

# Varmepumpe-tørkesystem som ny metode for konservering av biobank-materialer

**Marius Bakken**

Master i produktutvikling og produksjon  
Oppgaven levert: Desember 2011  
Hovedveileder: Trygve Magne Eikevik, EPT



Norges teknisk-  
naturvitenskapelige universitet  
NTNU

Institutt for energi- og prosesseteknikk

EPT-M-2011-nr

## **MASTEROPPGAVE**

for

Stud.techn. Marius Bakken

Høsten 2011

### **Utvikling av varmepumpe-tørkesystem for konservering av biobank-materialer**

*Development of Heat Pump Drying System for Conservation of Bio-bank Materials*

#### **Bakgrunn**

En biobank kan defineres som en samling av humant biologisk materiale, eksempelvis blod, andre vevsmaterialer, cellematerialer, vev eller organer fra levende eller døde mennesker. Humant vev har vært lagret i mange tiår i vestlige land til ulike medisinske formål. Etter at det menneskelige genom ble bestemt i 1999 har behovet for lagring av humane celler, vev og væsker økt betraktelig på verdensbasis. Dette gjelder både i diagnostisk og terapeutisk sammenheng samt i forskningssammenheng. Benyttet metode har vært og er bruk av fryseteknikk slik som bl.a. flytende nitrogen. Bruk av flytende nitrogen er kostbart og kan forårsake skader på materialet som reduseres i verdi i medisinsk sammenheng. Slik skade kan oppstå bl.a. på grunn av dannelse av iskrystaller som ødelegger vevet. Også i forbindelse med opptining fra frosset tilstand kan det oppstå skade på vevsmaterialet.

Ved NTNU/SINTEF er det i de senere år gjennomført tørking av ulikt biologisk materiale hvor biologisk funksjon er ivaretatt. Materialet har gjenfunnet sin biologiske aktivitet etter tilsats av vann. Dette tyder på at skade på materialet ved fjerning av vann har vært liten, avhengig av tørkebetingelsene og rehydreringsbetingelsene. Det har innledningsvis gjennom en prosjekt- og

hovedoppgave vært fokusert på å måle endringer i biomolekylene DNA og RNA som funksjon av tørkebetingelsene og vanninnholdet for en vevstype hos rotte. Resultatene fra disse forsøkene er gode og denne oppgavens hensikt er å gå videre med studier av ulike tørkeparameteres innvirkning på biomaterialer. Oppgavens hensikt er å studere ny lavtemperatur tørketeknikk som alternativ til frysing for bevaring av vevsmaterialer, samt utvikling av utstyr for tørkeprosessen.

## **Mål**

Opgavens mål er å utvikle og teste ny varmpumpebasert tørkeprosess for biobankmaterialer.

## **Opgaven bearbeides ut fra følgende punkter:**

1. Videreføre litteratursøk vedrørende tørking og lagring av biologisk aktive komponenter, celler og vev mht kvalitetsendring og systemdesign.
2. Evaluere og presentere resultater fra tørke- og lagringsforsøk av prøver, videreført fra prosjektoppgave
3. Kartlegge behov og kapasitet for utstyr, samt kravspesifikasjon for hygiene
4. Utforme tørkekammer for samtidig tørking av prøver fra flere individer, samt gjennomføre enkle forsøk for å teste ut kammer mht kontaminering
5. Dimensjonere og designe et komplett tørkeanlegg
6. Utarbeide utkast til publikasjon basert på resultater fra prosjekt- og masteroppgave
7. Utarbeide forslag til videreføring

” - ”

Senest 14 dager etter utlevering av oppgaven skal kandidaten levere/sende instituttet en detaljert fremdrift- og evt. forsøksplan for oppgaven til evaluering og evt. diskusjon med faglig ansvarlig/veiledere. Detaljer ved evt. utførelse av dataprogrammer skal avtales nærmere i samråd med faglig

ansvarlig.

Besvarelsen redigeres mest mulig som en forskningsrapport med et sammendrag både på norsk og engelsk, konklusjon, litteraturliste, innholdsfortegnelse etc. Ved utarbeidelsen av teksten skal kandidaten legge vekt på å gjøre teksten oversiktlig og velskrevet. Med henblikk på lesning av besvarelsen er det viktig at de nødvendige henvisninger for korresponderende steder i teksten, slik som tabeller og figurer må anføres på begge steder. Ved bedømmelsen legges det stor vekt på at resultatene er grundig bearbeidet, at de oppstilles tabellarisk og/eller grafisk på en oversiktlig måte, og at de er diskutert utførlig.

Alle benyttede kilder, også muntlige opplysninger, skal oppgis på fullstendig måte. (For tidsskrifter og bøker oppgis forfatter, tittel, årgang, sidetall og evt. figurnummer.)

Det forutsettes at kandidaten tar initiativ til og holder nødvendig kontakt med faglærer og veileder(e). Kandidaten skal rette seg etter de reglementer og retningslinjer som gjelder ved alle (andre) fagmiljøer som kandidaten har kontakt med gjennom sin utførelse av oppgaven, samt etter eventuelle pålegg fra Institutt for energi- og prosessteknikk.

I henhold til ”Utfyllende regler til studieforskriften for teknologistudiet/sivilingeniørstudiet” ved NTNU § 20, forbeholder instituttet seg retten til å benytte alle resultater i undervisnings- og forskningsformål, samt til publikasjoner.

Ett -1 komplett eksemplar av originalbesvarelsen av oppgaven skal innleveres til samme adressat som den ble utlevert fra. (Det skal medfølge et konsentrert sammendrag på maks. en maskinskrevet side med dobbel linjeavstand med forfatternavn og oppgavetittel for evt. referering i tidsskrifter).

Til Instituttet innleveres to - 2 komplette, kopier av besvarelsen. Ytterligere kopier til evt. medveiledere/oppgavegivere skal avtales med, og evt. leveres direkte til, de respektive.

Til instituttet innleveres også en komplett kopi (inkl. konsentrerte sammendrag) på CD-ROM i Word-format eller tilsvarende. CD-ROM skal inneholde alle filer som er relevant for oppgaven. Dette gjelder regneark, måledata, tegninger etc.

Institutt for energi og prosessteknikk, 1. september 2011

---

Prof. Olav Bolland  
Instituttleder

---

Prof. Trygve M. Eikevik  
Faglig ansvarlig/veileder

Medveileder(e):

Prof. Ingvald Strømmen, E-mail: [ingvald.strommen@ntnu.no](mailto:ingvald.strommen@ntnu.no)

Førsteamanuensis Jostein Halgunset, Det Medisinske Fakultet, tlf.: 72573347, e-mail:  
[jostein.halgunset@ntnu.no](mailto:jostein.halgunset@ntnu.no)

## **Forord**

Denne diplomoppgaven er et selvstendig stykke arbeid, og baserer seg på prosjektet som jeg gjorde høsten 2008, samt en andre runde med forsøk sommeren 2009. Opprinnelig fattet jeg interesse for emnet ved bruken av varmepumpe, som jeg anser som et generelt underutnyttet verktøy for å effektivisere energibruk. Når oppgaven viste seg å være et samarbeid med Regional forskningsbiobank i Midt-Norge, bestemte jeg meg for å ta oppgaven. Uttak av masteroppgaven ble utsatt flere ganger på grunn av manglende studieprogresjon. I perioden jeg har skrevet oppgaven har jeg ikke bodd i eller i nærheten av Trondheim, og har derfor ikke hatt mulighet til å utforme et tørkekammer eller gjøre videre forsøk.

