 (rechts) gezeigte und im Abschnitt 3.2.2 vorgestellte Kraftdipolmodell. In diesem Modell wird angenommen, dass ein Kraftvektor F in Richtung der Bewegung durch zwei durch die Flagellen ausgeübte Kräfte $-F/2$ ausgeglichen wird. Aus der Referenz [49] ist bekannt, dass lebende Zellen einem Scherfluss bis mindestens 10 s^{-1} widerstehen und dabei ihren Kraftvektor in einem konstanten Winkel zur Scherspannung halten. In der Referenz [71] wurde das Flussfeld einer Einzelzelle direkt gemessen (vergleiche Abbildung 3.6) und mit einem numerisch berechneten zwei und drei *Stokeslet* Modell verglichen. Die Übereinstimmung mit den Ergebnissen in der Referenz [71] sind ebenfalls ein

²zum Vergleich: der thermische Rotationsdiffusionskoeffizient für eine Kugel mit dem Durchmesser $10 \text{ }\mu\text{m}$ beträgt $D_r = 0,0013 \text{ s}^{-1}$ [35]

Indiz, dass das Kraftdipolmodell eine gute Modellierung des Systems bietet und als weiteres Ergebnis aus dieser Studie, dass das einfache *puller* Modell nur für Abstände die größer als der siebenfache Zelldurchmesser sind, zulässig ist. Da diese Studie lediglich in einem ruhenden System statt fand muss man in weiteren Experimenten auch die Auswirkungen des Scherflusses auf das hydrodynamische Flussfeld eines Mikroschwimmers untersuchen.

Die gemessene Scherverdünnung der lebenden Zellen ist mit früheren Messungen und theoretischen Vorhersagen konsistent. Eine immer schwächer werdende Scherverdünnung ist bereits in Vorhersagen in der Referenz [47] zu finden und wurde auch in der Referenz [49] gemessen.

Diskussion der Visualisierungsmessungen in der Kegel-Platte Geometrie

Ein wichtiger Punkt, der sich aus den Visualisierungsmessungen ergibt ist, dass die im Abschnitt 5.1.1 gezeigten Messungen im Bereich von $\dot{\gamma} = 1 \text{ s}^{-1} - 20 \text{ s}^{-1}$ nicht im Sekundärflußregime liegen. In den Visualisierungen der Kegel-Platte Geometrie und den aus den Sekundärflüssen folgenden Effekten kann man ebenfalls ein Indiz für das hier vorgestellte Modell sehen. In den Abbildungen 5.8 und 5.9 erkennt man ein deutlich unterschiedliches Migrationsverhalten lebender und fixierter Zellen wobei die fixierten Zellen der radial gerichteten Flusskomponente viel weniger hydrodynamischen Widerstand entgegen setzen als die lebenden Zellen, die auch hier versuchen einer auf die Drehachse gerichteten Scherung gegen die tangentielle Geschwindigkeitskomponente entgegen zu wirken.

Wenn man statt der Scherrate die daraus bestimmbare dimensionslose Kennzahl $\tilde{R}$ (siehe Gleichung (3.22)) angibt, ist kann man feststellen, dass das Sekundärflussregime bei den in dieser Arbeit durchgeführten Messungen im gleichen Bereich von $\tilde{R}$ beginnt wie in Referenz [38]. Es wurde dort gemessen, dass der Betrag des Winkels θ ab einem Wert von $\tilde{R} \approx 0,1 - 0,2$ stärker zu steigen beginnt. Bei kleinerem $\tilde{R}$ liegt er auf $\theta = 0$ und geht dann in eine Gerade höherer Steigung über. Der Winkel ist proportional zum Radius des Ringes höchster Volumenkonzentration, was erklärt warum dieser Verlauf in Abbildung 5.9 ähnlich ist. Dort beginnt der Übergang vom Zustand des Primärflusses auf das Sekundärflussregime bei $\tilde{R} \approx 0,7 - 0,8$. Da in Referenz [38] der Kegelöffnungswinkel $\epsilon = 1^\circ$ beträgt und hier ein Kegel mit $\epsilon = 2^\circ$ genutzt wird sind beide $\tilde{R}$ vergleichbar, weil ϵ laut Gleichung (3.22) quadratisch in $\tilde{R}$ eingeht. Der Wert für $\tilde{R}$ liegt bei den 15-prozentigen Suspensionen im gleichen Bereich wie bei den fünfprozentigen, da sich auch die kinematische Viskosität nur wenig unterscheidet.

Wichtiger noch im Hinblick auf die Aktivität der untersuchten Suspensionen ist der Wert der Volumenkonzentration an der Position ihres Maximums. Hier unterscheiden sich fixierte und lebende Zellen deutlich. Die fixierten Zellen haben ab dem Übergang in das Sekundärflußregime eine viel stärkere Tendenz, zum Radius höchster Volumenkonzentration zu migrieren, während die lebenden Zellen erst später beginnen in größeren Mengen radial zu migrieren. Es findet eine Scherung in radialer Richtung statt und die lebenden Zellen stellen sich laut der Interpretation der Resultate der viskosimetrischen Messungen dieser Scherung entgegen, während die Scherung durch

den Primärfluss schon über dem Wert liegt, dem CR Zellen widerstehen können. Dies liefert eine Erklärung des unterschiedlichen Migrationsverhaltens der lebenden und fixierten Zellen. Es ergibt sich auf Grund der Vergleichbarkeit der Messergebnisse für fixierte Zellen mit der Referenz [38] ein weiteres Argument für die Validität des im Abschnitt 3.2.2 vorgestellten Modells zur Beschreibung der Mikroschwimmer auf Einzelzellbasis und dessen Einfluss auf das makroskopische Verhalten von Suspensionen dieser Partikel.

6.2 Mikrorheologische Ergebnisse

Die gezeigten Messergebnisse und Auswertungen zur Dynamik sedimentierender Partikel in aktiven Fluiden führen zu komplexen Fragestellungen. Der größte Unterschied zu bisher durchgeführten ähnlichen Untersuchungen ist hierbei vor allem der größere Partikeldurchmesser und die sich daraus ergebende stärkere Sedimentation der Partikel, was einen entscheidenden Einfluss auf die Hydrodynamik des Systems hat. Im Gegensatz zu Referenz [44] existiert hier nicht nur das Flussfeld der CR Zelle, sondern auch ein Flussfeld der sedimentierenden Kugeln, deren Sedimentationsgeschwindigkeit in der gleichen Größenordnung wie die CR Schwimmgeschwindigkeit liegt, was zu einer grundlegend anderen Dynamik führt. So lässt sich die Dynamik des in dieser Arbeit untersuchten Messsystem für einen bedeutenden Zeitbereich in den Bereich der anomalen Diffusion mit einer Anomalie $\sigma > 1$ einordnen.

Sedimentationsgeschwindigkeit

Es konnte im experimentellen Teil gezeigt werden, dass die Sedimentationsgeschwindigkeit der Kugeln in CR Suspensionen mit Sedimentationsmessungen passiver Kolloidsuspensionen vergleichbar und daher mit einer Funktion des Typs (5.6) modellierbar ist. [119, 120]

Für eine Kugel, die rein gravitativer Sedimentation unterliegt, ergibt sich in einer newtonschen Flüssigkeit, dass die Sedimentationsgeschwindigkeit berechnet werden kann mit:

$$v_{x,K} = \sqrt{\frac{8}{3} \frac{(\rho_K - \rho_M)g r_K}{\rho_M C_D}} \quad (6.2)$$

mit der Dichte des Partikels ρ_K , der Dichte des Medium ρ_M , der Gravitationsbeschleunigung g , dem Radius der Kugel r_K und des Strömungswiderstandskoeffizienten C_D . Der Strömungswiderstandskoeffizient ist für Reynoldszahlen $Re < 1$ definiert als: [129]

$$C_D = \frac{24}{Re} \quad (6.3)$$

Die Dichte der Kugeln wurde vom Hersteller nicht gemessen. Da aber aus dem Datenblatt des Produkts bekannt ist, dass die Kugel aus einem Polystyrolkern mit einer Beschichtung aus Eisen(III)Oxid besteht, dessen Anteil im Mittel fünf Prozent des Volumens ausmacht, kann man mit $\rho_{Polystyrol} = 1,05 \cdot 10^3 \text{ kgm}^{-3}$ und $\rho_{Eisenoxid} = 5,24 \cdot 10^3 \text{ kgm}^{-3}$ die Dichte der Kugel zu $\rho_K = 1,25 \cdot 10^3 \text{ kgm}^{-3}$ abgeschätzt werden. Mit diesem Wert und $\rho_M = 10^3 \text{ kgm}^{-3}$, $r_K = 10^{-5} \text{ m}$ und $C_D = 2,4 \cdot 10^5$ ergibt sich aus Gleichung (6.2): $v_{x,K} = 1,65 \cdot 10^{-5} \text{ ms}^{-1} = 16,5 \text{ } \mu\text{ms}^{-1}$. Der experimentell ermittelte Wert ist $v_{x,K} = 17 \text{ } \mu\text{ms}^{-1}$. Die Kugeln haben auf Grund des Herstellungsprozesses (laut Aussage des Herstellers) keine einheitliche Dichte und Größe, wobei die Dichte ungefähr zwischen $\rho_K = 1,18 \cdot 10^3 \text{ kgm}^{-3}$ und $\rho_K = 1,31 \cdot 10^3 \text{ kgm}^{-3}$ liegt. Die Größe variiert zwischen $r_K = 9 \cdot 10^{-6} \text{ m}$ und $r_K = 1,2 \cdot 10^{-5} \text{ m}$. Dadurch kann die Kugelgeschwindigkeit bereits in Wasser zwischen $v_{x,K} = 13,4 \text{ } \mu\text{ms}^{-1}$ und $v_{x,K} = 20 \text{ } \mu\text{ms}^{-1}$ variieren. Da in den CR Messungen wesentlich länger gemessen wurde, um

eine größere Datenmenge zu erhalten, ist es möglich, dass dort wie in der Abbildung 5.15 ersichtlich eine größere Variation von Kugeln verschiedener Parameter zu einer größeren Varianz in der Sedimentationsgeschwindigkeit führt.

Phänomenologische Beschreibung der Bewegung der Kugeln

In der Abbildung 6.6 werden die verschiedenen Einflüsse der CR auf die sedimentierende Kugel skizziert. Die Ereignisse, die bei der Sedimentation auftreten, kann man grundsätzlich in direkte Kontakte, wie Stöße oder Passagen von Zellen entlang der Kugel, und längerfristige oder kollektive Wechselwirkungen aufteilen. Insbesondere das effektive Geschwindigkeitsfeld des Mediums aufgrund der Bewegungen der CR Zellen spielt eine bedeutende Rolle.

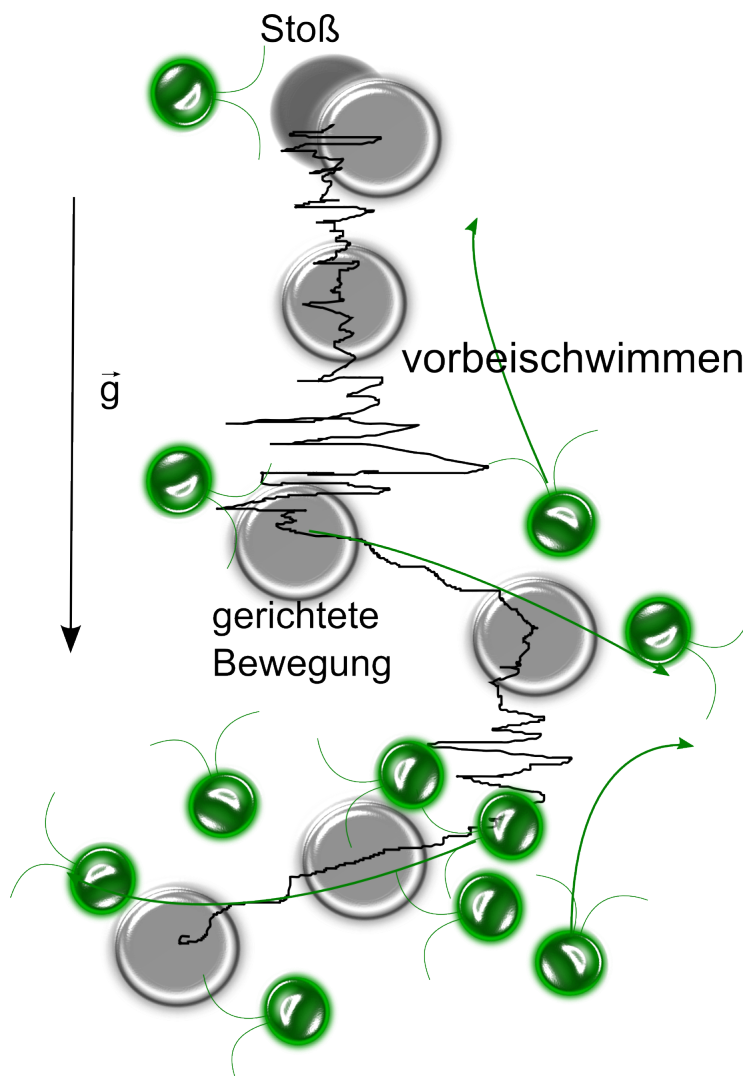


Abb. 6.6: Skizze einer Trajektorie einer Kugel in einer CR Suspension, es werden beispielhaft verschiedene Ereignisse gezeigt, die die Dynamik der Kugel beeinflussen

Die Stöße selbst sorgen für einen kleinen Anteil der Dynamik, da auf diesen kleinen Größenordnungen ein im stokeschen Sinne stark überdämpftes System vorliegt. Wie man Abbildung 6.7 entnehmen kann, wird selbst der bei einem vollkommen elastischen Stoß

übertragene maximale Impuls bereits nach Bruchteilen einer Mikrosekunde gedämpft und kann so, selbst wenn er oft auftritt nur für einen kleinen Anteil der Dynamik im Vergleich zu den Fluktuationen durch die brownsche Bewegung verantwortlich sein. Langreichweitige hydrodynamische Wechselwirkungen nehmen umgekehrt proportional zur Distanz ab, können also über relativ lange Zeiten einen Einfluss auf die Kugel haben. [130]

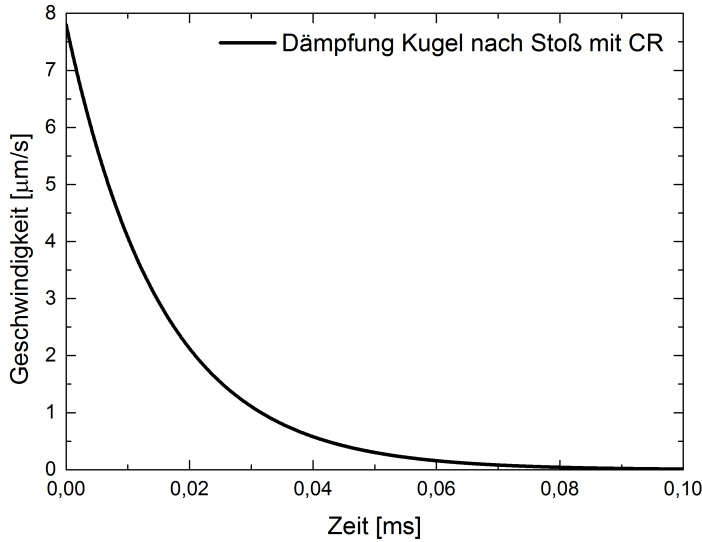


Abb. 6.7: Auftragung der Dämpfung des Impulses einer Kugel mit der Anfangsgeschwindigkeit $v_K(0) = 7,8 \cdot 10^{-6} \text{ ms}^{-1}$ in Wasser ausgehend von einem vollkommen elastischen Stoß mit einem Mikroschwimmer. Parameter: $\eta_0 = 1,15 \cdot 10^{-3} \text{ Pas}$, $r_K = 10^{-5} \text{ m}$, $\rho_K = 1,25 \text{ kgm}^{-3}$

Die Datenwerte in Abbildung 6.7 werden berechnet, indem man das zweite newtonsche Gesetz nutzt. In den untersuchten Systemen liegt die stokesche Reibung vor, da die Reynoldszahl nur $Re = 10^{-4}$ beträgt. Diese berechnet sich nach:

$$m_K \left(-\frac{dv_k}{dt} \right) = 6\pi\eta_0 r_K v \Leftrightarrow \frac{dv_k}{v_K} = -\frac{6\pi\eta_0 r_K}{m_K} dt \quad (6.4)$$

Dabei ist m_K die Masse der Kugel, v_K die Geschwindigkeit der Kugel, η_0 die Viskosität des Mediums und r der Kugeldurchmesser. Diese Differentialgleichung hat die Lösung

$$v_K(t) = v_K(0) \cdot e^{-t/t'} \quad (6.5)$$

mit der Anfangsgeschwindigkeit $v(0)_K$ und

$$t' = \frac{m}{6\pi\eta_0 r_K} = \frac{2r^2 \rho_K}{9\eta_0} \quad (6.6)$$

$$\text{mit } m_K = \frac{4}{3}\pi r_K^3 \rho_K \quad (6.7)$$

mit der Dichte der Kugel ρ_K .

Wenn man beispielhaft einen vollständigen Impulsübertrag eines elastischen Stoßes einer CR Zelle auf die Kugel betrachtet, kann man die Anfangsgeschwindigkeit der Kugel $v_K(0)$ berechnen:

$$m_{CR} \cdot v_{CR} = m_K \cdot v_K(0) \Leftrightarrow v_K(0) = \frac{m_{CR} \cdot v_{CR}}{m_K} \quad (6.8)$$

mit $v_{CR} = 5 \cdot 10^{-5} \text{ ms}^{-1}$ erhält man $v_K(0) = 7,8 \cdot 10^{-6} \text{ ms}^{-1}$.

Eine direkte Untersuchung der Bildserien zeigt, dass man in kleinen Bereichen um die Kugel herum, die im Mittel nur wenige Zellen enthalten, gemeinsame Bewegungen zur Kugel hin finden kann, dessen Ursachen jedoch nicht bekannt sind. Eine hydrodynamische Wechselwirkung mit dem Flussfeld der Kugel ist hierbei aber die wahrscheinlichste Ursache, einen chemischen Zusammenhang mit der Kugeloberfläche kann man aber nicht ausschließen. Eine Wechselwirkung der Flussfelder von Kugel und CR in der näheren Umgebung der Kugel könnte ein mögliche Richtungspolarisation von CR auf Grund der Gyrotaxis der Zellen zur Folge haben, die einen gerichteten Transport verursachen. Dabei wird die Isotropie der Bewegung der Kugel eingeschränkt. Man generiert also eine Vorzugsrichtung, in welche die Kugel sich für eine Zeit lang mit höherer Wahrscheinlichkeit bewegt. [131]

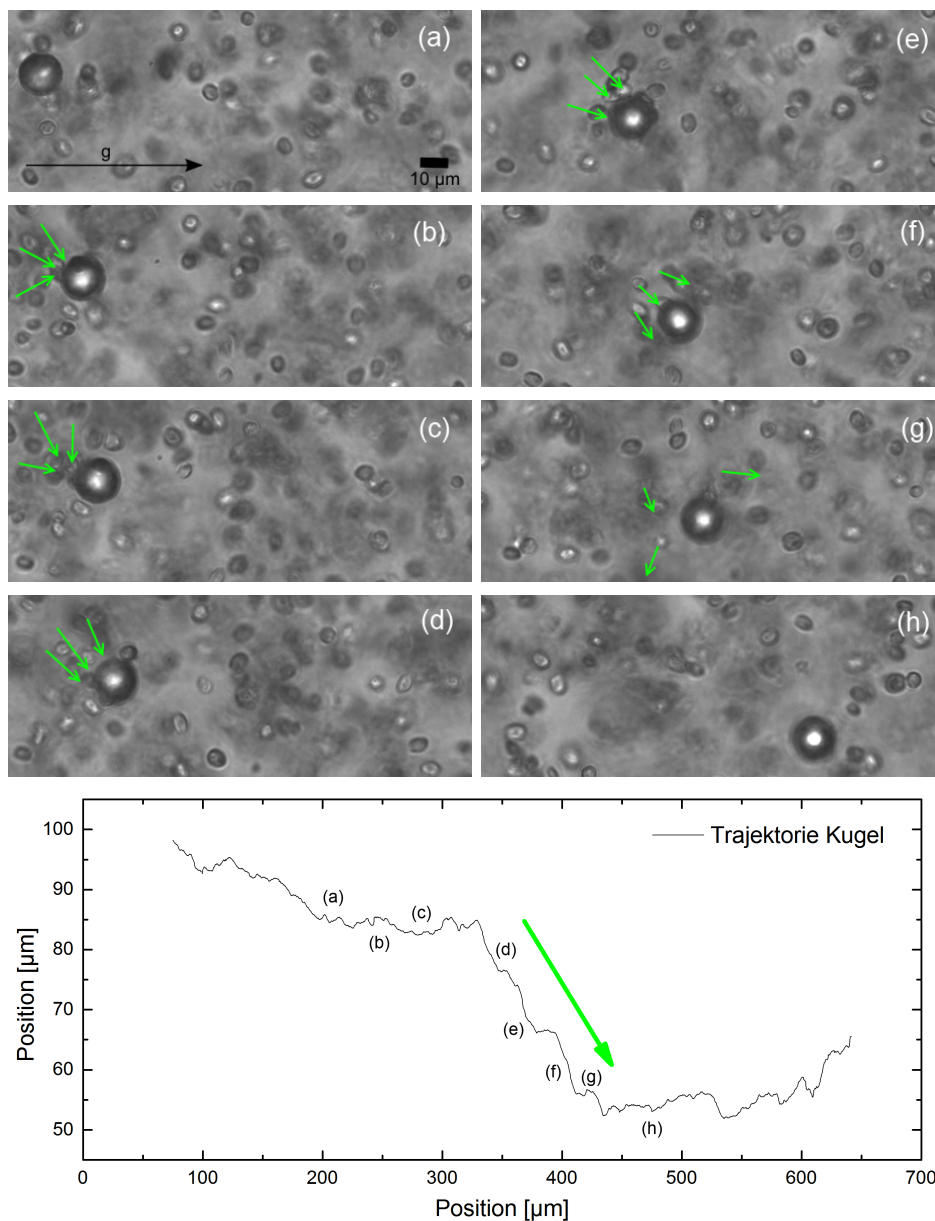


Abb. 6.8: Aus der Messung in einer CR Suspension mit $\phi = 0,0313$ wurde eine Bildserie entnommen, in der ein kollektiver Prozess zu einer starken Translation der Kugel führt. Die Bilder sind von (a)-(h) beschriftet, was der zeitlichen Abfolge entspricht. Die zeitlichen Abstände sind zur Verdeutlichung des gezeigten Effekts nicht gleich. In der ersten Spalte erkennt man, dass sich hinter der relativ frei schwimmenden Kugel mehrere CR sammeln und die Kugel in eine Richtung in einem Winkel von ungefähr $40 - 60^\circ$ zur Achse der Gravitation für eine Zeit die weit über der Zeitskala τ liegt bewegen. In der zweiten Spalte löst sich dieses Kollektiv wieder auf und die Kugel sedimentiert weiter entlang der Gravitationsachse. Unter den Bildern zeigt der Graph die mittels Particle Tracking ermittelte Trajektorie des Partikels. Es sind Pfeile eingezeichnet, die die Bewegung der CR und die daraus folgende Kugelbewegung veranschaulichen.

Mean Square Displacement

Aus dem Verhalten des $\text{MSD}(y)$, welches in der Abbildung 5.16 dargestellt ist, kann abgelesen werden, dass für kurze Zeiten bis zur ersten Übergangszeit ($t < \tau$) eine Anpassung mit einem Potenzgesetz mit dem Exponenten (Anomalie) $\sigma = 1,5$ die experimentellen Ergebnisse ab einer Volumenkonzentration von $\phi = 0,01$ gut beschreiben kann. Dieses Verhalten des MSD ist ein Hinweis darauf, dass in diesem Diffusionsregime zum Teil ein gerichteter Transport oder Lévysschritte durch kollektive Effekte der CR Zellen statt finden und die Dynamik der Kugel dadurch stark beeinflusst wird. Bei Volumenkonzentrationen von $\phi < 0,01$ kann man in diesem Regime feststellen, dass die Anomalie von $\sigma = 1,25$ bis $\sigma = 1,5$ mit der Volumenkonzentration ansteigt. Dies weist darauf hin, dass die Effekte die den gerichteten Transport der Kugel verursachen, bis zu einer oberen Schranke von $\phi = 0,01$ von der Anzahl der zur Verfügung stehenden Einzelzellen in der unmittelbaren Umgebung der Kugel abhängen. In dieser Darstellung erreicht man auch bei den kleinsten gemessenen Konzentrationen keine normale Diffusion über den gesamten Zeitraum des bestimmten MSD, daher muss man annehmen, dass die Beschreibung durch eine solche MSD Darstellung entweder unzureichend ist oder man zu noch kleineren Konzentrationen übergehen muss. Aus der Anpassung mit der empirisch gewonnenen Funktion 5.8 erhält man, wie in der Abbildung 5.21 ersichtlich einen schnellen kontinuierlichen Übergang von normaler Suspension bei kleinen Volumenkonzentrationen zu anomaler Diffusion mit $\sigma^* + 1 = 1,4$ bei höheren Volumenkonzentrationen.

Für längere Zeiten $t > \tau$ geht unser System im Rahmen der Messgenauigkeit ermittelbar in einen Bereich über, in dem die normale Diffusion die Dynamik der Kugel bestimmt. Dies entspricht dem zentralen Grenzwertsatz. Der Übergang in den Bereich normaler Diffusion ist ein Anzeichen dafür, dass auch das Auftreten der kollektiven Effekte einer Normalverteilung unterliegt. Man könnte also für diesen Bereich, der eine Art thermodynamisches Gleichgewicht darstellt, ein System mit einer Effektivtemperatur von dem zehnfachen der Zimmertemperatur annehmen. [41, 121]

Die Übergangszeit von CR Zellen von einer ballistischen Bewegung mit einer Diffusion mit der Anomalie $\sigma = 2$ zu einer normalen Diffusion liegt im Bereich der typischen Zeit τ . Dies spiegelt sich vor allem in den kollektiven Effekten wieder, die dadurch bestimmt sind, dass CR Zellen für eine gewisse Zeit von $t=2-4$ s in die gleiche Richtung schwimmen bevor sie diese ändern. [49, 70] Man kann also annehmen, dass für die kollektiven Bewegungen mehrere CR Zellen nötig sind die im Mittel für 0,5 s - 1 s in die gleiche Richtung schwimmen und die Kugel somit in diese Richtung bewegen. Dies wird in der Abbildung 6.6 als gerichtete Bewegung skizziert.

Aus der Referenz [122] ist bekannt, dass man für ein solches Sedimentationsproblem einen zeitabhängigen Diffusionskoeffizienten einführen kann, da sich eine asymptotische Anpassung an einen Langzeitgrenzwert erst bei einer längeren Diffusionsdauer ergibt. Hier wurde diese Anpassung mit einer auf die Phänomenologie des Systems abgestimmten Funktion durchgeführt und ein Langzeitgrenzwert D_0 und die Übergangszeit τ als Anpassungsparameter genutzt. Der Langzeitgrenzwert D_0 beschreibt das Verhalten, wenn $D(t)$ in eine Konstante übergeht. Man kann sowohl D_0 als auch τ

mit Potenzgesetzen beschreiben, die sich aus einer Dimensionsanalyse herleiten lassen. (siehe 8.3). Aus mehreren Referenzen ist bekannt, dass man den Diffusionskoeffizienten mit einem linearen Zusammenhang anpassen kann. [41, 44, 124] Auch in den hier vorgestellten Messungen lässt sich eine gute Übereinstimmung mit einer linearen Anpassung erreichen. Eine Erhöhung der Volumenkonzentration der CR erhöht die Dissipation im Umkreis der Kugel, erhöht also auch die Rate der Geschwindigkeitsfluktuationen. Wenn man nun diesen Geschwindigkeitsfluktuationen eine effektive Temperatur zuordnet erhält man über Stokes Einstein einen linearen Zusammenhang dieser Temperatur mit dem Langzeit-Diffusionskoeffizienten D_0 .

Wenn man die Datenwerte im Vergleich zu den Ergebnissen Gleichung 5.10 in Abbildung 5.21 (rechts unten) betrachtet, ergibt sich ab einer Volumenkonzentration von $\phi = 0,02$ eine Abweichung. Diese könnte sich dadurch erklären lassen, dass wie in Abbildung 6.9 verdeutlicht, ab einer solchen Volumenkonzentration ständig mindestens eine CR Zelle in Kontakt mit der Kugel ist, was die Dynamik beeinflusst.

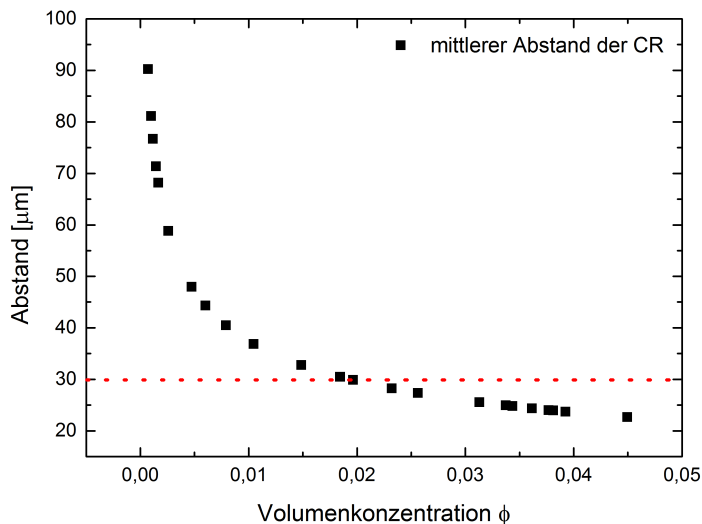


Abb. 6.9: Mittlerer Abstand der CR in Abhängigkeit von der Konzentration berechnet über die mittlere freie Weglänge. Außerdem eingezeichnet als rot gestrichelte Linie die Distanz $2r_K + 2r_{CR}$

Statistische Betrachtung

Es ist bekannt, dass die Translationsschritte der Brownschen Bewegung einer Normalverteilung folgen. Es liegt ein sogenannter Wiener-Prozess vor. Ein Wiener-Prozess ist ein zeitstetiger stochastischer Prozess, der normalverteilte, unabhängige Zuwächse hat. [15] Im vorhergehenden Abschnitt wurde gezeigt, dass sich das MSD der untersuchten Kugeln nichtlinear mit der Zeit anwächst und somit eine anomale Diffusion vorliegt. Eine weitere statistische Betrachtung lässt sich anstellen, indem man die kumulative Verteilungsfunktion der Translationsschritte (hier für die y -Richtung) betrachtet. Dafür sortiert man die Schrittgrößen aufsteigend und trägt die absolute Wahrscheinlichkeit gegen die Schrittgröße auf. Diese Daten kann man nun mit einer Gaußschen Fehlerfunktion (Gleichung (6.9)) anpassen. Dieses Vorgehen wird auch Kolmogorow-Smirnov-Anpassungstest (KSA) genannt und prüft ob eine Zufallsvariable, in diesem Fall die Schrittweite, einer zuvor angenommenen Verteilung folgt. Der Vorteil

gegenüber einer einfachen Anpassung eines aus den Daten erstellten Histogramms ist die viel höhere Genauigkeit mit der die Abweichungen bestimmt werden können.

$$\operatorname{erf}(x) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^x e^{-\tau^2} d\tau \quad (6.9)$$

In der Abbildung 6.10 ist die kumulative Verteilungsfunktion (CDF³) der Schrittweite in y -Richtung von Kugeln in CR Suspensionen mit kleinen Volumenkonzentrationen von 0,00116 beziehungsweise 0,006 aufgetragen. Die Gaußschen Fehlerfunktion wurde auf diese Daten angepasst und die Differenz zwischen Verteilung und angenommener Verteilung bestimmt. Wenn die Differenz einen zuvor festgelegten kritischen Wert übersteigt, wird die Hypothese auf diesem Signifikanzniveau abgelehnt. Neben dieser binären Aussage des KSA liefert ein Blick auf die Differenz weitere wichtige Informationen. Hier lassen sich systematische Abweichungen zur vorher angenommenen Verteilung erkennen. In diesem Fall fällt speziell der Bereich um die Tails⁴ der Verteilung als nicht vereinbar mit einer Normalverteilung auf.