Jeg vil takke Trygve Magne Eikevik og Jostein Strømmen for oppstart, veiledning og oppfølging under prosjektet ifra instituttet sin side. Samt Jostein Halgunset og Haakon Skogseth for assistanse med koordinering av prosjektet. Også en stor takk til Toril Rolfseng som har gjort en stor jobb med analysering av alle prøvene, samt å bistå meg med alt jeg kunne trenge ved sykehuset. Takk til studierådgiver Ruth Mørch for stor forståelse og tilretteleggelse av studiet og master oppgaven. Igjen takk til Trygve M. Eikevik for å ha tålmodighet med meg og oppgaven og for å være fleksibel til å imøtekomme forsinkelser og begrensninger som har kommet med arbeidet.

Jeg ønsker vedkommende som tar opp prosjektet, enten være seg master- eller doktorstudie, lykke til med videre fremgang!

## Sammendrag

Oppgaven tar for seg resultater fra tidligere master oppgave av Jannicke Sjøvold, prosjektoppgave samt en annen runde med forsøk tatt av undertegnede. Her tørket og lagret vi henholdsvis rotte- og museorganer, for å se om kvaliteten forringes under noen av prosessene. De første resultatene var lovende, men ikke dekkende nok for helheten. Jeg utvidet derfor mengden av prøver, samt konsentrerte meg kun om den mest relevante parameteren ved analysene. RNA bevarelsesgraden, også kalt RIN-faktoren. RNA er et skjørt materiale, og dersom dette bevares, vil sannsynligvis annet materiale også bevares.

Vi tok for oss lever, hjerte, lunge, nyre og skjelett muskulatur fra mus. Delte de inn i ti dyr, med fem dyr for hver tørkebetingelse. De ble tørket ved +5°C i 24 timer og -10°C i 48 timer. Deretter ble de lagt til lagring i kjøleskap ved omlag +4°C og i en fryser ved -20°C i fem måneder.

Resultatene viste en sammenheng mellom lave temperaturer og høye verdier av RIN. De viste også en motsetning til tidligere resultater, med lavere RIN på prøver tørket ved +5°C, samt uakseptable lave verdier ved lagring i kjøleskap. Dessuten var det en viss forskjell avhengig hvilket organ vi tørket og lagret.

Videre er det sammenfattet forslag for en varmepumpe som basis for tørkeanlegget, med ulike muligheter og løsninger.



## **Abstract**

This master thesis evaluates results from earlier master thesis by Jannicke Sjøvold and two projects of samples by yours truly. In these we dried and stored organs from rat and mice, to explore the impact under said processes. The initial results were promising, but not quite satisfactory. I therefor expanded the amount of samples, and narrowed the analysis to the most relevant parameter, the RNA Identification Number (RIN). RNA is a fragile material, and if it is preserved, so are any other material.

We examined liver, heart, lung, kidney and skeleton muscles from mice. They were divided into ten animals, five for each drying condition, and dried at +5°C for 24 hours and -10°C for 48 hours. Then they were put in a refrigerator at about +4°C and a freezer at -20°C in storage for five months.

The results showed a coherence between low temperatures and high values of RIN. They also showed contradictory results from previous results, with lower RIN on tests dried at +5°C, along with unacceptable low values when stored in the refrigerator. Also there was a slight difference in scores depending on which organs we dried and stored.

Further there is a compromised suggestion for a heatpump as foundation for a dryingsystem, with different possibilities and solutions.

# Innholdsfortegnelse

Forord .....	iv
Sammendrag .....	v
Abstract .....	vi
1. Innledning .....	1
1.1 Prosjektoppgaven .....	1
1.2 Sommerjobben .....	2
2. Varmepumpe .....	4
2.1 Varmepumpetørke .....	5
2.2 Systemløsninger .....	5
2.3 Tørkesystem .....	6
3. Prosjektparametre .....	7
4. Resultater .....	8
5. Diskusjon .....	13
6. Videre arbeid .....	14
7. Referanser .....	15
Vedlegg .....	16

# 1. Innledning

Grunnstenen i hele prosjektet som omgir master oppgaven, er hypotesen om at tørket biobankmateriale vil kunne lagres med en betydelig lavere kostnad, enn dagens måte med flytende nitrogen og dypfrysere. Før man kan beregne kostnadene mot hverandre, må man være sikker på at kvaliteten på den nye metode med tørking er god nok til å erstatte den nåværende metode. Vi har derfor gjort forsøk og analyser på materiale som er tørket og lagret ved ulike betingelser.

Prosjektet startet med et samarbeid mellom Trygve Magne Eikevik og Jostein Strømmen ved Institutt for energi- og prosessteknikk ved Norges Teknisk-Naturvitenskapelige Universitet(NTNU) og Jostein Halgunset ved Institutt for Laboratoriemedisin, Barne- og Kvinnesykdommer(LBK), Regional forskningsbiobank i Midt-Norge, NTNU. Disse tre var veiledere for prosjekt- og diplomoppgave av Jannicke Sjøvold høsten 2005 og vår 2006 respektive. Disse tre, samt Haakon Skogseth og Toril Rolfseng, var også veiledere for min prosjekt- og diplomoppgave. Oppgaven min nå var å arbeide videre ut fra de lovende resultatene både hun og jeg oppnådde.

## 1.1 Prosjektoppgaven

Prosjektoppgaven min tok for seg tørking av museorganger ved omlag  $+5^{\circ}\text{C}$  og  $-10^{\circ}\text{C}$ . De ble tørket i en brett-tørke ved Kjøleteknisk Laboratorie på Gløshaugen, NTNU, i perioden mellom 25. november og 1. desember 2008. Det ble her tørket lever, hjerter og lunger fra mus. Organene var samlet inn og fordelt i cryorør på Regional forskningsbiobank Midt-Norge, med lokaler på St. Olavs hospital ved Institutt for Laboratoriemedisin, Barne- og Kvinnesykdommer.

Opgaven baserte seg igjen på en master oppgave ved NTNU av Jannicke Sjøvold i 2006, som viste lovende resultater for tørking av den gang rottelever. Prosjektet mitt bekreftet disse resultatene, samtidig som de viste at metoden var overførbar til andre, mindre cellerike, organer, som hjerte og til dels lunge.

På grunn av tidsrommet forsøkene ble gjort i, antall tørkeparametere og tørketid, ble det til at noen av uttakene av prøver ble gjort utenfor vanlig arbeidstid. Derfor måtte jeg ved en anledning selv legge prøvene til oppbevaring på hospitalet. Under denne seansen forkom det i følge instituttet det de klassifiserte som et avvik, at et fåtall av cryorørene eksploderte. Dette medførte at flere av prøvene gikk tapt, og mangfoldet av antall prøver og variable ble noe redusert.

Brorparten av prøvene ble analysert sporenstreks, mens resten skulle ligge til mai, for så å ta mål på om og hvor mye de ble nedbrutt ved lagring, under ulike forhold. Men når tiden kom var det to problemer som dukket opp. Først som nevnt ovenfor, at endel av prøvene ble destruert, og at vi derfor ikke hadde mange komplette serier av prøver som vi kunne sammenlikne mellom uten og med lagringstid. Dessuten ble de ansatte ved Regional forskningsbiobank Midt-Norge informert om at de reagensene de hadde benyttet, og vi hadde brukt på våre prøver, var under par med de fra en annen leverandør. De valgte derfor å bytte leverandør og reagenser, så det ville blitt to ulike når vi skulle analysere prøvene vi hadde samlet og lagret. Når det senere skulle vise seg at jeg fikk bedre tid enn forventet på master oppgaven, ble det bestemt at jeg skulle ta en ny runde med prøver i juni 2009 istedet.

## 1.2 Sommerjobben

Andre runde med innsamling av prøver ble gjort i perioden 8. juni til 24. juni 2009 som en sommerjobb av meg. Denne gangen tok vi våre forhåndsregler fra tidligere erfaringer, og la opp til et mye større omfang av prøver. Vi tørket igjen ved både +5°C og -10°C. Fem dyr ved hver temperatur. Med fem forskjellige organer fra hver; hjerte, lunge, lever, nyre og skjelett muskulatur. Disse ble igjen fordelt inn i: kontroller, tørket uten lagring, tørket med lagring i kjøleskap og tørket og lagret i fryser. For hver av disse tok vi en prøve A og B som sikkerhet. I tillegg til de ti dyrene hadde vi fire dyr ekstra som sikkerhet, to ved hver tørkebetingelse. Disse ble klassifisert som dyr elleve til fjorten, og det ble aldri nødvendig å analysere de.

Den store, åpenbare forskjellen fra forrige runde med forsøk, var at denne gangen sorterte jeg prøvene i en fryser. Jeg hentet prøvene og brakte de med meg i flytende nitrogen i termos som før, men istedet for å legge ut prøvene på brettet i romtemperatur, så arbeidet jeg nede i en alminnelig, tom fryser. Jeg benyttet meg av engangs hansker, vernebriller og pinsetter. Det var selvfølgelig kaldt og en pine i lengden, men organene ble mye bedre bevart. Ingen ble seige og klebrige eller rant ut, men de var veldig lett håndterlige.

Jeg tørket alle prøvene av dyr 1 og 2 sammen på samme brett. Også 3 og 4 i neste runde på samme brett. Og en siste runde med dyr 5 og 11 på ett brett, og dyr 12 alene på ett brett som lå under. Det ble gjort likens ved dyr 7 til 10, samt dyr 13 og 14. Prøvene tørket ved +5°C ble tørket i ett døgn, mens prøvene ved -10°C stod i to døgn. Opprinnelig var planen å tørke i ett døgn ved begge parametere, siden tørkekurvene fra prosjektet viste at de var ferdigtørkede allerede da. Men når jeg

inspiserte prøvene ved  $-10^{\circ}\text{C}$  etter ett døgn, så de fortsatt frosne og utørket ut. Samtidig hadde prøvene beveget seg noe på brettet, og i frykt for at de skulle flytte seg mer når de tørket mer, så skrudde jeg ned lufthastigheten. Den synlige mangelen på tørking og den lave hastigheten, gjorde at jeg ble bekymret for høy luftfuktighet og lav luftgjennomstrømning i tørka ved lav temperatur.

Når jeg så omsider tok ut prøvene igjen etter to døgn, virket prøvene som å være i samme forfatning som dagen før. Jeg var derfor ikke sikker på om prøvene virkelig trengte to døgn for å tørke, men lot også resten av prøvene tørke såpass lenge, for å ha kontinuitet i forsøkene. Prøvene av lever var også preget av en hvit farge, som jeg tok som en indikasjon på at de var kalde eller frosne. I det jeg skulle ta de ut, var det noen som delte seg ved berøring og de hadde en sprø struktur. Dette indikerer at de er godt tørket uten en kollaps av strukturen.

Når prøvene var ferdig tørket ble de igjen lagt i cryorør, og fraktet til sykehuset i en termos med flytende nitrogen. Her ble de sortert og lagt i pappbeholdere for oppbevaring i kjøleskap og fryser frem til november samme år. Vi gikk ut ifra en temperatur på omlag  $+4^{\circ}\text{C}$  i kjøleskapet og  $-20^{\circ}\text{C}$  i fryseren. Prøvene som lå til lagring ble ferdig analysert 20. november 2009.

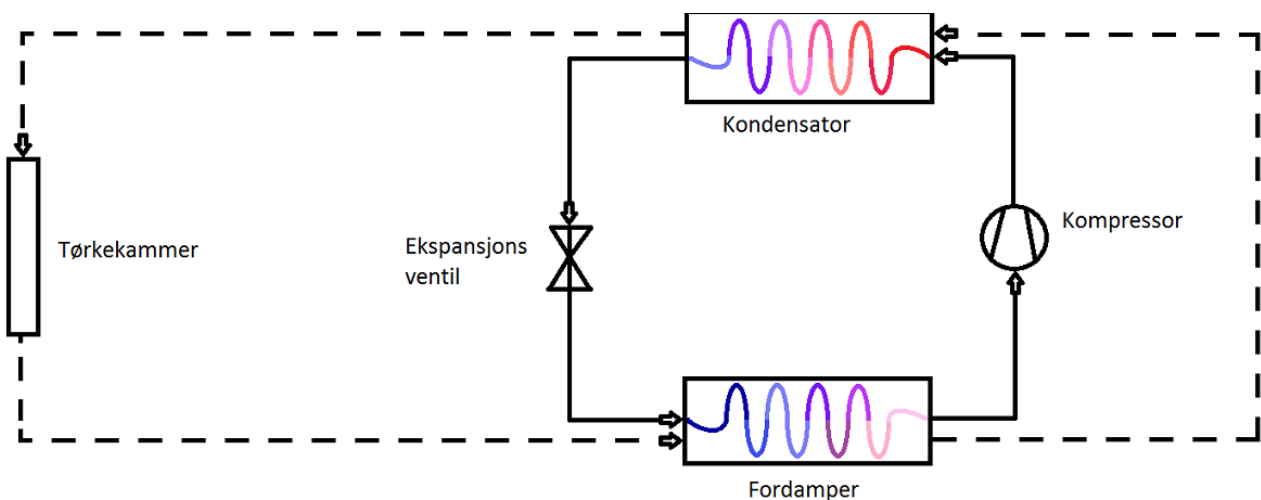
## 2. Varmepumpe

En varmepumpe i dets enkleste form følger en kontinuerlig rundgang mellom fordamper, kompressor, kondensator og ekspansjons ventil, vist ved systemet som følger den heltrukne linjen i figuren under. Fordamperen og kondensatoren fungerer som varmevekslere med omgivelsene, hvor fordamperen tar opp varme fra en kilde, og kondensatoren avgir til en annen. I systemet løper det en såkalt kjølemiddel, og dette blir varmet opp, avkjølt, komprimert, ekspandert og undergår faseskifter i ulike deler av varmepumpen.