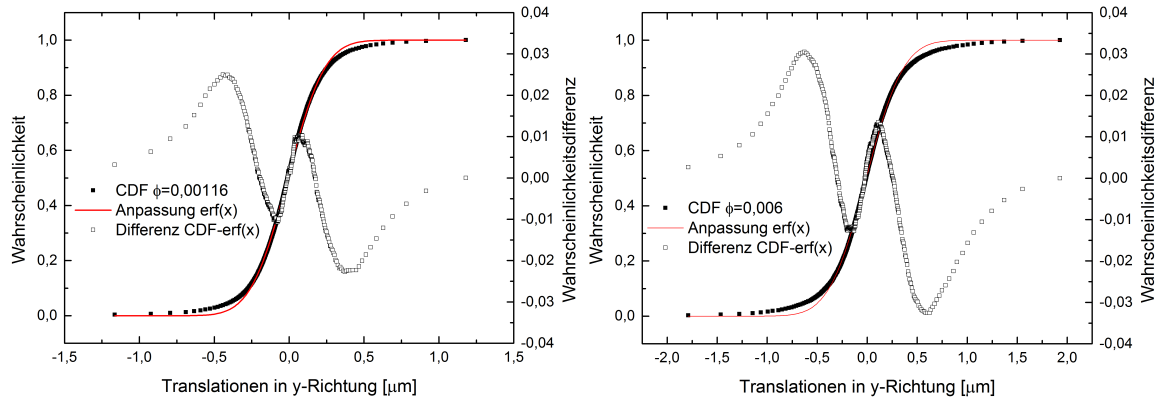


Abb. 6.10: Kumulative Verteilungsfunktion (CDF) der Translationen in y -Richtung für Volumenkonzentrationen von 0,00116 (links) und 0,006 (rechts) angepasst mit einer $\operatorname{erf}(x)$. In den offenen Symbolen die Differenz zwischen $\operatorname{erf}(x)$ und der CDF.

Dieser Trend setzt sich auch bei wesentlich höheren Volumenkonzentrationen fort. Auch hier geben die Tails der Verteilung Anlass, den wirkenden Prozess im statistischen Sinne nicht als brownisch zu betrachten, sondern statt dessen eine Verteilung anzunehmen, die zum größten Teil einer Normalverteilung folgt, jedoch einen höheren Fokus auf die Tails legt wie bei einer *Heavy-tailed*-Verteilung⁵ (zum Beispiel der Extremfall Cauchy Verteilung⁶).

³Cumulative Distribution Function

⁴auch „Schwänze“ der Verteilung

⁵Die Verteilung einer Zufallsvariable X mit der Verteilungsfunktion F ist *Heavy-tailed* wenn $\lim_{x \rightarrow \infty} e^{\lambda x} P[X > x] = \infty$ für alle $\lambda > 0$

⁶Die Verteilungsfunktion der Cauchy Verteilung lautet $F(x) = P(X < x) = \frac{1}{2} + \frac{1}{\pi} \cdot \arctan\left(\frac{x-t}{s}\right)$ mit $s > 0$ und $-\infty < t < \infty$

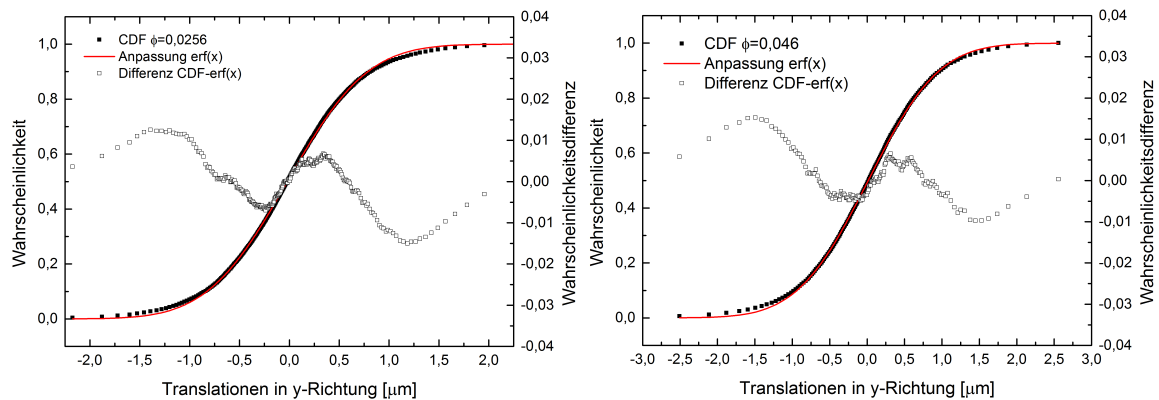


Abb. 6.11: Kumulative Verteilungsfunktion der Translationen in y-Richtung für Volumenkonzentrationen von 0,0256 (links) und 0,046 (rechts) angepasst mit einer $\text{erf}(x)$. In den offenen Symbolen die Differenz zwischen $\text{erf}(x)$ und der CDF.

Vergleich mit themenverwandten Arbeiten und abschließende Feststellungen

Prinzipiell kommt eine höhere Betonung der Tails zu Stande, wenn die Anzahl der Extremereignisse zunimmt. In diesem Fall also große Schrittweiten, die die Kugeln zurücklegen. Dieses Verhalten kann man allerdings, wie bereits im vorhergehenden Abschnitt 6.2 gezeigt, nicht alleine durch Stöße der CR an den Kugeln erklären. Es muss also einen zweiten Transportprozess geben, der sich auch in der Nichtlinearität des MSD für die verschiedenen Konzentrationen niederschlägt. Eine Beschreibung dieses Transportprozess mit *Lévy Flights* wie in der Referenz [132] ist ein viel versprechender Ansatz um die hier gefundenen MSD Verläufe zu reproduzieren. Ein *Lévy Flight* ist ein Random Walk, in dem die Wahrscheinlichkeit der Schrittlängen einer *Heavy-Tailed*-Verteilung entspricht. In der Referenz [133], in der die Autoren die Mobilität des modernen reisenden Menschen mit *Lévy Flights* beschreiben, wird ein superdiffusives Verhalten für kurze Zeiten, jedoch ein leicht subdiffusives Verhalten für lange Zeiten gefunden.

In der Referenz [44] wurde festgestellt, dass das MSD der dort genutzten, eine Größenordnung kleineren Partikel, linear mit der Zeit anwächst und man somit keine Komponente anomaler Diffusion finden kann. Diese Situation unterscheidet sich, wie bereits im Anfang des Abschnitts dargelegt, grundlegend von dem Fall sedimentierender Partikel. Eine theoretische Studie zur Diffusion kleiner passiver Partikel (Durchmesser: $2\text{ }\mu\text{m}$) in aktiven Fluiden findet $\sigma = 2$, also ballistische Bewegung, als Anomalie für modellierte CR, und es wird ausgesagt, dass das Verhalten für lange Zeiten wieder gaußsch ist und sich somit eine normale Diffusion einstellt. [132]

Eine sehr aktuelle Arbeit, in der Experimente mit Janus Partikel durchgeführt wurden, kann einen quadratischen Anteil im MSD für einem Zeitraum von mehreren Sekunden nachweisen. [134] Dieses Experiment hat prinzipiell viele Parallelen mit dem in dieser Arbeit durchgeführten Experiment, allerdings zeigen Janus Partikel kein *run and tumble* Verhalten. Die Janus Partikel wurden als *Tracer* genutzt, man betrachtete also ebenfalls einen Partikel mit einem sedimentierender Partikel ähnlichen Flussfeld. Um

eine Vergleichbarkeit zu erreichen, muss auch die unterschiedliche Partikelgröße in die Betrachtung mit einbezogen werden, die bei den Partikeln in der Referenz [134] um eine Größenordnung niedriger liegt.

Bemerkenswert ist in den vorgestellten Ergebnissen die Tatsache, dass der Diffusionskoeffizient mit der Volumenkonzentration ansteigt. Aus der Einstein Stokes Relation

$$D_E = \frac{k_B T}{6\pi\eta R} \quad (6.10)$$

folgt für dieses System, dass die Viskosität sinken müsste, was aber den Messungen in Abschnitt 5.1.1 widerspricht. Man kann annehmen, dass der Diffusionskoeffizient bei sehr hohen Volumenkonzentrationen, wie in Referenz [135] gefunden, wegen der immer weiter eingeschränkten Bewegung der Kugel wieder absinkt. Für die in den mikrorheologischen Messungen genutzten Volumenkonzentrationen, die zum Teil im Bereich der viskosimetrischen Messungen liegen und verglichen werden können, ist das Ergebnis hingegen bemerkenswert. Die Stokes-Einstein Beziehung versagt also bei der Beschreibung der in diesen Versuchen vermessenen Suspension. Eine Ausweg wäre es, wie in Referenz [41] eine effektive Temperatur zu nutzen, was aber nur für das Regime der normalen Diffusion genutzt werden kann. In der Referenz [136] zeigen die Autoren durch numerischen Simulationen, wie man für aktive nematische Fluide durch Anpassung der experimentellen Parameter eine Übereinstimmung der effektiven Viskosität, die man aus makro- beziehungsweise mikrorheologischen Messungen erhält, erreichen kann. Eine Anwendung dieser Erkenntnisse auf die hier vorliegenden Experimente ist gegenwärtig nicht möglich. Ein entscheidender Unterschied ist, dass bei einer nematischen Flüssigkeit eine Vorzugsrichtung, der Direktor, existiert und die Ergebnisse von der Referenz [136] stark von der Ausrichtung des Direktors bei den mikrorheologischen Messungen abhängen. Da in den in dieser Arbeit durchgeführten Experimenten die Phototaxis der CR Zellen unterdrückt wurde und der genutzte CR Stamm nicht gravitaktisch ist, gibt es hier keine allgemeine mit dem nematischen Direktor vergleichbare Vorzugsrichtung. Man kann also festhalten, dass wie bereits in anderen aktiven biologischen Systemen gezeigt, auch hier die Stokes-Einstein Beziehung das Verhalten von aktiven Fluiden nicht mehr beschreiben kann. [137]

6.3 Einzelzellmessungen

Die gezeigten Messungen mit der holografischen optischen Pinzette geben einen guten Einblick in die Möglichkeiten, die dieses Instrument zusammen mit modernen Hochgeschwindigkeitskameras und Methoden der Bildbearbeitung und Auswertung liefert. Die Schwimmbewegung der Zelle kann somit räumlich und zeitlich aufgelöst und anschließend analysiert werden. Die zugänglichen Zellparameter sind hierbei über die ausgewerteten Größen: Flagellenfrequenz, Rotationsdiffusionskoeffizient und Wellenform der Flagelle auch die ausgeübte Kraft und eine Auflösung der Frequenz nach den einzelnen Flagellen. Diese Messungen stellen exemplarisch vor, welche Fragestellungen mit diesen beantwortet werden sollen. Das Ziel soll dabei darin liegen, ein besseres Verständnis der Ergebnisse der makroskopischen Messungen zu gewinnen und auch weitere mikroskopische Eigenschaften der CR Zellen wie Synchronisation der Flagellen, Interaktion zweier Zellen und Einfluss der Zellkörperbewegung auf die Synchronisation zu beantworten.

Die Positionsbestimmung ist bei der genutzten Methode des Particle Tracking zwar recht genau, die Winkelauflösung jedoch noch nicht und muss des öfteren manuell korrigiert werden, wenn die Halbachsen der Ellipse von einem Bild zum nächsten vertauscht werden. Ursachen dafür sind zum Beispiel eine nicht konstant in der Ebene orientierte Zelle oder auch eine zu kugelförmige Zelle. Dies hat zur Folge, dass nur wenige Zellen im Bezug auf den Winkel auswertbar sind. Diese wenigen Zellen geben jedoch gute Informationen über den Rotationsdiffusionskoeffizienten, der eine große Bedeutung bei der Erklärung des Orientierungsverhaltens im Scherfluß hat. Aus der Positionsbestimmung der CR kann man außerdem folgern, dass die Zelle sich mit einer Frequenz von ungefähr 1 Hz um ihre eigene Achse dreht. Dieses Verhalten kann man mit der helikale Rotationsfrequenz von CR identifizieren, da diese ebenfalls in diesem Bereich liegt. Sie unterscheidet sich jedoch von Stamm zu Stamm. In der Referenz [31] wurde die Frequenz mit ungefähr 5 Hz bestimmt, wobei der dort genutzte CR Stamm eine Flagellenfrequenz von 100 Hz aufweist, andere Arbeiten berichten von Frequenzen von 2-3 Hz für Schwimmer mit 50 Hz Flagellenfrequenz. [33]

Es konnte bei den hier genutzten CR in ähnlicher Weise wie in Referenz [31] die Flagellenbewegung anhand einer Fourieranalyse aufgelöst werden. Hierbei wurden verschiedene Kraftspektren untersucht. Dabei hat sich herausgestellt, dass nicht bei allen Zellen eine eindeutige Separation der Frequenz von *cis* und *trans* Flagelle durchgeführt werden kann. Dies kann zum einen mit der Wahl der Länge der Trajektorie zusammenhängen, zum anderen aber auch ein Symptom des nicht perfekten Auswertalgorithmus sein. Man kann meist feststellen, dass das allgemeine Niveau des Kraftspektrums bei Frequenzen über der mittleren Schwimmfrequenz niedriger ist als bei kleineren Frequenzen. Das bedeutet, dass Ausschläge der Frequenzwerte nach unten wesentlich häufiger vorkommen als nach oben. Dieses Verhalten kann zum großen Teil auch der Desynchronisierung und Resynchronisierung der Flagellen in bestimmten Zeitpunkten zugeordnet werden, was sich in einer allgemeinen Erhöhung des Niveaus äußert, da dieser Effekt keiner diskreten Frequenz zugeordnet werden kann. [52]

Für die theoretische Modellierung, speziell für die geometrische Betrachtung, von großen Interesse ist der Rotationsdiffusionskoeffizient. Die bestimmten Werte für den Rotationsdiffusionskoeffizienten in der Tabelle 5.1 befinden sich in einem Bereich der vergleichbar mit den in der Referenz [35] abgeschätzten Werten ist. Das sie größer als der in der Referenz gefundene Wert sind liegt daran, dass CR im Gegensatz zu der in der Referenz studierten Alge *Chlamydomonas nivalis* kein *heavy bottom swimmer* Verhalten zeigt. In der Referenz [104] wird für CR ein Wert von $0,15 \text{ rad}^2\text{s}^{-1}$ bis $0,3 \text{ rad}^2\text{s}^{-1}$ vorhergesagt. In der Referenz [46] ist er für das Modell der effektiven Viskosität von großer Bedeutung. Für die Berechnung des Beitrags zur intrinsischen Viskosität wurde in der Referenz [58] noch ein geschätzter Wert für *Chlamydomonas nivalis* benutzt, dieser ist jedoch auf Grund dessen, dass diese Alge ein *heavy bottom swimmer* ist, zu niedrig gewählt. Es hat sich herausgestellt, dass auch mit dem speziell für diesen Stamm von CR bestimmten Rotationsdiffusionskoeffizienten keine Übereinstimmung dieses Modells mit den Messwerten im Abschnitt 5.1.1 zu erzielen ist.

7

Zusammenfassung und Ausblick

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse dieser Arbeit zusammengefasst und ein Ausblick auf mögliche weiterführende Experimente gegeben.