Inn i fordamperen kommer kjølemiddelet, eller -væsken, med lav temperatur og i en kombinert væske- og gassfase. Her tar den opp varme fra en kilde eller omgivelsene og kjølemiddelet lagrer energien ved å få en faseovergang til ren gassfase. Væske er inkompressibelt, og hvis middelet er i denne fasen i kompressoren, vil den bli skadet.

I kompressoren tilføres den ytre energien som må til, for å øke trykket og dermed temperaturen. Kjølemiddelet kommer så til kondensatoren, og her foregår det motsatte av i fordamperen. Middelet undergår en faseovergang fra gass til væske og avgir varme til ønsket kilde.

Deretter blir middelet strupt i en ekspansjons- eller strupeventil, og får et så lavt trykk at kokepunkttemperaturen er lavere enn omgivelsene. Så gjentas hele prosessen syklisk.



*Illustrasjon 1: Prinsipiell varmepumpetørke*

Selve prinsippet med en varmepumpe er å ta opp «nyttbar» energi fra omgivelsene og så avgir en stor mengde varme iforhold til energi vi har brukt inn på systemet via kompressoren. Systemet klarer altså å avgir energi tilført fra kompressoren, samt energi tatt opp fra omgivelsene i fordamperen, ut fra kondensatoren. Avhengig av systemet og temperaturforskjellen mellom

fordamperen og kondensatoren, er det vanlig med en varme avgitt i størrelsesorden tre til fire ganger mer enn arbeid inn.

## 2.1 Varmepumpetørke

Målet med ei tørke, er å fjerne vann fra ønsket materiale. For å klare det må vi tilføre tørkekammeret en tørr luft, som tar opp fuktigheten fra det ønskede tørkede produktet. Det gjør vi ved å kontinuerlig ta ut fuktigheten som er i luften som sirkulerer rundt i tørkesystemet. På tegningen over er denne sirkulasjonen markert med skraverte linjer.

Luften blir avkjølt ved fordamperen, og dets evne til å holde på fuktighet reduseres. Vi vil derfor senke lufttemperaturen ned til duggpunktet, og deretter samle og utskille fuktigheten i form av vann. Vi har dermed avkjølt og tørket luften, men på grunn av den lave temperaturen har den en høy relativ luftfuktighet. Dess varmere luft er, jo mer vann har den evne å holde på. En kald og varm luft kan inneholde like mye vann per volum, men den kalde vil ha høyere relativ luftfuktighet. Relativt i forhold til hva luften maksimalt kan bære. Når relativ luftfuktighet når hundre prosent, har ikke luften mulighet til å ta opp mer vann, og alt resterende vil kondensere. Når vi så varmer opp luften igjen ved kondensatoren, vil den relative luftfuktigheten synke før den når tørkekammeret.

## 2.2 Systemløsninger

Beskrevet ovenfor er en én-steps varmpumpe. Men det er mulig å ha et system med flere steg. Man har da flere av alt; fordamper, kompressor, kondensator og ventiler. Et sånt system vil bestå av flere steg som hver tar for seg små temperaturløft. Dette er mer effektivt enn at ett enestående system tar hele løftet alene. Vi får dermed en mer effektiv varmpumpe. Dessuten vil det bedre tørkeanleggets mulighet til å av fukte luften. Det er også mulig å designe en sånn pumpe til å operere med flere ulike tørketemperaturer. Og dette kan bli spesielt nyttig for vårt prosjekt, hvor vi har forsøkt med flere temperaturer. Skulle det vise seg å være ønskelig med ulike tørketemperaturer for ulike organer eller vev, er det mulig med et sånt system.

Dette systemet gjør det også mulig å tørke samme prøve med flere ulike temperaturer, eventuelt å ha intervalltørking hvor man i en del har tørking under gitte forhold, og ved annen tid ikke har tørken tilkoblet kammeret. Dette viser seg ved forsøk på matvarer å ha en god effekt. Den initiale tørkingen sakkess noe ned, men dette blir tatt igjen ettersom tiden går. Da vil både vanninnholdet i produktet gå ned, samt at den holder en bedre kvalitet. Teorien er at når man slår av tørkingen, lar

man produktene «hvile» og da distribueres vannet mer homogent i materialet. Man får derfor en dypere gående tørking.

## 2.3 Tørkesystem

Det er flere ulike måter å designe et system for hvordan den praktiske tørkingen skal foregå. En av de har jeg benyttet meg av under forsøkene mine. Det er en enkel prosess som forklart tidligere, med ett kammer med prøver på ulike brett. Denne formen klassifiseres som batch, det vil si at vi tar en viss mengde og tørker den, så må det resterende vente til første runde er over. Når vi derimot kommer til praktisk dag-til-dag bruk av en tørke, vil det være mer hensiktsmessig å kunne tørke fortløpende.

Ved dypfrysing av biologisk materiale, vil vannet i cellene fryse og krystalliseres. Disse iskrystallene er skarpe og vil kunne gjøre skader på vevet, cellemembraner kan punkteres. Dagens metode med å fryse biobankprøver i flytende nitrogen, vil volde sånn skade. Og jo mer vann prøvene inneholder, jo mer skade vil det bli nedfrost. Det er derfor ønskelig å unngå nedfrysningen tidlig i bevaringen av materialet. Men jo lengre vevet holder seg i vanlig romtemperatur og fuktighet, vil det ta skade av det. Prøvene vil tørke under ukontrollerte forhold ved høye temperaturer, og tidligere målinger har vist at dette er ugunstig. Målet er å få ekstraktet vev og organer rett ifra kilden, og inn i i tørken øyeblikkelig. To store problemstillinger oppstår da, og det er at vi må ha en tørke som ikke er batch avhengig, men som kan imot prøver når det er behov. Det andre er å unngå kontaminasjon mellom ulike prøver, og hver prøve må derfor isoleres i tørka.

Vi bør for begge formål derfor ha en slags beholder for hver unike prøve. Cryorørene sykehuset benytter seg av, og som jeg brukte under forsøkene mine, er en god start. Problemet med de er at det kan være behov for ulike størrelser på prøvene, og hvis man ikke kan kutte opp og fordele prøvene, så er det nødvendig med rør av ulike størrelser. Det er også behov for å kunne få en viss luftgjennomstrømning i beholderne, så de må inneholde porer eller hull.



### 3. Prosjektparametre

Biobankene oppbevarer menneskelig vev, og det er derfor av interesse å finne ut dette vevet vil kunne tåle tørking og lagring. For å komme nærmest mulig dette benytter vi oss av flere typer organer ved mus, for å kunne få et bredere innsikt i hvilke organtyper som vil tåle prosessene. Vi tok derfor for oss hjerte, lunge, lever, nyre og skjelett muskulatur.

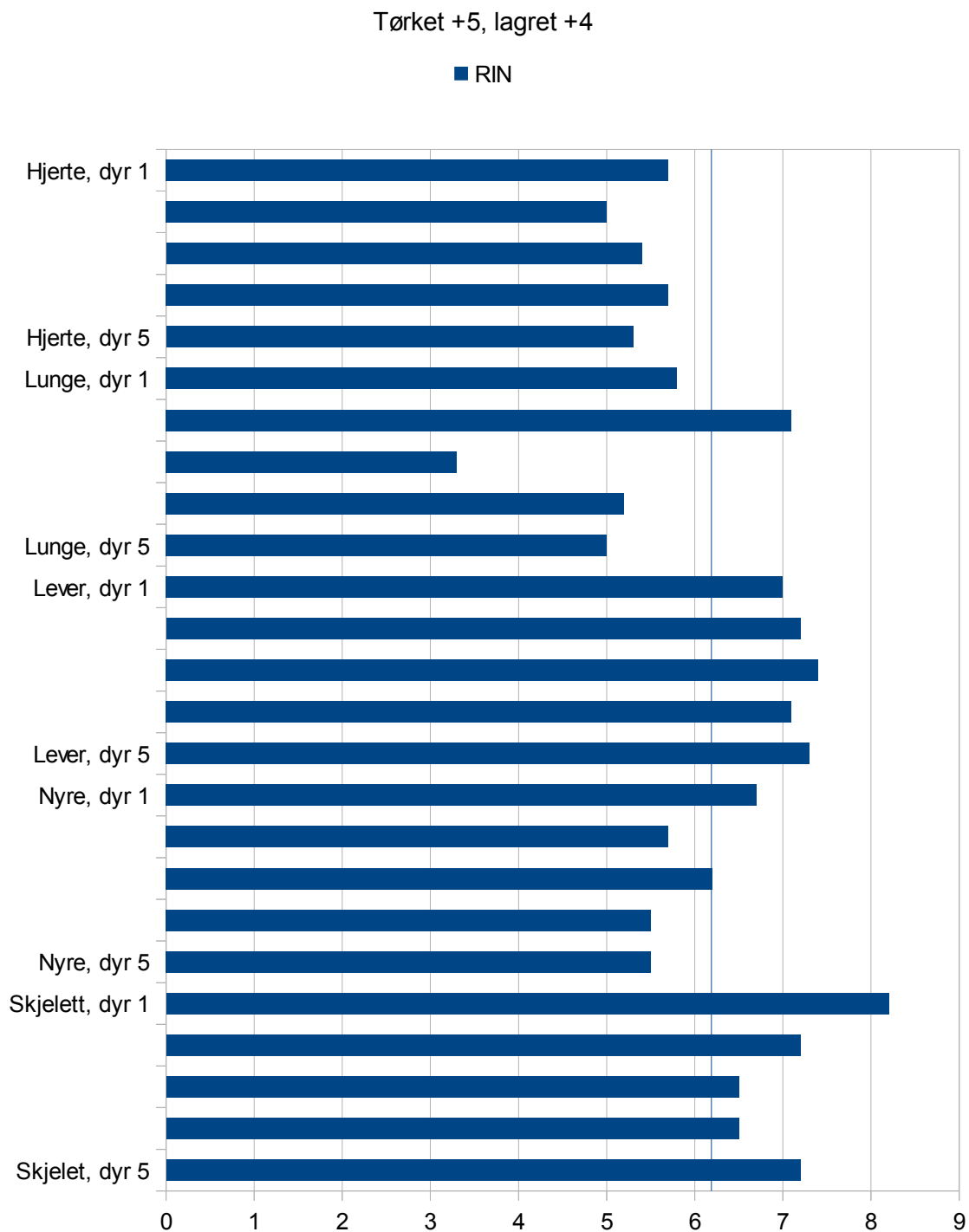
Det som er av interesse for biobankene, er at selv sårbart materiale vil bevares over tid. For å undersøke om slikt materiale holder på kvaliteten, er å analysere prøvene for RNA bevaringsgrad, en anerkjent og implementert faktor som heter RNA Identification Number(RIN). Det ble samtidig samlet inn verdier for vekten på prøvene, konsentrasjonen av vev og kontaminasjon. Disse tallene ligger vedlagt, men jeg vil ikke fordype meg ned i dem her. De er uvesentlige for resultatene av RIN-faktorene, og kan i beste grad forklare resultater med avvik, dersom prøvene skulle være meget små eller være kontaminert.

RIN gir oss en indikasjon på hvor godt bevarte prøvene er. Den eksakte verdi er for oss ikke spesielt interessant, når det er noe usikkerhet rundt dette. Minstekravet må dog være at alle prøvene ligger over 6,9. Dette tallet er gitt som det laveste man har klart å resultater ut ifra. Ideelt sett bør alle RIN-faktorene ligge betydelig over dette, som en sikkerhet på at det biologiske materialet er i god stand.