Zusammenfassung

In dieser Arbeit werden Messungen und Auswertungen gezeigt, die drei verschiedene Größenskalen eines aktiven Fluids abdecken. Die im ersten Abschnitt der experimentellen Ergebnisse vorgestellten Messungen wurden in einem klassischen Rheometer durchgeführt. Sie zeigen anhand der effektiven Viskositätsänderung von lebenden und fixierten CR Suspensionen, welchen Einfluss eine mikroskopische Eigenschaft der aktiven Einzelzellbewegung auf das makroskopische Verhalten der Suspension hat. Damit konnten die in den Referenzen [45] und [55] getroffenen Vorhersagen der rheologischen Eigenschaften für *puller* in diesem System erstmalig experimentell nachgewiesen werden. [58]

Sowohl in der Kegel-Platte Geometrie als auch in der Taylor-Couette Geometrie konnten vergleichbare Werte für die intrinsische Viskosität lebender und toter CR Zellen gefunden werden. Diese können jedoch mit bisher verfügbaren Modellen, beispielsweise dem aus geometrischen Überlegungen stammenden Modell aus der Referenz [46], nicht erklärt werden. Die geometrische Betrachtung, obwohl für *pusher* und deren Verringerung der Viskosität zutreffend, reicht also bei dem *puller* CR nicht aus, um eine entsprechende Erhöhung der intrinsischen Viskosität zu erklären. Ein Vergleich der Messungen aus der Referenz [48] zu den in dieser Arbeit vorgestellten Ergebnissen ist aktuell nicht möglich, da diese Messungen in Referenz [48] mikrorheologisch durchgeführt wurden. Mikrorheologische Messungen aktiver Fluide konnten bisher nicht mit makroskopischen Messungen zur Übereinstimmung gebracht werden. [137] Allerdings wurde in der Referenz [136] gezeigt, dass man bei Simulationen aktiver Nematen bei

einer bestimmter Wahl der Messparameter eine Übereinstimmung mikrorheologischer und makrorheologischer Ergebnisse erreichen kann. [138]

Es wurde weiterhin durch Messungen am Stamm *pf22* gezeigt, dass eine Erhöhung der intrinsischen Viskosität mit der Länge der Flagellen von CR und damit implizit der Kraft der Fortbewegung skaliert. Dies ist ein weiterer Hinweis darauf, dass das in der Referenz [49] vorgestellte Kraftdipolmodell eine bessere Beschreibung der in dieser Arbeit gezeigten Eigenschaften von CR Zellen liefert als bisher genutzte geometrische Modelle. Im Gegensatz zu diesen Modellen liefert beim Kraftdipolmodell die Flagellenkraft in der Beschreibung des Schwimmers einen direkten Beitrag.

Anhand der Visualisierungsmessungen konnte gezeigt werden, dass die in Referenz [38] vorgestellten Sekundärflüsse, die dort in einem passiven, viskosen Fluid gemessen wurden, auch in aktiven Fluiden gefunden werden können. Dabei stellte sich heraus, dass sowohl lebende wie auch fixierte CR Suspensionen einen Ring mit dem selben Radius ausbilden. Ein Vergleich der radialen Volumenkonzentrationsverteilung und des Volumenkonzentrationsmaximums offenbart, dass die lebenden Zellen einen höheren Widerstand leisten, in den Ring höherer Volumenkonzentration gezogen zu werden.

Auf der mittleren Skala (im Millimeter Bereich), die den Bereich abdeckt, auf dem bis zu mehrere hundert Zellen die Dynamik eines sedimentierenden passiven Partikels beeinflussen, wurden Messungen in einem eigens für diesen Zweck konstruierten mikrorheologischen Aufbau durchgeführt. Dabei wurden die Trajektorien passiver sedimentierender Kugeln aus Bildserien extrahiert und statistisch analysiert. Aus dem Mean Square Displacement wurden dann mittels einer empirischen Anpassung Diffusionskoeffizienten und Anomalien für verschiedene Volumenkonzentrationen bestimmt. Die empirische Funktion zur Anpassung der experimentellen Daten wurde benutzt, da das MSD der *Tracer*partikel nicht mit den Gesetzen der normalen Diffusion beschrieben werden kann.

Mit Sedimentationsmessungen von passiven Fluiden konnte eine gute Übereinstimmung bei der Sedimentationsgeschwindigkeit erreicht werden, wobei die Frage der großen Varianz der Sedimentationsgeschwindigkeiten noch nicht abschließend geklärt werden konnte. [119, 120, 135] Die Anpassung des Diffusionsexponenten zeigte, dass das System in allen von null verschiedenen Volumenkonzentrationen von CR Zellen eine anomale Diffusion zeigt. Es kann eine Separation der MSD Daten in verschiedene Diffusionsregime durchgeführt werden, wobei das untersuchte System für höhere Zeiten zur normalen Diffusion übergeht. Es lässt sich eine Systematik im Verhalten der Übergangszeiten dieser Regime feststellen. Dies zeigt, dass sich in der CR Suspension mehrere Effekte auf die Gestalt der Trajektorie der Kugeln auswirken.

Die Auswirkungen der Stöße und hydrodynamischen Wechselwirkungen von CR, die die Kugel passieren, werden für kleine Zeiten durch im Vergleich dazu lang andauernde beziehungsweise langreichweitige Wechselwirkungen und kollektive oder gleichzeitige Aktivitäten mehrerer Zellen überlagert. Dadurch ergibt sich für kleine Zeiten bis einer Sekunde eine anomale Diffusion. Diese gerichteten Bewegungen sind auch der Hauptunterschied der vorliegenden Messungen zu bisher durchgeführten Messungen mit passiven Partikeln in aktiven Fluiden. [41, 44, 48] Für längere Zeiten stellt sich eine

normale Diffusion im System ein, da auch die gerichteten Bewegungen gleichverteilt auftreten und somit der zentrale Grenzwertsatz erfüllt wird.

In den Referenzen [41, 122] wird ein zeitabhängiger Diffusionskoeffizient, der auf einer Exponentialfunktion in Abhängigkeit der Zeit beruht, zur Beschreibung eines Sedimentationsproblems genutzt, um Werte für die Kurz- und Langzeitasymptote zu erhalten. Ein ähnliches Vorgehen ermöglicht bei den in dieser Arbeit durchgeführten Messungen die Bestimmung eines Diffusionskoeffizienten D_0 , der den asymptotischen Wert der Diffusion für lange Zeiten beschreibt, einer Übergangszeit τ , die den Übergang der anomalen Diffusion auf ein Regime normaler Diffusion beschreibt und der Anomalie der Diffusion σ für kurze Zeiten. Ein Vergleich der ermittelten Werte für τ und den Langzeitdiffusionskoeffizienten D_0 mit den entsprechenden Werten aus einem Modell, dass auf der Geschwindigkeitsfluktuation von Mikroschwimmern basiert, ergab eine gute Übereinstimmung.

Es wurde ein Anstieg des Diffusionskoeffizienten mit der Volumenkonzentration der untersuchten CR Suspension gefunden, der sich durch eine Gerade anpassen lässt. Auf Grund der experimentellen Messungenauigkeit im beschränkten Messintervall erscheint eine Anpassung eines Potenzgesetzes mit dem Exponenten $2/3$ ebenfalls möglich. Die vorliegende Datenlage erlaubt keine Falsifizierung. Da der Anstieg des Diffusionskoeffizienten auf den ersten Blick den Ergebnissen im ersten Teil der Arbeit widerspricht, muss man davon ausgehen, dass eine Stokes-Einstein Betrachtung ohne weitere Modifikationen bei aktiven Fluiden versagt, was auch früheren Erkenntnissen entspricht, in denen das Zytoskelett von Zellen als aktive Flüssigkeit untersucht wurde. [137]

Die statistische Auswertungen der Messungen durch die Untersuchung der kumulativen Verteilung ergab, dass sich das System von einer brownischen Bewegung unterscheidet. Es liegt eine Betonung der Schwänze der Verteilung vor, was auf eine Abweichung zur Normalverteilung deutet. Diese ist systematisch, wird bei den höheren Volumenkonzentrationen jedoch geringer. Die Ursache der Abweichung zur Normalverteilung liegt wahrscheinlich an den Auswirkungen der durch kollektive Effekte angestoßenen gerichteten Bewegungen, die im statistischen Sinne als Extremereignisse einzustufen sind.

Die vorgestellten Messungen mittels der holografischen optischen Pinzette stellen erste Untersuchungen von CR mit diesem Instrument dar. Es konnte gezeigt werden, dass die vielfältigen Möglichkeiten einer optischen Pinzette ein wichtiges Werkzeug für die Charakterisierung der Mikroschwimmer auf Einzelzellniveau darstellen. Durch Fourieranalysen der Position von Zellen in einer optischen Falle konnte gezeigt werden, dass mit diesem Verfahren ein einfacher Zugang zu einer Untersuchung der Schlagfrequenz der Flagellen und auch den unterschiedlichen Frequenzen von *cis*- und *trans*-Flagellen gegeben ist.

Die Bestimmung des Rotationsdiffusionskoeffizienten half beim Verständnis der makroskopischen Rheologie, da er die geometrische Betrachtung des Systems ergänzt. Eine große Argumentationshilfe für das Kraftdipolmodell war hierbei die Messung des Rotationsdiffusionskoeffizienten einer CR Zelle im Fluss, wobei ein großer Unterschied zur Messung in einem ruhenden Fluid festzustellen ist. Der ermittelte Rotationsdiffusi-

onskoeffizient von Zellen im Fluss war um eine Größenordnung niedriger als der von Zellen in einem stationären Fluid.

Die Detektierung der Flagellenbewegung soll schließlich einen Ausblick auf mögliche weitere Untersuchungen mit der holografischen optischen Pinzette geben und einen Nachweis der Fähigkeiten dieses Instruments liefern. Für diese Messung konnten mehrere Perioden des Flagellenschlags eines für längere Zeit in der Fokusebene befindliches Flagellums erfasst werden um zu zeigen, dass sowohl die Erfassung selbst als auch eine mathematische Modellierung mit den vorgestellten Methoden möglich sind.

Ausblick

Die vorgestellten viskosimetrischen Messungen zeigen im gewählten Parameterbereich der Scherrate eine hohe Signifikanz. Man kann im Hinblick auf die reinen Viskositätsmessungen feststellen, dass man an der unteren Grenze des möglichen Scherratenbereichs für wässrige Flüssigkeiten arbeitet. Die vorgestellten Ergebnisse konnten durch eine speziell angepasste Software erreicht werden, eine weitere Nutzung dieses Rheometers in kleineren Scherratenbereichen beziehungsweise um noch niedrigere Viskositäten zu messen, ist jedoch auch durch solche Modifikationen nicht mehr möglich. Speziell die schweren Taylor-Couette Geometrien mit deren hohen Trägheitsmoment können nicht mehr zufriedenstellend geregelt werden. Es ist auch vorstellbar, rheologische versuche durchzuführen, bei denen die Spannung τ_M variiert wird. Dies erfordert eine Umprogrammierung des Rheometers.

Mit den aktuell am Markt verfügbaren Rheometern ist es allerdings durchaus möglich, eine Größenordnung im messbaren Scherratenbereich nach unten hin zu gewinnen, was uns in die Lage versetzen würde, das Verhalten von CR Suspensionen bei noch kleineren Scherraten zu untersuchen. Es würde sich ebenfalls die Möglichkeit bieten, erstmals bakterielle Suspensionen in einem Rheometer zu vermessen. Dies gestaltet sich wegen der vorausgesagten und bereits in der Referenz [48] experimentell nachgewiesenen Erniedrigung der Viskosität solcher Suspensionen schwieriger als bei *puller* Suspensionen. Auch das vorgestellte und diskutierte Kraftdipolmodell befindet sich noch in der Entwicklung und würde von weiteren experimentellen Ergebnissen profitieren.

Auf der mittleren Größenskala können die mikrorheologischen Messungen bereits einen guten Einblick in die interessanten Dynamiken sedimentierender Partikel in aktiven Fluiden geben, weitere Experimente in diesem Bereich könnten diese Wissensbasis jedoch noch einmal vergrößern. Speziell das Skalenverhalten der Partikelgröße sollte im Hinblick auf die festgestellten Unterschiede zwischen den Messungen in Referenz [44] und den in dieser Arbeit gezeigten Versuchen durch die Variation dieses Parameters genauer erforscht werden. Eine Beschreibung der erläuterten Extremereignisse könnte beispielsweise durch ein *Lévy Flight* Modell erfolgen. Weitere statistische Auswertungen, beispielsweise der Wahrscheinlichkeitsdichtefunktion sind aktueller Gegenstand weiterer Untersuchungen.

Eine weitere Herausforderung bei diesen Experimenten stellt die Messung in höheren Volumenkonzentrationen und die Verbesserung der Statistik dar. Es hat sich

gezeigt, dass bei Konzentrationen, die 5% übersteigen, die Verfolgung der Kugeln immer schwieriger wird, da diese sehr häufig die Fokusebene verlassen. Ein für eine vorhergehende Arbeit an diesem System benutztes Setup, das die Möglichkeit bietet, drei verschiedene Fokusebenen simultan zu beobachten, könnte bei diesem Problem bis zu einem gewissen Punkt Abhilfe schaffen. Eine andere Möglichkeit wäre die Nutzung von fluoreszierenden Kugeln, da diese selektiv durch die CR Suspension beobachtet werden können. Allerdings muss man dabei beachten, dass nur im roten Wellenlängenbereich anregbare Kugeln genutzt werden können, da eine niedrigere Wellenlänge phototaktische Reaktionen der CR hervorrufen würde.

Speziell bei schnell sedimentierenden Partikeln kann man eine Verbesserung der Statistik für lange Zeiten auch durch Verlangsamung der Kugeln erreichen und somit die Beobachtungszeit verlängern. Die in dieser Arbeit genutzten Kugeln haben eine paramagnetische Beschichtung, was eine Beeinflussung ihrer Geschwindigkeit mit einem Magnetfeld ermöglicht. Es wurden Tests mit dem statischen Feld eines einfachen Ferromagneten durchgeführt. Aus Gründen der Homogenität und Kontrollierbarkeit des Magnetfeldes wäre es jedoch sinnvoll, den Aufbau mit einem Helmholtzspulenpaar auszurüsten. Bisher wurde das Magnetfeld nur über die Anzahl an Permanentmagneten und den Abstand dieser zum Beobachtungspunkt kontrolliert. Der oben beschriebene erweiterte Aufbau würde es ermöglichen, zwischen Effekten, die der Kugelgröße zuzuordnen sind und Einflüssen des durch die sich ändernde Sedimentationsgeschwindigkeit variierenden Flussfeldes zu unterscheiden.

Abschließend zu dieser Thematik soll gesagt sein, dass die theoretische Modellierung des Systems zum jetzigen Zeitpunkt ein aktuelles, noch nicht abgeschlossenes Forschungsthema ist, und die in dieser Arbeit gelieferten Erklärungsansätze eine Idee der Dynamik des betrachteten Systems vermitteln sollen. Weitere Experimente in diesem Bereich werden im Hinblick auf die vorgeschlagenen Maßnahmen zu tieferen Erkenntnissen führen und eine genauere Modellierung des Systems ermöglichen.

Die qualitativen Aussagen der in dieser Arbeit gezeigten Messungen in der holografischen optischen Pinzette geben erste Anhaltspunkte auf die Möglichkeiten dieses Instruments zur Untersuchung von Mikroschwimmern. Die Einzelzellmessungen sind auch in anderen Arbeitsgruppen aktuelles Forschungsthema vieler Forscher und liefern einen direkten Zugang zu Parametern, die aktive Fluide bis auf die makroskopische Ebene hin beeinflussen. Zukünftige Versuche werden mit komplexeren Potentiallandschaften bessere Möglichkeiten zur Kontrolle der Mikroschwimmer liefern und weitere Einblicke in deren Dynamik ermöglichen. Des Weiteren werden bereits Versuche mit Mikropipetten durchgeführt um die Beziehung zwischen den flagellaren Synchronisation und der Zellkörperbewegung zu bestimmen. Um dieses Ziel zu erreichen, wird auch die benutzte Auswertungssoftware stetig weiterentwickelt um die Informationsdichte in diesem Gebiet immer weiter zu erhöhen und in Zukunft eine detailliertere Beschreibung von Mikroschwimmern zu ermöglichen.