## 4. Resultater

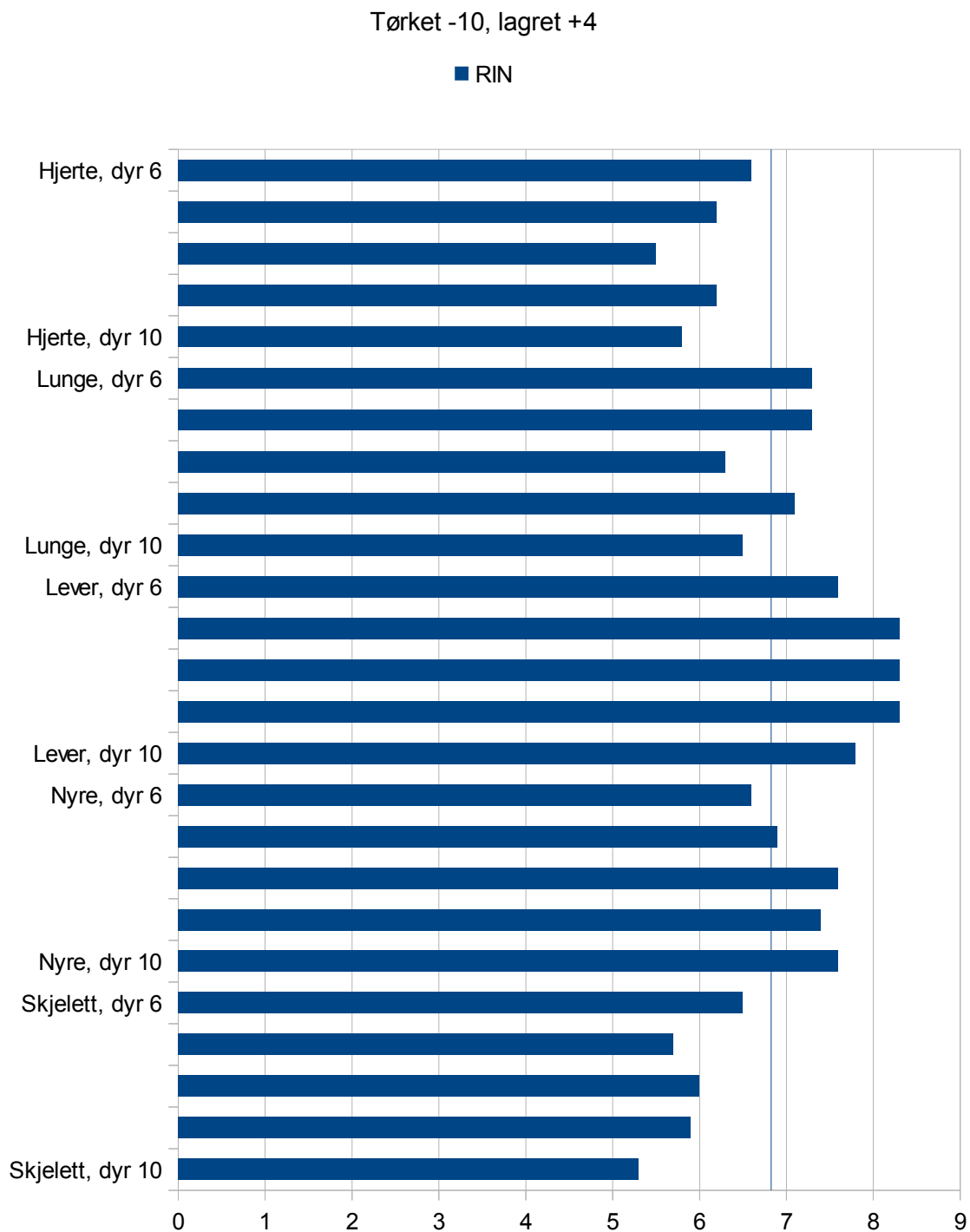
Resultatene fra andre runde med prøver er her vist grafisk. Dyr én til fem er oppført logisk nedover, videre sortert under organer. Jeg fremstiller bare RIN verdiene på de lagrede prøvene. Eksakte verdier av disse, samt kontroller og ulagrede, tørkede prøver finnes i vedlegget. Jeg har markert gjennomsnittsverdi ved hver parameter med en heltrukket linje.

Under vises resultatene fra prøver tørket ved +5°C i 24 timer, deretter lagret i snaut fem måneder i cryorør inni et kjøleskap med antatt temperatur +4°C.



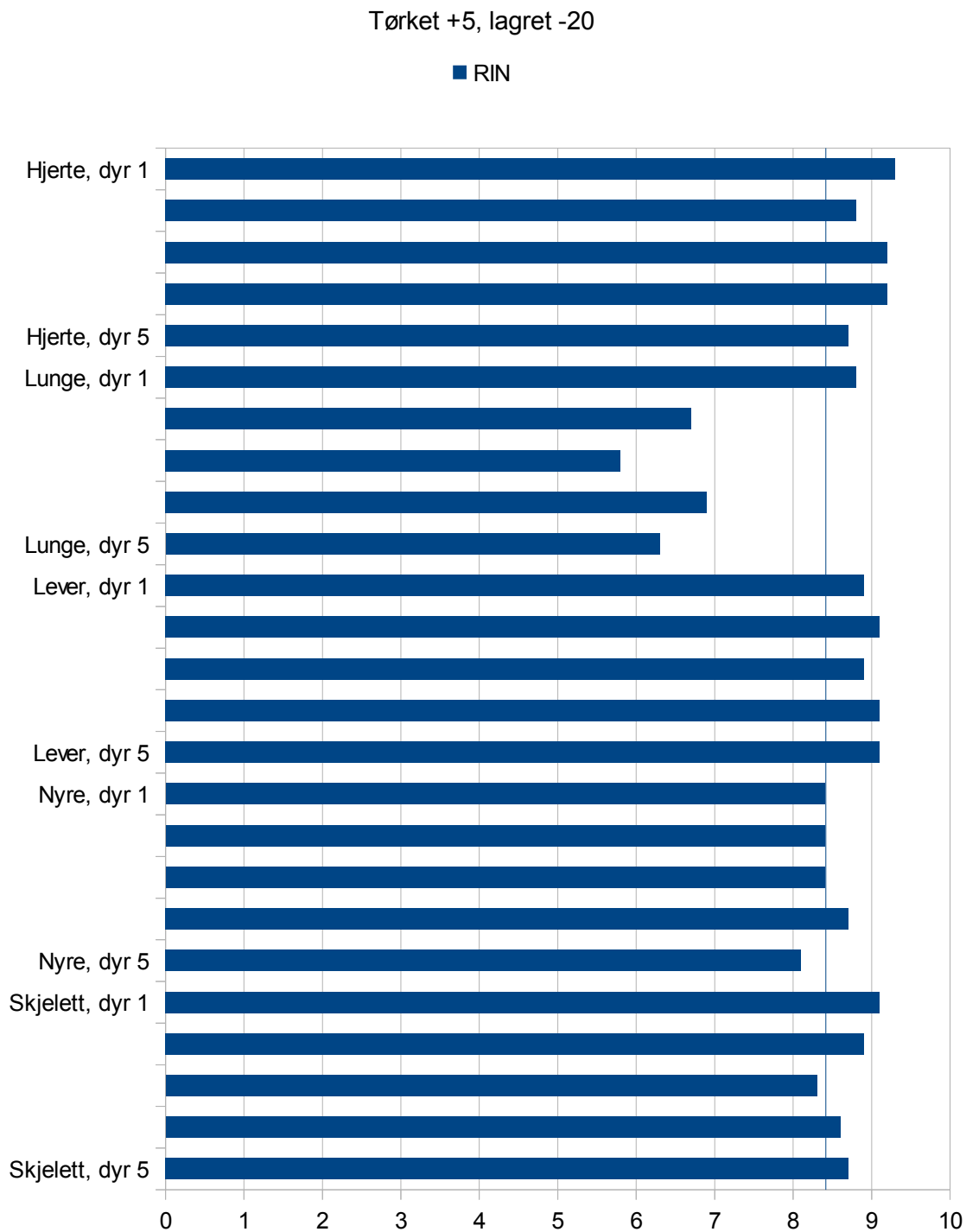
*Illustrasjon 2: Prøver tørket ved +5C, lagret ved +4C*

Under vises resultatene fra prøver tørket ved -10°C i 48 timer, deretter lagret i snaut fem måneder i cryorør inni et kjøleskap med antatt temperatur +4°C.



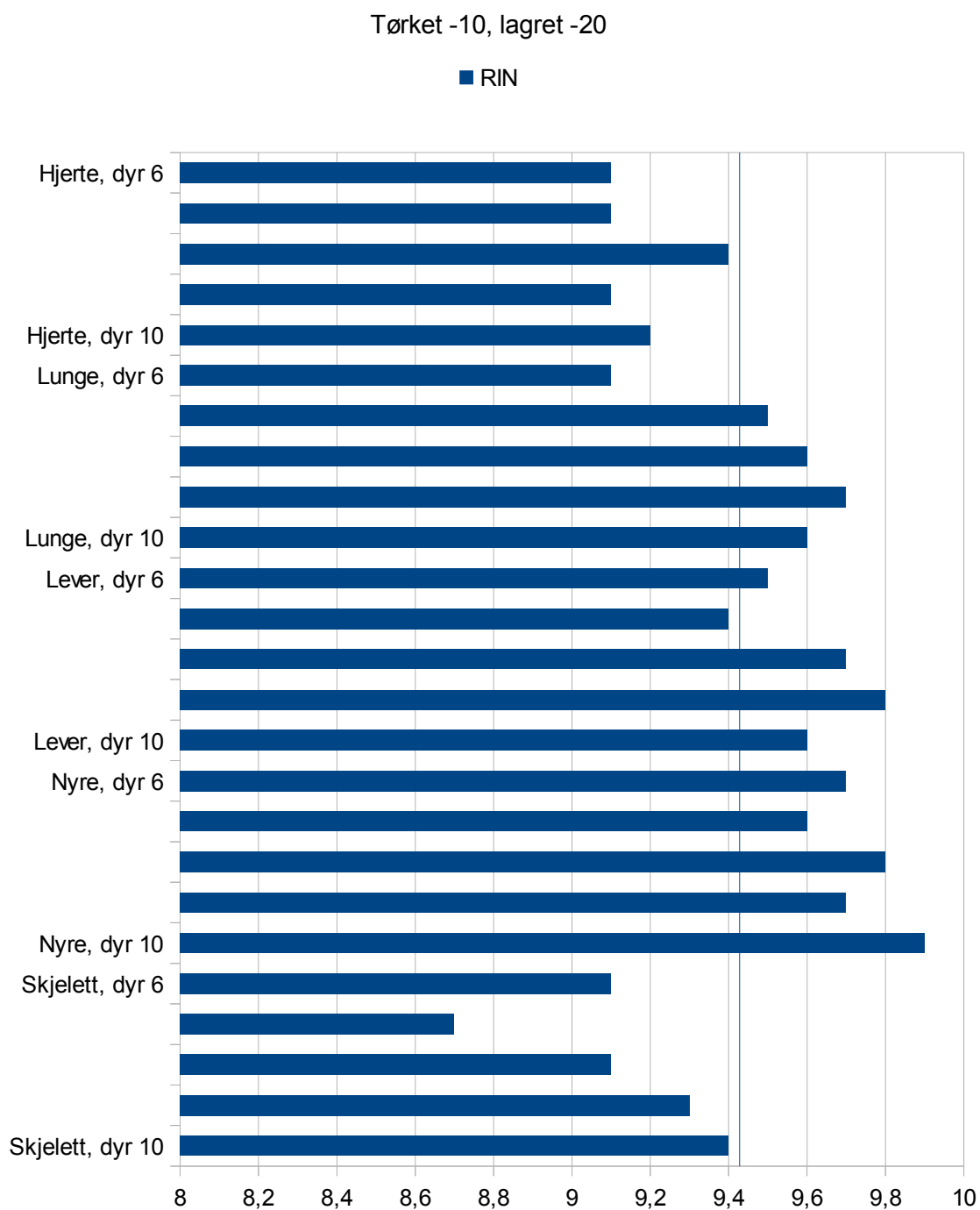
*Illustrasjon 3: Prøver tørket ved -10C, lagret ved +4C*

Under vises resultatene fra prøver tørket ved +5°C i 24 timer, deretter lagret i snaut fem måneder i cryorør ned i en alminnelig fryser med en antatt temperatur -20°C.



*Illustrasjon 4: Prøver tørket ved +5C, lagret ved -20C*

Under vises resultatene fra prøver tørket ved -10°C i 48 timer, deretter lagret i snaut fem måneder i cryorør ned i en alminnelig fryser med en antatt temperatur -20°C.



*Illustrasjon 5: Prøver tørket ved -10C, lagret ved -20C*

## 5. Diskusjon

Det oppsiktsvekkende med disse resultatene er hvor dårlig egnet kjøleskapet var som lagringsplass. +5°C viste seg som lovende i Sjøvolds master oppgave, men med disse resultatene ligger gjennomsnittsverdiene rundt 6,2 og 6,9 for henholdsvis +5°C og -10°C tørketemperatur. Dette betyr at selv ved tørking ved -10°C, så vil halvparten ha for dårlig kvalitet til å kunne analyseres.

Resultatene fra lagring i fryser ved -20°C er derimot oppløftende. Ved begge tørkeparametrene er det svært høye verdier, med unntak av lunger tørket ved +5°C. Årsaken snevrer jeg inn til lungevevet. I prosjektoppgaven min var det også ustabile verdier ved tørke av lunger. Til dels bra, men mye meget lavt og ubrukelig. Dette vistest også ved andre runde med tørking, med lave RIN verdier selv uten lagring. Faremomentet her er at tørkemethoden kun er av godkjent kvalitet ved et visst eller begrenset utvalg av menneskelig vev. Optimalt bør metoden være brukbar for alle typer.

Tendensen er at kvaliteten på bevarelse av RNA øker ved både lavere tørketemperatur og lavere lagringstemperatur. Spørsmålet er da å kunne balansere dette mot kostnadene av lavtemperatur mot lavere, men akseptable verdier, med tørking og lagring ved noe høyere temperaturer. En usikkerhet med alle forsøkene er at de ved -10°C ble tørket i 48 timer, mens de ved +5°C i bare 24 timer. Dette hadde dog grunnlag i tidligere resultater, og 24 timer skal være nok. Det var bare en magefølelse mens jeg foretok eksperimentet som avgjorde at jeg lot de siste fem dyrene tørke ett ekstra døgn.

Forsøksmessig så gjorde jeg meg noen erfaringer når det gjaldt håndtering av ferske organer. Det gir mening å fryse de ned først, for de var robuste og håndterlige i den formen. Så snart de tinte ble de klebrige og skjøre. Derfor hjalp det betydelig å få arbeide med prøvene nedi en fryser. Alternativet ved å gjøre det i storskala er å arbeide i et fryserom. Men kulden, kombinert med beskjeden bekleddning på grunn av engangs hansker, gjør arbeidsmiljøet fort utolererbart. Løsningen bør derfor være snarlig oppbevaring i individuelle beholdere samt kontrollert tørking.

## 6. Videre arbeid

Hvis metoden for oppbevaring av biobankmateriale ved tørking skal kunne bli en mulig løsning for fremtiden, vil det være nødvendig å kjøre forsøk med aktuelt menneskelig vev. Dette gjelder spesielt for de høyeste tørke- og lagringstemperaturene. Selv ved gunstigere temperaturer er det ingen sikkerhet for at resultatene er direkte overførbare, noe som avvikene ved lungeprøvene antyder.