Das Verständnis der Hydrodynamik von aktiven Fluiden ist für die technische Entwicklung speziell im Bereich der Bioreaktoren für die Bakterienkultur in medizinischen Thematiken und im Bereich der erneuerbaren Energien und des Klimawandels sehr wichtig. Die Verwendung von Algen zur Energiegewinnung und -regulierung ist bereits

heute in mehreren Versuchsanlagen zu beobachten. Die Prozesse zur Optimierung der Genetik beispielsweise zur Wasserstoffproduktion bei CR können durch ein besseres Verständnis der Dynamik der Mikroschwimmer ergänzt werden um durch entsprechende Gestaltung der Anlagen eine höhere Effizienz zu erreichen. Ich hoffe, dass die in dieser Arbeit vorgestellten Forschungsergebnisse einen Teil dazu beitragen können, dieses für die zukünftige Energieerzeugung wichtige Feld und die Grundlagenforschung im Bereich der Mikroschwimmer zu voranzutreiben.

8

Anhang

8.1 *Chlamydomonas reinhardtii* Kultur

8.1.1 Herstellung von TAP Medium

CR kann, wie schon in Abschnitt 3.1.3 erläutert, sowohl auf Agar¹ Platten, als auch in einem Flüssigmedium kultiviert werden. Die Agarplatten werden mit TAP² Medium, dem Standardmedium für CR hergestellt. [40, 139]

Für die Herstellung von 1 l TAP Medium benötigt man:

- 25 ml TAP Salze, auch Beijerinck Salze genannt
- 2,42 g Tris³
- 1 ml Posphat Lösung
- 1 ml Hutners Spuren Elemente
- 1 ml Essigsäure (Eisessig⁴)
- 15 g l⁻¹ Agar für Platten
- Auffüllen auf 1 l mit dd-H₂O⁵

1l TAP Salzlösung wird aus folgenden Salzen zusammengestellt:

¹auch Japanische Gelatine genannt ist ein Galactose Polymer, das Gallerte bildet. Die Grundeinheiten sind Agarose und sulfatiertes Agaropektin. In der Mikrobiologie als Standardnährboden zur Kultur von Mikroorganismen bekannt.

²(Tris-Acetate-Phosphate)

³Tris(hydroximethyl)-aminomethan H₂NC(CH₂OH)₃

⁴systemisch Ethansäure, CH₃COOH Konzentration > 80%

⁵dd - doppelt destilliert, Reinstwasser für Laboranwendungen und Zellkultur

- NH_4Cl 15 gl^{-1} finale Konzentration $7,00 \cdot 10^{-3}$ M
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ gl^{-1} finale Konzentration $8,30 \cdot 10^{-4}$ M
- $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ 2 gl^{-1} finale Konzentration $4,50 \cdot 10^{-4}$ M
- Auffüllen auf 1 l mit dd- H_2O

100ml Posphatlösung wird wie folgt hergestellt:

- K_2HPO_4 0,288 gl^{-1} finale Konzentration $1,65 \cdot 10^{-3}$ M
- KH_2PO_4 0,144 gl^{-1} finale Konzentration $1,05 \cdot 10^{-3}$ M
- Auffüllen auf 100 ml mit dd- H_2O

Die Herstellung der Hutners Spurenelementlösung gestaltet sich etwas aufwändiger. [140]

Um 1 l der Spurenelementlösung herzustellen, muss man folgende Schritte ausführen:

1. Bereite die benötigten Chemikalien, die jeweils in einer bestimmten Menge Wasser gelöst werden, vor wobei $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ zuletzt hergestellt werden sollte, um Oxidation zu vermeiden :

Chemikalie	Menge [g]	Wasser [ml]	Endkonzentration [mol]
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	50	250	$1,34 \cdot 10^{-4}$
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	22	100	$1,36 \cdot 10^{-4}$
H_3BO_3	11,4	200	$1,84 \cdot 10^{-4}$
$\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	5,06	50	$4,00 \cdot 10^{-5}$
$\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	4,99	50	$3,29 \cdot 10^{-5}$
$\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	1,61	50	$1,23 \cdot 10^{-5}$
$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	1,57	50	$1,00 \cdot 10^{-5}$
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	1,10	50	$9,28 \cdot 10^{-7}$

2. Vermische alle Lösungen bis auf die EDTA Lösung und bringe sie zum kochen.
3. Füge die EDTA Lösung hinzu, die Lösung sollte sich grün färben, der pH Wert sollte von jetzt an ständig kontrolliert werden und 6,8 nicht übersteigen, da sonst MnSO_4 ausfällt.
4. Wenn alles gelöst ist, lasse die Lösung auf 70° abkühlen und halte die Temperatur.
5. Füge 85 ml heiße 20-prozentige KOH Lösung hinzu⁶
6. Fülle auf 1 l mit dd- H_2O , die Lösung sollte klar grün sein, und schließe das Gefäß mit einem Baumwollstopfen
7. Lasse die Lösung 1-2 Wochen bei 4° ruhen (1 mal umrühren pro Tag)
8. Die Lösung sollte sich lila bis braun gefärbt haben und muss jetzt filtriert werden⁷

⁶kein NaOH benutzen!

⁷z.B. Whatman Filter #1

9. pH Wert auf 7,0 einstellen mit KOH beziehungsweise HCl
10. Aliquotieren und kühl beziehungsweise gefroren in Teflon oder Polycarbonatgefäßen aufbewahren, da die Spurenelemente in Glasgefäßen in die Wand adsorbieren

8.1.2 Kulturbedingungen

Nach Animpfung der Kultur mit dem gewünschten Stamm muss man vor allem auf die Umgebungsbedingungen achten. CR sollte im idealen Fall in einem Inkubator mit einer konstanten Temperatur zwischen 20 – 25°C kultiviert werden, wobei es darauf ankommt in welcher klimatischen Umgebung der Stamm normalerweise beheimatet ist. Schneeealgen wie *Chlamydomonas nivalis*⁸ müssen beispielsweise bei einer Temperatur aufbewahrt werden, die 10°C nie übersteigt.

Als Lichtquelle wurde kaltes fluoreszierendes Licht benutzt. Es wurden zwei Reflektorlampen mit jeweils 15 W verwendet⁹, wobei jeweils eine Lampe den Abschnitt der Flüssigkultur versorgt und eine den Abschnitt der Agarplatten. In der Flüssigkultur führt eine gut eingestellte, kontinuierlich beleuchtete Kulturmgebung zu einem logarithmischen Wachstum in einem Bereich von 10^5 – 10^7 Zellen pro ml, wobei die Verdoppelungszeiten bei 5-8 Stunden liegen. Für die Synchronisierung der Kultur benötigt man einen künstlichen Tag-Nacht Zyklus, den man üblicherweise zu 12:12 h festlegt und der im einfachsten Fall durch eine Zeitschaltuhr gesteuert wird. Auf Grund der Natur der Zellteilung und DNA Synthese von CR erreicht man erst beim dritten Tag-Nacht Zyklus eine synchronisierte Kultur mit einer Konzentration von ungefähr $4,8 \times 10^6$ Zellen pro ml und gemeinhin wird dies als der beste Zeitpunkt zur Ernte einer Kultur angesehen. [40]

Im Normalfall, also in Experimentierphasen, wurde in dieser Arbeit eine Plattenkultur wöchentlich auf neue Platten passagiert, eine Flüssigkultur wurde 3 Tage vor einer Messung angelegt und immer vollständig aufgebraucht. Die Flüssigkulturen wurden auf einem Magnetrührer bei einer Geschwindigkeit von 120 rpm aufbewahrt, um Luftzufuhr und Verwirbelung der Zellen zu sichern. Wenn die Sedimentation in unter einer Minute schon einen deutlichen Effekt zeigt, ist das ein Anzeichen für eine schlechte Motilität der Zellen und die Kultur sollte neu gestartet werden. Wenn man nicht sicher ist, sollte man eine Petrischale zu drei Viertel füllen und die Biokonvektion prüfen. Diese sollte innerhalb weniger Sekunden einsetzen und ein deutlich sichtbares Muster produzieren. [141, 142]

⁸erzeugen sogenannten Blutschnee wegen ihrer rötlichen Färbung

⁹Megaman MM150 PAR30 Pflanzenlicht

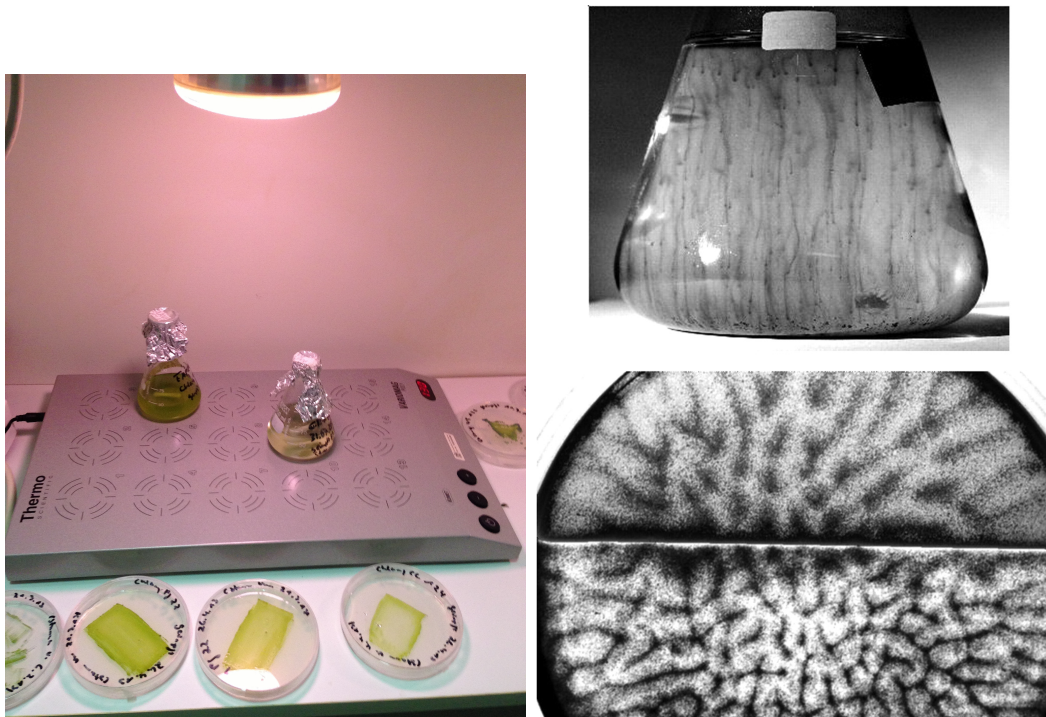


Abb. 8.1: (links) Die Kultivierung von CR findet in einem dafür hergerichteten Schrank statt. Dort befinden sich die Pflanzenlampe, der Magnetrührer und mehrere Kulturen auf Agarplatten und Flüssigkulturen. (Rechts) In einer gesunden Kultur setzt Biokonvektion nach wenigen Sekunden ein und produziert Muster auf Grund verschiedener Volumenkonzentrationen. Oben die Biokonvektion in gyrotaktischen Schwaden in einem Erlenmeyerkolben. Unten Muster der Biokonvektion in einer Petrischale (modifiziert aus [65])

8.2 Erfassung der Flagellenbewegung

Zur Erfassung der Flagellenbewegung wurden erste Vorarbeiten durchgeführt, die im Folgenden als Ausblick gezeigt werden. Wie man in der Abbildung 5.26 erkennen konnte, ist es nicht einfach, die Flagelle selbst zu beobachten. Der Kontrast stellt bei diesen Messungen ein Problem dar. Eine viel größere Herausforderung ist es, die Ebene des Flagellenschlags zu fokussieren. Dies wurde bisher nur mit Mikropipetten für längere Zeiten als 2-3 Perioden erreicht. Die Flagellenbewegung lässt sich dann mit der im Abschnitt 4.3 beschriebenen Methode parametrisieren und analysieren. In den Messungen in der optischen Pinzette gibt es nur wenige Passagen, in denen die Flagelle lange genug in einer Ebene bleibt um zumindest mehrere Perioden analysieren zu können.

Die beschriebene Methode bietet noch deutliches Entwicklungspotenzial, demonstriert aber die Kapazitäten der Messmethode „holografische optische Pinzette“ zur Untersuchung des Schwimmverhaltens von Mikroorganismen. Hier wurde im Gegensatz zu den Messungen in den Referenzen [143] und [113] eine CR des Wildtyps betrachtet, wo dort der Mutant *ida1* mit lediglich einer Flagelle untersucht wurde, der nur zu Schwimmbewegungen um die eigene Achse vollführen kann.

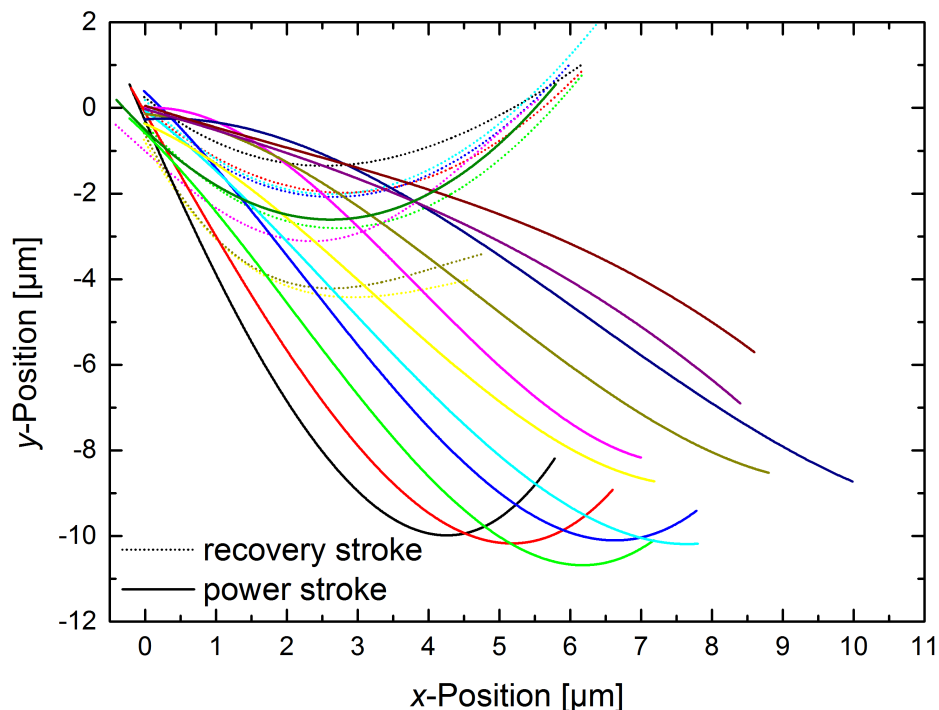


Abb. 8.2: Polynomielle Anpassungen dritten Grades der Flagellentrackingauswertung. Die Linien des *recovery stroke* sind gepunktet dargestellt, die des *powerstroke* als durchgehende Linien. Die Linien des *recovery stroke* sind kürzer weil die Spitze der Flagelle nicht ausreichend nah an der Fokusebene ist und deshalb Teile der Flagelle nicht detektiert wurde.

Die in der Abbildung 8.2 gezeigten Auswertungen der Flagellenbewegung sind als erste Ergebnisse mit einem Ausblick auf die Zukunft zu klassifizieren. Diese Auswertungen sind bisher nur für einen nicht repräsentativ kleinen Teil der Messungen möglich und erfordern noch einen Großteil an manueller Nachbearbeitung. Mit diesen Auswertungen ist es aber möglich, die Frequenz der einzelnen Flagellen mit einer viel höheren Genauigkeit und vor allem höheren zeitlichen Auflösung zu studieren. Dies ist ein großer Vorteil gegenüber der im Abschnitt 5.3.1 gezeigten Methode zur Bestimmung dieser Parameter.

8.3 Fluctuations of a dipole swimmers velocity field

Diese Herleitung wurde von Philippe Peyla verfasst:

Let us calculate the velocity V_y created in $(0,0,0)$ by a microswimmer situated in (x,y,z) (see the figure below). The microswimmer is idealized as a dipole of force $(-\mathbf{F}, \mathbf{F})$ of size $\delta = \sqrt{dx^2 + dy^2 + dz^2}$. Somehow δ is the size of a flagellum. Let us call $r_1 = \sqrt{(x - dx/2)^2 + (y - dy/2)^2 + (z - dz/2)^2}$ and $r_2 = \sqrt{(x + dx/2)^2 + (y + dy/2)^2 + (z + dz/2)^2}$, the velocity created by each force is V_{1y} and V_{2y} with

$$\begin{cases} V_{1y} = \frac{1}{8\pi\eta} \frac{1}{r_1} \left(F_y + \frac{x_1 y_1 F_x + y_1^2 F_y + y_1 z_1 F_z}{r_1^2} \right) \\ V_{2y} = \frac{1}{8\pi\eta} \frac{1}{r_2} \left(F_y + \frac{x_2 y_2 F_x + y_2^2 F_y + y_2 z_2 F_z}{r_2^2} \right) \end{cases}$$

with $x_1 = -x + dx/2$, $y_1 = -y + dy/2$, $z_1 = -z + dz/2$ and $x_2 = -x - dx/2$, $y_2 = -y - dy/2$, $z_2 = -z - dz/2$. Thus, the velocity created by the dipole is $V_{Dy} = V_{1y} + V_{2y}$ within the dipolar approximation, i.e. $r \gg \delta$. It is easier to write everything in spherical coordinates:

$$\begin{cases} x = r \sin \theta \cos \phi \\ y = r \sin \theta \sin \phi \\ z = r \cos \theta \end{cases}, \begin{cases} dx = \delta \sin \theta' \cos \phi' \\ dy = \delta \sin \theta' \sin \phi' \\ dz = \delta \cos \theta' \end{cases}, \begin{cases} F_x = F_0 \sin \theta' \cos \phi' \\ F_y = F_0 \sin \theta' \sin \phi' \\ F_z = F_0 \cos \theta' \end{cases}.$$

and within the dipolar approximation, it gives at order 1 in δ :

$$V_{Dy}(r, \theta, \phi, \theta', \phi') = \delta F_0 \sin \phi \sin \theta \frac{f(\theta, \phi, \theta', \phi')}{64\eta\pi r^2},$$

with

$$f(\theta, \phi, \theta', \phi') = \frac{1 + 3 \cos 2\theta' + 3 \cos 2\theta (1 + 3 \cos 2\theta') + 12 \cos 2(\phi - \phi')}{(\sin \theta \sin^2 \theta' + \sin 2\theta \sin 2\theta')}$$

Now, we consider a uniform distribution of dipoles of concentration c (c being the number of dipoles per unit volume), we can write $c = \Phi/(4\pi a^3/3)$ where Φ is the volume fraction of microswimmers and a is the size of a microswimmer. We integrate that way to obtain the n^{th} momentum of V_{Dy} :

$$\langle V_{Dy}^T \rangle^n = c \int_0^\pi \frac{\sin \theta}{4\pi} d\theta \int_0^\pi \frac{\sin \theta'}{4\pi} d\theta' \int_0^{2\pi} d\phi \int_0^{2\pi} d\phi' \int_{r_0}^{+\infty} V_{Dy}^n(r, \theta, \phi, \theta', \phi') r^2 dr$$

where r_0 is the minimum distance between the probe and the microswimmers.

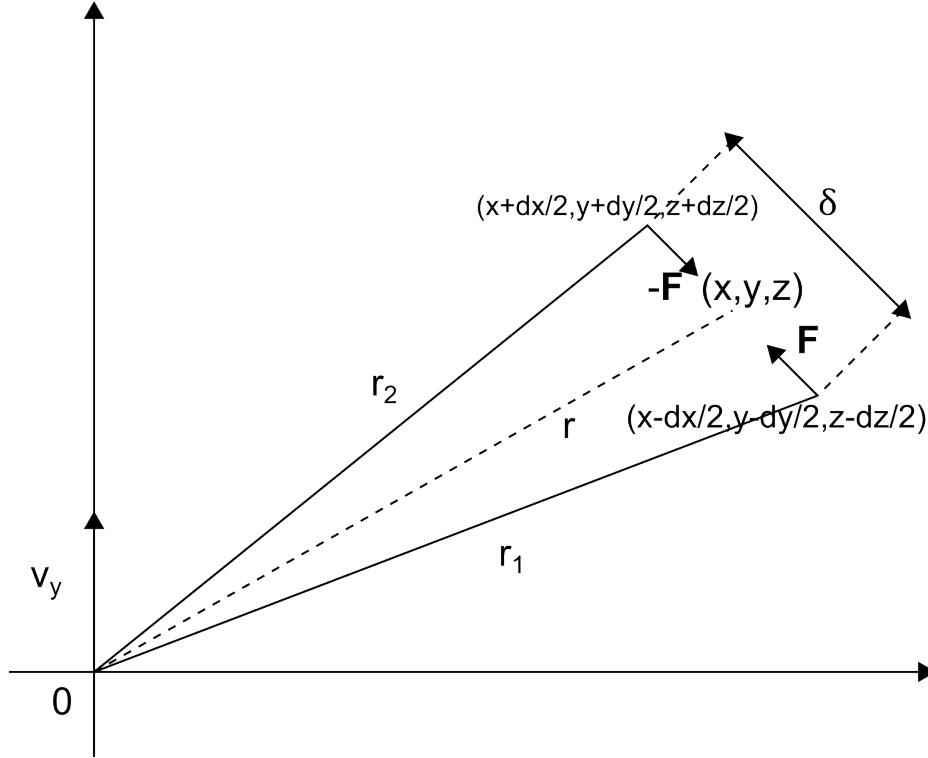


Abb. 8.3: Dipole of forces in (x, y, z)

Once integrated on the angles θ , ϕ , θ' and ϕ' , it reads:

$$\langle V_{Dy}^T \rangle = 0$$

and

$$\langle V_{Dy}^T \rangle^2 = c \int_0^{+\infty} \frac{\delta^2 f_0^2}{240\eta^2\pi^2 r^4} r^2 dr$$

Thus:

$$\langle V_{Dy}^T \rangle^2 = \frac{c\delta^2 f_0^2}{240\eta^2\pi^2 r_0}$$

Since $\phi = (4 * \pi a^3/3)/r_0^3$, $r_0 = (4\pi/(3\phi))^{1/3}$, $c = 3\Phi/(4\pi a^3)$, we get:

$$\langle V_{Dy}^T \rangle^2 = \frac{1}{320} \left(\frac{3}{4\pi^{10}} \right)^{1/3} \frac{\delta^2 f_0^2}{\eta^2 a^4} \Phi^{4/3}$$

Now if we assume that $\delta \approx 2a$ (chlamies' geometry) it gives $f_0 \approx 24\pi\eta a v_c$ (if we assume that the cell velocity is given by $\mathbf{v}_c = \mathbf{f}_0/(6\pi\eta a) - \mathbf{f}_0/(4\pi\eta\delta)$ where the first term is due to the force $+\mathbf{f}_0$ exerted by the body of radius a on the fluid while the second is the force $-\mathbf{f}_0$ exerted by the flagella on the fluid at a distance δ from the body), we finally get:

$$\langle V_{Dy}^T \rangle^2 \approx 1.42 v_c^2 \Phi^{4/3}$$

It is the fluctuation of velocity in one direction created by a set of micro-swimmers. Where v_c is the micro-swimmer velocity and ϕ their volume fraction. So it creates a fluctuation of force along Oy on the probe of diameter R equal to

$$\langle F_0^2 \rangle = (6\pi\eta R)^2 \langle V_{Dy}^T \rangle^2$$

The fluctuation of the noise on a Brownian particle along one direction (Oy) is:

$$f_y = \sqrt{2(6\pi\eta R) K_B T}$$

It is a force times the square root of a time. Therefore, in our case:

$$f_y^2 = \langle F_0^2 \rangle \tau$$

where τ is a typical time associated with the noise (i.e. the random forcing), it reads:

$$2(6\pi\eta R) K_B T = 1.42(6\pi\eta R)^2 v_c^2 \Phi^{4/3} \tau$$

and then:

$$D = \frac{K_B T}{6\pi\eta R} = \frac{1}{2} \langle v_{Dy}^2 \rangle \tau = 0.71 \Phi^{4/3} \frac{v_c^2}{\tau} \quad (8.1)$$

so

$$\frac{D}{\tau} = 0.71 v_c^2 \Phi^{4/3} \quad (8.2)$$

Therefore with probesize R : $D = \frac{1}{2} \langle v_{Dy}^2 \rangle \tau \Rightarrow \langle v_{Dy}^2 \rangle \tau^2 = R$ since $\langle v_{Dy}^2 \rangle$ does not depend on R : $\tau \sim R$ and $D \sim R$

The same kind of dimensional analysis reach:

$$D \sim \Phi^{\alpha'} \left(\frac{R}{a} \right)^{3\alpha'} \frac{f_0}{R\eta} \quad (8.3)$$

with the viscosity η and $\alpha' = 2/3$ we have

$$D \sim \Phi^{2/3} \frac{R}{a} \frac{f_0}{R\eta} \quad (8.4)$$

and

$$\tau \sim \Phi^{\alpha''} \left(\frac{R}{a} \right)^{3\alpha''} \frac{R^3 \eta}{f_0} \quad (8.5)$$

with $\alpha'' = -2/3$ we have

$$\tau \sim \Phi^{-2/3} \frac{R}{a} \frac{a^3 \eta}{f_0} \quad (8.6)$$

Symbolverzeichnis

α	intrinsische Viskosität
$\dot{\gamma}$	Scherrate
ϵ	Kegelwinkel
η	Dynamische Viskosität
η_0	Lösungsmittelviskosität
η_{eff}	Effektive Viskosität
γ	Deformation
ν	Kinematische Viskosität
Ω	Winkelgeschwindigkeit des Kegels beziehungsweise des Zylinders im Scherrheometer
ϕ	Volumenkonzentration der CR Zellen
ϕ_m	Maximale Volumenkonzentration für Kolloidsuspensionen
ψ	Scherwinkel
ρ	Dichte
σ	Anomalie der Diffusion
σ^*	Anomalie aus der Anpassungsfunktion (5.8), vergleichbar mit $\sigma + 1$
τ	Typische Zeit der Diffusion/Übergangszeit der Diffusionsregime
τ_M	Schubspannung
τ_{MFW}	Übergangszeit bestimmt aus der mittleren freien Wegstrecke
θ	Ablenkungswinkel der Sekundärflüsse in der Kegel-Platte Geometrie
$\tilde{R}$	Dimensionslose Kennzahl des Verhältnisses zwischen zentrifugalen und viskosen Kräften in der Kegel-Platte Geometrie
ζ	Drehwinkel der CR Zelle beim Tracking
D	Diffusionskoeffizient
$D(t)$	Zeitabhängiger Diffusionskoeffizient
D_0	Langzeitdiffusionskoeffizient
D_R	Rotationsdiffusionskoeffizient
f_{cis}	Schlagfrequenz <i>cis</i> Flagellum
f_{CR}	Schlagfrequenz Flagellen
f_{trans}	Schlagfrequenz <i>trans</i> Flagellum
Re	Reynoldszahl
T	Temperatur

Abbildungsverzeichnis

3.1	Prokaryotische Zelle und eukaryotische Zelle	12
3.2	Detailschema CR/SEM Aufnahme einer CR Zelle	13
3.3	Maßstabgerechte Skizzen von natürlich vorkommenden Mikroschwimmern	15
3.4	Skizze <i>pusher</i> und <i>puller</i>	16
3.5	Trajektorien von CR	16
3.6	Particle Image Velocimetry von Tracer Partikeln um CR und Skizze Kraftdipolmodell	17
3.7	Scherung eines Volumenelements in x -Richtung	19
3.8	Links: Verlauf der Schubspannung bei newtonschen und nichtnewton- schen Flüssigkeiten; Rechts: Verlauf der Viskosität bei newtonschen und nichtnewtonschen Flüssigkeiten	21
3.9	Skizze der Kegel-Platte und der Taylor-Couette Geometrie	23
3.10	Schema der Geschwindigkeitsvektoren des Sekundärflusses	25
3.11	Diffusion von Partikeln in einem Medium	28
3.12	Random Walk in 2 Dimensionen	29
3.13	MSD gegen die Zeit aufgetragen für verschiedene Diffusionsarten	31
3.14	Beispielhafter Strahlengang für zwei Lichtstrahlen aus einem gaußschen Strahlenbündel	34
3.15	Beispielhafter Strahlengang mit multiplen Reflektionen die verschiedene Reflektions- und Transmissionskoeffizienten ergeben	35
3.16	Wellengang bei der Aufnahme eines Hologramms	36
3.17	Beispiele für Interferenzmuster	36
4.1	Bild eines <i>Haake Mars 2</i> Rheometers	38
4.2	Aufbau der Visualisierungsmessung	42
4.3	Aufbau des Messkanals der mikrorheologischen Messungen	43
4.4	Messaufbau für die mikrorheologischen Messungen	44
4.5	Schema der holografischen optischen Pinzette	47
4.6	Bild der holografischen optischen Pinzette	48
4.7	Bildauswertung von CR Zellen in der holografischen optischen Pinzette	50
4.8	Tracking der Flagelle von CR	51

5.1	Viskosität einer Kolloidsuspension in einer Kegel-Platte und einer Taylor-Couette Geometrie	56
5.2	Relative Viskositätsänderung einer CR Suspension mit Anpassung in einer Kegel-Platte Geometrie und einer Taylor-Couette Geometrie . . .	57
5.3	Intrinsische Viskosität einer CR Suspension in Abhängigkeit der Scherrate in einer Kegel-Platte und einer Taylor-Couette Geometrie	58
5.4	Vergleich der relativen effektiven Viskositätsänderung von zehnprozentigen Suspensionen lebender und fixierter CR aufgenommen in einer Kegel-Platte Geometrie und einer Taylor-Couette Geometrie	60
5.5	Relative Viskositätsänderung einer CR Suspension des Stamms pf22 mit Anpassung in einer Kegel-Platte Geometrie	62
5.6	Intrinsische Viskosität einer CR Suspension des Stamms pf22 in Abhängigkeit der Scherrate in einer Kegel-Platte Geometrie	63
5.7	Visualisierung des Sekundärflusses einer fünfprozentigen CR Suspensionen in einer Kegel-Platte Geometrie	64
5.8	Visualisierung von fünfprozentigen und 15-prozentigen CR Suspensionen in einer Kegel-Platte Geometrie	65
5.9	Auswertung der Visualisierungen fünfprozentigen beziehungsweise 15-prozentige lebenden CR Suspensionen in einer Kegel-Platte Geometrie .	66
5.10	MSD einer Mikrosphäre aufgetragen gegen die Zeit	69
5.11	Berechneter Diffusionskoeffizient für sphärische Partikel	69
5.12	Eine Kugel mit 20 μm Durchmesser in einer dreiprozentigen CR Suspension	70
5.13	Beispiel einer Trajektorie einer Mikrosphäre in einer CR Suspension . .	71
5.14	Trajektorien von Kugeln vor und nach der Korrektur	71
5.15	Sedimentationsgeschwindigkeiten einer Mikrosphäre in CR Suspensionen mit verschiedenen Volumenkonzentrationen	72
5.16	MSD mit korrigiertem Drift von Kugeln in CR Suspensionen verschiedener Volumenkonzentrationen	73
5.17	Übergangszeit der Diffusionsregime eines MSD Datensatzes	74
5.18	Anomalie σ der Diffusion in Abhängigkeit der Volumenkonzentration ϕ	75
5.19	Beispiel der Anpassungsfunktion (5.8)	76
5.20	Zeitabhängiger Diffusionskoeffizient $D(t)$ für verschiedene Volumenkonzentrationen mit Anpassung nach Gleichung (5.8)	77
5.21	Langzeitasymptote D_0 , Übergangszeit τ , Anomalie $\sigma^* + 1$ und D_0/τ aus der Anpassung von $D(t)$ mit Gleichung (5.8) aufgetragen gegen die Volumenkonzentration	79
5.22	CR Zelle in einer optischen Falle	80
5.23	x - und y -Position von CR in einer optischen Falle	81
5.24	Kraftspektrum von CR in einer optischen Falle 1	82
5.25	Kraftspektrum von CR in einer optischen Falle 2	83
5.26	Aufnahme einer CR Zelle in einer optischen Falle	83
5.27	Winkel MSD für verschiedene CR-Zellen	84
5.28	Skizze einer gefangenen CR Zelle in der bewegten Piezobühne	86
5.29	Winkel MSD mit und ohne Bühnenbewegung	87

6.1	Geschwindigkeitsfeld von Taylor-Couette und Kegel-Platte mit Gravitation	90
6.2	Rotation einer lebenden beziehungsweise fixierten Zelle im Scherfluss	91
6.3	Verteilung der Geschwindigkeiten bei CR	91
6.4	Effekt der Phototaxis bei CR	92
6.5	<i>heavy bottom swimmer</i> Modell und Kraftdipolmodell	93
6.6	Skizze einer Trajektorie einer Kugel in einer CR Suspension	97
6.7	Dämpfung des Impulses einer Kugel in Wasser	98
6.8	Kollektiver Prozess, der zu einer gerichteten Bewegung führt in Einzelbildern	100
6.9	Mittlerer Abstand der CR in Abhängigkeit von der Konzentration	102
6.10	Kumulative Verteilungsfunktion der Translationen in y-Richtung für Volumenkonzentrationen von 0,00116 und 0,006	103
6.11	Kumulative Verteilungsfunktion der Translationen in y-Richtung für Volumenkonzentrationen von 0,0256 und 0,046	104
8.1	Kulturschrank für CR	118
8.2	Polynomielle Anpassung der Flagellenbewegung	119
8.3	Dipole of forces in (x, y, z)	121

Literaturverzeichnis

- [1] A. van Leeuwenhoek. Concerning Little Animals by Him Observed in Rain-Well-Sea and Snow Water; as Also in Water Wherein Pepper Had Lain Infused. *Philosophical Transactions*, 12(133):821, 1677.
- [2] Biophysical Society. Microbes May Be Engineered to Help Trap Excess Carbon Dioxide Underground.
<http://www.sciencedaily.com/releases/2012/02/120223103328.htm>, 2012.
02.09.2013.
- [3] S. Schneiker, A. Pühler, P. N. Golyshin, K. N. Timmis, and V. A. P. Martins dos Santos. Die Entschlüsselung der Genomsequenz des marinen, Erdöl-abbauenden Bakteriums *Alcanivorax borkumensis*. *GenomXpress*, 06:17, 2006.
- [4] T. C. Hazen, E. A. Dubinsky, T. Z. DeSantis, G. L. Andersen, Y. M. Piceno, N. Singh, J. K. Jansson, A. Probst, S. E. Borglin, J. L. Fortney, W. T. Stringfellow, M. Bill, M. E. Conrad, L. M. Tom, K. L. Chavarria, T. R. Alusi, R. Lamendella, D. C. Joyner, C. Spier, J. Baelum, M. Auer, M. L. Zemla, R. Chakraborty, E. L. Sonnenthal, P. D'haeseleer, H.-Y. N. Holman, S. Osman, Z. Lu, J. D. Van Nostrand, Y. Deng, J. Zhou, and O. U. Mason. Deep-sea oil plume enriches indigenous oil-degrading bacteria. *Science (New York, N.Y.)*, 330(6001):204–8, October 2010.
- [5] H. Gaffron and J. Rubin. Fermentative and photochemical production of hydrogen in algae. *The Journal of general physiology*, 26(2):219, 1942.
- [6] A. Melis, L. Zhang, M. Forestier, M. L. Ghirardi, and M. Seibert. Sustained Photobiological Hydrogen Gas Production upon Reversible Inactivation of Oxygen Evolution in the Green Alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiology*, 122(1):127, 2000.
- [7] A. C. McBride, S. Lien, R. K. Togasaki, and P. San Anthony. Mutational analysis of *Chlamydomonas reinhardtii*: application to biological solar energy conversion. In *Biol Sol Energy Convers Pap Conf*, page 77. Academic, 1977.

- [8] M. L. Ghirardi, L. Zhang, J. W. Lee, T. Flynn, M. Seibert, E. Greenbaum, and A. Melis. Microalgae: a green source of renewable H₂. *Trends in Biotechnology*, 18(12):506, 2000.
- [9] K. Hollricher. Wasserstoff aus der Alge. *Laborjournal*, 4:40, 2010.
- [10] KOS Wulff Immobilien GmbH. BIQ Das Algenhaus.
<http://www.biq-wilhelmsburg.de/energiekreislauf/energiekonzept.html>.
02.09.2013.
- [11] D. Jensen. Ökostrom aus dem Algenkraftwerk.
<http://www.ftd.de/wissen/:energie-oekostrom-aus-dem-algenkraftwerk/323983.html>, 2008.
02.09.2013.
- [12] R. Kirchner. Kerosin Algenforschung Algentreibstoff Forschungsprojekt.
<http://www.biomasse-nutzung.de/kerosin-algenforschung-algentreibstoff-forschungsprojekt/>, 2011.
02.09.2013.
- [13] K. M. Diesing. Revision der Prothelminthen. Abteilung: Mastigophoren.
Sitzungsberichte der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften., 52:287, 1866.
- [14] A. Einstein. Zur Theorie der Brownschen Bewegung. *Annalen der Physik*, 19:371, 1906.
- [15] A. Einstein. Über die von der molekularkinetischen Theorie der Wärme geforderte Bewegung von in ruhenden Flüssigkeiten suspendierten Teilchen. *Annalen der Physik*, 322(8):549, 1905.
- [16] M. von Smoluchowski. Zur kinetischen Theorie der Brownschen Molekularbewegung und der Suspensionen. *Annalen der Physik*, 326:756, 1906.
- [17] A Einstein. Berichtigung zu meiner Arbeit: „Eine neue Bestimmung der Moleküldimensionen”. *Ann. Phys.*, 339(3):591, 1911.
- [18] M. I. Krieger and T. J. Dougherty. A mechanism for non-Newtonian flow in suspension of rigid spheres. *Transactions of the Society of Rheology*, 3:137, 1959.
- [19] M. Couette. Sur un nouvel appareil pour l etude de frottement des liquides. *Compte Rend. Acad. Sci.*, 107:388, 1888.
- [20] G. I. Taylor. Stability of a Viscous Liquid Contained between Two Rotating Cylinders. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series A, Containing Papers of a Mathematical or Physical Character*, 223:289, 1923.
- [21] S. P. Gibbs, R. A. Lewin, and D. E. Philpott. The fine structure of the flagellar apparatus of *Chlamydomonas moewusii*. *Experimental Cell Research*, 15(3):619, 1958.

- [22] R. P. Levine and W. T. Ebersold. The genetics and cytology of Chlamydomonas. *Annual Reviews in Microbiology*, 14:197, 1960.
- [23] D. Ringo. Flagellar motion and fine structure of the flagellar apparatus in Chlamydomonas. *The Journal of Cell Biology*, 33(3):543, 1967.
- [24] D. J. Jeffrey and A. Acrivos. The rheological properties of suspensions of rigid particles. *AIChE Journal*, 22(3):417, 1976.
- [25] M. I. Krieger. Rheology of monodisperse latices. *Advances in Colloid Interface Science*, 3:111, 1972.
- [26] G. B. Witman, K. Carlson, J. Berliner, and J. L. Rosenbaum. Chlamydomonas flagella. I. Isolation and electrophoretic analysis of microtubules, matrix, membranes, and mastigonemes. *Journal of Cell Biology*, 54(3):507, 1972.
- [27] R. E. Johnson and C. J. Brokaw. Flagellar hydrodynamics. A comparison between resistive-force theory and slender-body theory. *Biophysical journal*, 25(1):113, January 1979.
- [28] T. Oolman, E. Walitza, and H. Chmiel. Zur Rheologie von Biosuspensionen. *Rheologica Acta*, 25(4):433, 1986.
- [29] A. Ashkin and J. M. Dziedzic. Optical trapping and manipulation of viruses and bacteria. *Science*, 235(4795):1520, 1987.
- [30] R. P. McCord, J. N. Yukich, and K. K. Bernd. Analysis of force generation during flagellar assembly through optical trapping of free-swimming Chlamydomonas reinhardtii. *Cell Motility and the Cytoskeleton*, 61(3):137, 2005.
- [31] J. A. Hollm, R. P. Khan, E. N. Marongelli, and W. H. Guilford. Laser Trap Characterization and Modeling of Phototaxis in Chlamydomonas reinhardtii. *Cellular and Molecular Bioengineering*, 2(2):244, 2009.
- [32] U. Rüffer and W. Nultsch. Comparison of the beating of cis- and trans-flagella of Chlamydomonas cells held on micropipettes. *Cell Motility and the Cytoskeleton*, 7(1):87, January 1987.
- [33] U. Rüffer and W. Nultsch. Flagellar coordination in Chlamydomonas cells held on micropipettes. *Cell Motility and the Cytoskeleton*, 41(4):297, 1998.
- [34] E. M. Purcell. Life at low Reynolds number. *American Journal of Physics*, 45:3, 1977.
- [35] T. J. Pedley and J. O. Kessler. Hydrodynamic Phenomena in Suspensions of Swimming Microorganisms. *Annual Review of Fluid Mechanics*, 24(1):313, 1992.
- [36] J. Crocker. Methods of Digital Video Microscopy for Colloidal Studies. *Journal of Colloid and Interface Science*, 179(1):298, 1996.

- [37] M. J. Saxton and K. Jacobson. Single-particle tracking - applications to membrane dynamics. *Annual Review of Biophysics Biomolecular Structure*, 26:373, 1997.
- [38] S. R. Bussolari, C. F. Dewey, and H. P. Sdougos. Secondary flow and turbulence in a cone-and-plate device. *Journal of Fluid Mechanics*, 138:379, 1984.
- [39] A. Ponche and D. Dupuis. On instabilities and migration phenomena in cone and plate geometry. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 127(2-3):123, 2005.
- [40] E. H. Harris, D. Stern, and G. Witman. *The Chlamydomonas Sourcebook*. Elsevier Science & Technology Books, 2008.
- [41] X.-L. Wu and A. Libchaber. Particle diffusion in a quasi-two-dimensional bacterial bath. *Physical Review Letters*, 84(13):3017, 2000.
- [42] M. J. Kim and K. S. Breuer. Enhanced diffusion due to motile bacteria. *Physics of Fluids*, 16(9):L78, 2004.
- [43] A. Lau and T. Lubensky. Fluctuating hydrodynamics and microrheology of a dilute suspension of swimming bacteria. *Physical Review E*, 80(1):011917, 2009.
- [44] K. C. Leptos, J. S. Guasto, J. P. Gollub, A. I. Pesci, and R. E. Goldstein. Dynamics of enhanced tracer diffusion in suspensions of swimming eukaryotic microorganisms. *Physical Review Letters*, 103(19):198103, 2009.
- [45] Y. Hatwalne, S. Ramaswamy, M. Rao, and R. A. Simha. Rheology of Active-Particle Suspensions. *Physical Review Letters*, 92(11):118101, 2004.
- [46] B. M. Haines, A. Sokolov, I. S. Aranson, L. Berlyand, and D. A. Karpeev. Three-dimensional model for the effective viscosity of bacterial suspensions. *Physical Review E*, 80(4):41922, October 2009.
- [47] D. Saintillan. The Dilute Rheology of Swimming Suspensions: A Simple Kinetic Model. *Experimental Mechanics*, 50(9):1275–1281, 2009.
- [48] A. Sokolov and I. S. Aranson. Reduction of Viscosity in Suspension of Swimming Bacteria. *Physical Review Letters*, 103(14):148101, September 2009.
- [49] S. Rafai, L. Jibuti, and P. Peyla. Effective Viscosity of Microswimmer Suspensions. *Physical Review Letters*, 104(9):98102, 2010.
- [50] L. Jibuti, S. Rafai, and P. Peyla. Suspensions with a tunable effective viscosity: a numerical study. *Journal of Fluid Mechanics*, 693(January):345, 2012.
- [51] R. E. Goldstein, M. Polin, and I. Tuval. Noise and synchronization in pairs of beating eukaryotic flagella. *Physical Review Letters*, 103(16):168103, October 2009.

- [52] M. Polin, I. Tuval, K. Drescher, J. P. Gollub, and R. E. Goldstein. Chlamydomonas swims with two “gears” in an eukaryotic version of run-and-tumble locomotion. *Science*, 325(5939):487, 2009.
- [53] T. B. Leoni, M. and Liverpool. Hydrodynamic synchronization of nonlinear oscillators at low Reynolds number. *Physical Review E*, 85(4):40901, 2012.
- [54] B. M. Friedrich and F. Jülicher. Flagellar Synchronization Independent of Hydrodynamic Interactions. *Physical Review Letters*, 109(13):138102, 2012.
- [55] D. Saintillan. Extensional rheology of active suspensions. *Physical Review E*, 81(5):56307, 2010.
- [56] L. Giomi, T. B. Liverpool, and M. C. Marchetti. Sheared active fluids: Thickening, thinning, and vanishing viscosity. *Physical Review E*, 81(5):51908, 2010.
- [57] J. Gachelin, G. Miño, H. Berthet, A. Lindner, A. Rousselet, and E. Clément. Non-Newtonian Viscosity of Escherichia coli Suspensions. *Phys. Rev. Lett.*, 110(26):268103, 2013.
- [58] M. Mussler, S. Rafai, P. Peyla, and C. Wagner. Effective viscosity of non-gravitactic Chlamydomonas Reinhardtii microswimmer suspensions. *Europhysics Letters*, 101(5):54004, 2013.
- [59] Wikimedia. Wikipedia Commons.
- [60] B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, and P. Walter. Molekularbiologie der Zelle, 4. Auflage. *WileyVCH Verlag Weinheim*, 2004.
- [61] Cronodon. *Chlamydomonas*. <http://cronodon.com/BioTech/Chlamydomonas.html>. 20.3.2013.
- [62] E. F. Smith and P. A. Lefebvre. PF16 encodes a protein with armadillo repeats and localizes to a single microtubule of the central apparatus in Chlamydomonas flagella. *The Journal of Cell Biology*, 132(3):359, 1996.
- [63] D. B. Dusenbery. *Living at Micro Scale: The Unexpected Physics of Being Small*. Cambridge, MA: Harvard UP, 2009.
- [64] C. S. Kendeigh. *Animal Ecology*. Englewood Cliffs, N. and Prentice-Hall, J., 1961.
- [65] C. R. Williams and M. A. Bees. A tale of three taxes: photo-gyro-gravitactic bioconvection. *The Journal of experimental biology*, 214(14):2398, 2011.
- [66] F. Wurm and A. F. M. Kilbinger. Polymere Janus-Partikel. *Angewandte Chemie*, 121(45):8564, 2009.

- [67] L. D. Landau and E. M. Lifshitz. *Fluid Mechanics*, volume 6 of *Course of Theoretical Physics*. Pergamon Press, 1987.
- [68] E. Lauga and T. R. Powers. The hydrodynamics of swimming microorganisms. *Reports on Progress in Physics*, 72(9):096601, 2009.
- [69] N. Rott. Note on the History of the Reynolds Number. *Annual Review of Fluid Mechanics*, 22(1):1, 1990.
- [70] M. Garcia, S. Berti, P. Peyla, and S. Rafaï. Random walk of a swimmer in a low-Reynolds-number medium. *Physical Review E*, 83(3):35301, 2011.
- [71] K. Drescher, R. E. Goldstein, N. Michel, M. Polin, and I. Tuval. Direct Measurement of the Flow Field around Swimming Microorganisms. *Physical Review Letters*, 105(16):168101, 2010.
- [72] L. H. Huang and A. T. Chwang. Hydromechanics of low-reynolds-number flow. part 4. singularity methods for stokes flows. *Journal of Fluid Mechanics*, 62(6):787, 1974.
- [73] G. K. Batchelor and J. T. Green. The determination of the bulk stress in a suspension of spherical particles to order c^2 . *Journal of Fluid Mechanics*, 56(03):401, 1972.
- [74] P. W. Atkins, E. D. T. Atkins, J. De Paula, M. Bär, A. Schleitzer, and C. Heinisch. *Physikalische Chemie*. Wiley VCH Verlag GmbH, 2013.
- [75] E. N. C. da Andrade. A Theory of the Viscosity of Liquids. - Part I. *London Edinb. Dub. Philos. Mag. J. Sci*, 17(112)(August):497, 1934.
- [76] H. A. Barnes, J. F. Hutton, and K. Walters. *An introduction to rheology*. Elsevier Science, 1989.
- [77] W. Pabst. Fundamental Considerations on Suspension Rheology. *Ceramics Silikaty*, 48(1):13, 2004.
- [78] A. Dorr, A. Sadiki, and A. Mehdizadeh. A discrete model for the apparent viscosity of polydisperse suspensions including maximum packing fraction. *Journal of Rheology*, 57(3):743, 2013.
- [79] P. C. Hiemenz and R. Rajagopalan. *Principles of Colloid and Surface Chemistry, Third Edition, Revised and Expanded*. Undergraduate Chemistry Series. Taylor & Francis, 1997.
- [80] *Thermo Fisher Scientific*. Thermo Scientific Haake Mars II: Modulares Rheometer System. Benutzerhandbuch.
- [81] D. Highgate. Particle migration in cone-plate viscometry of suspensions. *Nature*, 211:1391, 1966.

- [82] D. T. Chen, E. R. Weeks, J. C. Crocker, M. F. Islam, R. Verma, J. Gruber, A. J. Levine, T. C. Lubensky, and A. G. Yodh. Rheological microscopy: local mechanical properties from microrheology. *Physical Review Letters*, 90(10):108301, 2003.
- [83] V. V. Mehandia and P. R. Nott. The collective dynamics of self-propelled particles. *Journal of Fluid Mechanics*, 595:239, January 2008.
- [84] J. Kirch, A. Schneider, B. Abou, A. Hopf, U. F. Schaefer, M. Schneider, C. Schall, C. Wagner, and C. M. Lehr. Optical tweezers reveal relationship between microstructure and nanoparticle penetration of pulmonary mucus. *PNAS (Proceedings of the National Academy of Sciences)*, 109(45):18355, 2012.
- [85] A. R. Bausch, W. Möller, and E. Sackmann. Measurement of local viscoelasticity and forces in living cells by magnetic tweezers. *Biophysical Journal*, 76(1):573–579, 1999.
- [86] J. Philibert. One and a half century of diffusion: Fick, Einstein, before and beyond. *Diffusion Fundamentals*, 2:1, 2005.
- [87] V. Tejedor, O. Bénichou, R. Voituriez, R. Jungmann, F. Simmel, C. Selhuber-Unkel, L. B. Oddershede, and R. Metzler. Quantitative analysis of single particle trajectories: mean maximal excursion method. *Biophysical Journal*, 98(7):1364–1372, 2010.
- [88] R. Metzler and J. Klafter. The random walk’s guide to anomalous diffusion: a fractional dynamics approach. *Physics reports*, 339, 2000.
- [89] I. M. Tolić-Nørrelykke, E.-L. Munteanu, G. Thon, L. Oddershede, and K. Berg-Sørensen. Anomalous diffusion in living yeast cells. *Physical Review Letters*, 93(7):078102, 2004.
- [90] N. Gal and D. Weihs. Experimental evidence of strong anomalous diffusion in living cells. *Physical Review E*, 81(2):020903, 2010.
- [91] A. Ashkin. Acceleration and Trapping of Particles by Radiation Pressure. *Physical Review Letters*, 24(4):156–159, January 1970.
- [92] T. H. Maiman. Stimulated Optical Radiation in Ruby. *Nature*, 187(4736):493, 1960.
- [93] A. Ashkin. Optical Levitation by Radiation Pressure. *Applied Physics Letters*, 19(8):283, 1971.
- [94] A. Ashkin and J. P. Gordon. Cooling and trapping of atoms by resonance radiation pressure. *Optics Letters*, 4(6):161, 1979.

- [95] A. Ashkin, J. M. Dziedzic, J. E. Bjorkholm, and S. Chu. Observation of a single-beam gradient force optical trap for dielectric particles. *Optics Letters*, 11(5):288, 1986.
- [96] T. Kuga, Y. Torii, N. Shiokawa, T. Hirano, Y. Shimizu, and H. Sasada. Novel Optical Trap of Atoms with a Doughnut Beam. *Physical Review Letters*, 78(25):4713, 1997.
- [97] A. Ashkin. Forces of a single-beam gradient laser trap on a dielectric sphere in the ray optics regime. *Biophysical Journal*, 61(2):569, 1992.
- [98] A. Jung. *Untersuchung einer Ca^{2+} - induzierten Erythrocytenadhäsion mittels holographischer optischer Pinzetten*. Dissertation, Universität des Saarlandes, 2009.
- [99] P. Fernández and A. Ott. Single cell mechanics: stress stiffening and kinematic hardening. *Physical Review Letters*, 100(23):238102, 2008.
- [100] C. G. Galbraith and M. P. Sheetz. Keratocytes pull with similar forces on their dorsal and ventral surfaces. *Journal of Cell Biology*, 147(6):1324, 1999.
- [101] B. D. Hoffman, G. Massiera, K. M. van Citters, and J. C. Crocker. The consensus mechanics of cultured mammalian cells. *PNAS (Proceedings of the National Academy of Sciences)*, 103(27):10264, 2006.
- [102] Y. Shimamoto, Y. T. Maeda, S. Ishiwata, A. J. Libchaber, and T. M. Kapoor. Insights into the Micromechanical Properties of the Metaphase Spindle. *Cell*, 145(7):1062, 2011.
- [103] J. Howard. *Mechanics of Motor Proteins and the Cytoskeleton*. Palgrave Macmillan, 2005.
- [104] A. M. Roberts. Mechanisms of Gravitaxis in Chlamydomonas . *The Biological Bulletin*, 210(2):78, 2006.
- [105] D. Reiche and Hoffmann-La-Roche-Aktiengesellschaft (Grenzach-Wyhlen). *Roche Lexikon Medizin*. Urban & Fischer, 2003.
- [106] J. G. Savins and A. B. Metzner. Radial (secondary) flows in rheogoniometric devices. *Rheologica Acta*, 9(3):365, 1970.
- [107] D. C. McDonald, J. C. and Duffy, J. R. Anderson, D. T. Chiu, H. Wu, O. J. A. Schueller, and G. M. Whitesides. Fabrication of microfluidic systems in poly(dimethylsiloxane). *Electrophoresis*, 21(1):27, 2000.
- [108] W. Schrott, Z. Slouka, P. Cervenka, J. Ston, M. Nebyla, M. Pribyl, and D. Snita. Study on surface properties of PDMS microfluidic chips treated with albumin. *Biomicrofluidics*, 3(4):44101, 2009.

- [109] F. Papadopoulos, M. Spinelli, M. Valente, L. Foroni, C. Orrico, F. Alviano, and G. Pasquinelli. Common tasks in microscopic and ultrastructural image analysis using imagej. *Ultrastructural Pathology*, 31(6):401, 2007.
- [110] J. Crocker and E. Weeks. Particle Tracking Using IDL.
<http://www.physics.emory.edu/~weeks/idl/>. 20.06.2013.
- [111] P. Steffen. *Quantification of Red Blood Cell Adhesion using Holographic Optical Tweezers and Single Cell Force Spectroscopy*. Dissertation, Universität des Saarlandes, 2012.
- [112] C. Ruloff. Untersuchung der Verarmungskräfte in binären Lösungen mit Hilfe holographischer optischer Pinzetten, 2010. Diplomarbeit.
- [113] P. V. Bayly, B. L. Lewis, E. C. Ranz, R. J. Okamoto, R. B. Pless, and S. K. Dutcher. Propulsive Forces on the Flagellum during Locomotion of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Biophysical Journal*, 100(11):2716, 2011.
- [114] P. Fernández, L. Heymann, A. Ott, N. Aksel, and P. A. Pullarkat. Shear rheology of a cell monolayer. *New Journal of Physics*, 9(11):419, 2007.
- [115] R. Milo, P. Jorgensen, U. Moran, G. Weber, and M. Springer. BioNumbers—the database of key numbers in molecular and cell biology. *Nucleic Acids Research*, 38(Database issue):D750, 2010.
- [116] A. M. Mastro, M. A. Babich, W. D. Taylor, and A. D. Keith. Diffusion of a small molecule in the cytoplasm of mammalian cells. *PNAS (Proceedings of the National Academy of Sciences)*, 81(11):3414–3418, June 1984.
- [117] M. E. Fewell and J. D. Hellums. The secondary flow of Newtonian fluids in cone-and-plate viscometers. *Journal of Rheology*, 21(4):535, 1977.
- [118] R. Kamiya. Exploring the function of inner and outer dynein arms with *Chlamydomonas* mutants. *Cell Motility and the Cytoskeleton*, 32(2):98, 1995.
- [119] J. F. Richardson and W. N. Zaki. Sedimentation and fluidisation: Part I. *Chemical Engineering Research and Design*, 75(3):82, 1997.
- [120] A. Hamid, J. J. Molina, and R. Yamamoto. Sedimentation of non-Brownian spheres at high volume fractions. *Soft Matter*, 42:10056, 2013.
- [121] J. Palacci, C. Cottin-Bizonne, C. Ybert, and L. Bocquet. Sedimentation and Effective Temperature of Active Colloidal Suspensions. *Physical Review Letters*, 105(8):88304, 2010.
- [122] D. L. Koch. Hydrodynamic diffusion in a suspension of sedimenting point particles with periodic boundary conditions. *Physics of Fluids*, 6(9):2894, 1994.
- [123] P. Peyla and S. Rafaï. Private Kommunikation, 2013.

- [124] G. L. Miño, J. Dunstan, A. Rousselet, E. Clément, and R. Soto. Induced Diffusion of Tracers in a Bacterial Suspension: Theory and Experiments. *Journal of Fluid Mechanics*, 729:423, 2013.
- [125] G. L. Hunter, K. V. Edmond, M. T. Elsesser, and E. R. Weeks. Tracking rotational diffusion of colloidal clusters. *Optics express*, 19(18):17189–202, 2011.
- [126] T. Ishikawa and T. J. Pedley. The rheology of a semi-dilute suspension of swimming model micro-organisms. *Journal of Fluid Mechanics*, 588:399, 2007.
- [127] T. Ishikawa, T. J. Pedley, and T. Yamaguchi. Orientational relaxation time of bottom-heavy squirmers in a semi-dilute suspension. *Journal of Theoretical Biology*, 249(2):296, 2007.
- [128] T. Ishikawa and T. J. Pedley. Diffusion of swimming model micro-organisms in a semi-dilute suspension. *Journal of Fluid Mechanics*, 588(2007):437, 2007.
- [129] F. F. Abraham. Functional Dependence of Drag Coefficient of a Sphere on Reynolds Number. *Physics of Fluids*, 13(8):2194, 1970.
- [130] H. Tanaka and T. Araki. Simulation Method of Colloidal Suspensions with Hydrodynamic Interactions. *Physical Review Letters*, 85(6):1338, 2000.
- [131] B. Rinn, K. Zahn, P. Maass, and G. Maret. Influence of hydrodynamic interactions on the dynamics of long-range interacting colloidal particles. *Europhysics Letters*, 46(4):537, 1999.
- [132] I. M. Zaid, J. Dunkel, and J. M. Yeomans. Lévy fluctuations and mixing in dilute suspensions of algae and bacteria. *Journal of The Royal Society Interface*, 8(62):1314, 2011.
- [133] I. Rhee, M. Shin, S. Hong, and K. Lee. On the levy-walk nature of human mobility. *IEEE/ACM Transactions on Networking (TON)*, 19(3):630, 2011.
- [134] X. Zheng, B. ten Hagen, A. Kaiser, M. Wu, H. Cui, Z. Silber-Li, and H. Löwen. Non-Gaussian statistics for the motion of self-propelled Janus particles: Experiment versus theory. *Phys. Rev. E*, 88(3):032304, 2013.
- [135] H. Nicolai, B. Herzhaft, E. J. Hinch, L. Oger, and E. Guazzelli. Particle velocity fluctuations and hydrodynamic self-diffusion of sedimenting non-Brownian spheres. *Physics of Fluids*, 7(1):12, 1995.
- [136] G. Foffano, J. S. Lintuvuori, A. N. Morozov, K. Stratford, M. E. Cates, and D. Marenduzzo. Bulk rheology and microrheology of active fluids. *The European physical journal. E, Soft matter*, 35(10):98, October 2012.
- [137] D. Mizuno, C. Tardin, C. Schmidt, and F. Mackintosh. Nonequilibrium mechanics of active cytoskeletal networks. *Science*, 315(5810):370, 2007.

- [138] E. Bertin, H. Chaté, F. Ginelli, S. Mishra, A. Peshkov, and S. Ramaswamy. Mesoscopic theory for fluctuating active nematics. *New J. Phys.*, 15(8):085032, 2013.
- [139] D. S. Gorman and R. P. Levine. Cytochrome f and plastocyanin: their sequence in the photosynthetic electron transport chain of *Chlamydomonas reinhardtii*. *PNAS (Proceedings of the National Academy of Sciences)*, 54(6):1665, 1965.
- [140] R. A. Andersen. *Algal Culturing Techniques*. Academic Press. Elsevier/Academic Press, 2005.
- [141] N. A. Hill and T. J. Pedley. Bioconvection. *Fluid Dynamics Research*, 37(1):1–20, 2005.
- [142] M. A. Bees and N. A. Hill. Linear bioconvection in a suspension of randomly swimming, gyrotactic micro-organisms. *Physics of Fluids*, 10:1864, 1998.
- [143] P. V. Bayly, B. L. Lewis, P. S. Kemp, R. B. Pless, and S. K. Dutcher. Efficient spatiotemporal analysis of the flagellar waveform of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Cytoskeleton*, 67(1):56, 2010.

Danksagung

Ich möchte mich am Schluss dieser Dissertation bei den Menschen bedanken, die meinen Weg in den letzten Jahren sowohl in wissenschaftlicher als auch privater Hinsicht begleitet haben.

Dabei möchte ich zuerst meinen Dank an Prof. Dr. Christian Wagner aussprechen, der ein Arbeitsumfeld geschaffen hat, das bestimmt war von guter Betreuung, anregenden wissenschaftlichen Diskussionen und Möglichkeiten, die Forschungswelt auch abseits der Universität des Saarlandes kennenzulernen.

Während meines Aufenthalts in Grenoble konnte ich vieles dazulernen und meine Ausbildung sehr bereichern. Dafür möchte ich mich bei Dr. Salima Rafai und Prof. Dr. Philippe Peyla für die gute Betreuung bedanken. Sie haben stets meine Arbeit begleitet und waren für mich immer kompetente Ansprechpartner.

Ein besonderer Dank geht außerdem an Dr. Thomas John. Er hat mir Perspektiven aufgezeigt, bestimmte Aspekte von anderen Blickwinkeln zu betrachten und mit sehr viel Geduld und Sorgfalt Korrekturlesungen dieser Dissertation durchgeführt.

Meine Arbeitsgruppe war immer ein Umfeld, in dem ich mich sehr gerne aufgehalten habe. Die Kollegialität, Freundschaft und der Zusammenhalt haben meinen Arbeitstag bereichert. Dafür vielen Dank!

Ein weiterer Eckpfeiler der diese Arbeit ermöglicht hat, waren die tollen Umsetzungen meiner Messaufbauten durch die schnelle und genaue Arbeitsweise der mechanischen Werkstatt. Dafür möchte ich mich bei M. Schmidt stellvertretend bedanken.

Für die immer andauernde und aufopferungsvolle Unterstützung in teilweise harten Zeiten möchte ich mich bei meiner Frau Anne bedanken. Sie hat mich immer ermutigt, wenn die Frustration groß war und mir den Rücken freigehalten, um diese Dissertation abzuschließen.

Ein sehr großer Dank gilt meinen Eltern Mathilde und Erich, die mich bei all meinen Ausbildungsschritten in höchsten Maße unterstützt haben und auf die ich immer zählen kann. Ohne sie wäre das alles nicht möglich gewesen.

Ich möchte mich auch bei meinen Schwiegereltern Mia und Bernd bedanken, sie haben mich wie einen eigenen Sohn in die Familie und in ihr Heim aufgenommen und unterstützt.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet. Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form in einem Verfahren zur Erlangung eines akademischen Grades vorgelegt.

Saarbrücken,

.....
(Matthias Mußler)