Neste steg vil også være å ta for seg den delen av oppgaven min jeg ikke fikk mulighet til å gjøre. Det gjelder det praktiske, det å modellere og lage en prototype for en varmepumpetørke. Her ligger utfordringen å kunne overkomme steget hvor prøvene blir dypfrost. Å få en overgang direkte fra uttatt prøve og inn til tørking.

Denne kan også tenkelig kombineres med lagringsmetoden for vevet. Hvis det faller ned på en fryser, kan det være mulig å implementere frysing og tørking i samme anlegget, samt å kunne resirkulere varmeenergi.



## **7. Referanser**

### **Bøker og kompendier**

Sjøvold, Jannicke (2006). «Ny lavtemperatur tørketeknikk som konserveringsmetode for biobankmaterialer».

Bakken, Marius (2008). «Varmepumpe-tørkesystem som ny metode for konservering av biobankmaterialer».

Bredesen, Arne M., Magnussen, Ola M., Pettersen, Jostein, Aflekt, Kåre, Elgsæther, Munan, Haukås, Hans T. (2007).«Varmepumpende Prosesser og Systemer» for TEP4255.

Trygve M. Eikevik, Odilio Alves-Filho(2007). «Food Processing and Drying Engineering» for TEP08.

### **Annet**

Rolfseng, Toril(2008): Bioingeniør, St. Olavs hospital. Samtaler og e-post korrespondanse.

## Vedlegg A: Resultater

### A.1: Analyseresultater

Dyr 1	Vekt	ng/ $\mu$ l	260/280-ratio	260/230-ratio	Gjsnt RIN
Hjerte ktrl	34 mg	213,94	2,09	1,99	9,7
Hjerte t +5 u.l.		214,7	2,04	1,19	9,1
Hjerte t +5 lagret +4		169,72	2,07	2,21	5,7
Hjerte t +5 lagret -20		127,75	2,09	1,82	9,3
Lunge ktrl	13,8 mg	225,83	1,99	2,1	10
Lunge t +5 u.l.		212,56	1,96	1,93	8,4
Lunge t +5 lagret +4		119,43	2,07	2,23	5,8
Lunge t +5 lagret -20		222,51	2,04	2,23	8,8
Lever ktrl	50 mg	1676	2,05	2,07	9,7
Lever t +5 u.l.		434,47	2,05	1,91	9,3
Lever t +5 lagret +4		343,01	2,11	2,18	7
Lever t +5 lagret -20		463,13	2,09	1,97	8,9
Nyre ktrl		475,48	2,04	1,76	9,7
Nyre t +5 u.l.		232,9	2,04	1,8	9,2
Nyre t +5 lagret +4		279,72	2,07	2,17	6,7
Nyre t +5 lagret -20		442,21	2,08	2,16	8,4
Skjelettmusk. Ktrl		182,8	2,1	1,83	9,5
Skjelettm t +5 u.l.		82,9	2,04	1,83	9,1
Skjelettm t +5 lagret +4		128,12	2,05	0,49	8,2
Skjelettm t +5 lagret -20		207,52	2,05	2,12	9,1

Tabell 1: Dyr 1

Dyr 2	Vekt	ng/ $\mu$ l	260/280-ratio	260/230-ratio	Gjsnt RIN
Hjerte ktrl		246,72	2,04	1,87	9,5
Hjerte t +5 u.l.		244,09	2,02	1,96	9,5
Hjerte t +5 lagret +4		265,02	2,08	2,21	5
Hjerte t +5 lagret -20		349,34	2,07	2,15	8,8
Lunge ktrl	9 mg	95,44	2	1,78	9,8
Lunge t +5 u.l.		571,19	2	1,9	7,1
Lunge t +5 lagret +4		301,15	2,03	2,16	5,6
Lunge t +5 lagret -20		657,78	2,06	2,23	6,7
Lever ktrl	11,2 mg	383,83	2,06	1,84	9,8
Lever t +5 u.l.		1786,33	2,08	1,73	9,2
Lever t +5 lagret +4		429,58	2,12	2,06	7,2
Lever t +5 lagret -20		392,76	2,1	1,85	9,1
Nyre ktrl	28,0 mg	320,89	2,03	1,81	9,5
Nyre t +5 u.l.		504,83	2,03	1,87	9,5
Nyre t +5 lagret +4		747,46	2,06	2,21	5,7
Nyre t +5 lagret -20		359,61	2,08	1,57	8,4
Skjelettm. ktrl		238,91	2,06	1,83	9,3
Skjelettm t +5 u.l.		199,29	2,03	1,9	9,1
Skjelettm t +5 lagret +4		229,35	2,08	2,12	7,2
Skjelettm t +5 lagret -20		427,03	2,06	1,99	8,9

Tabell 2: Dyr 2

Dyr 3	Vekt	ng/ $\mu$ l	260/280-ratio	260/230-ratio	Gjsnt RIN
Hjerte ktrl	27,9 mg	275,72	2,02	1,96	9,6
Hjerte t +5 u.l.		115,46	2,02	1,97	9,8
Hjerte t +5 lagret +4		191,29	2,06	2,19	5,4
Hjerte t +5 lagret -20		238,33	2,1	1,84	9,2
Lunge ktrl	20,2 mg	517,34	1,99	2,14	9,4
Lunge t +5 u.l.		484,05	1,98	2,14	5,7
Lunge t +5 lagret +4		467,39	2,02	2,08	3,3
Lunge t +5 lagret -20		667,91	2,05	2,26	5,8
Lever ktrl	14,5 mg	392,05	2,05	1,6	9,8
Lever t +5 u.l.		420,28	2,04	0,95	9
Lever t +5 lagret +4		263,38	2,12	1,52	7,4
Lever t +5 lagret -20		196,86	2,12	1,59	8,9
Nyre ktrl	28,0 mg	329,77	2,04	2,01	9,7
Nyre t +5 u.l.		884,33	2,04	1,81	8
Nyre t +5 lagret +4		464,42	2,05	2,07	6,2
Nyre t +5 lagret -20		354,06	2,09	1,45	8,4
Skjelettm. ktrl		196,65	2,06	2,02	9,5
Skjelettm t +5 u.l.		192,67	2,09	1,63	8,8
Skjelettm t +5 lagret +4		253,21	2,09	1,47	6,5
Skjelettm t +5 lagret -20		290,52	2,07	2,07	8,3

Tabell 3: Dyr 3

Dyr 4	Vekt	ng/ $\mu$ l	260/280-ratio	260/230-ratio	Gjsnt RIN
Hjerte ktrl	54 mg	257,46	2,03	2,33	9,5
Hjerte t +5 u.l.		219,68	2,02	1,92	9,3
Hjerte t +5 lagret +4		186,65	2,07	1,33	5,7
Hjerte t +5 lagret -20		176,94	2,07	1,73	9,2
Lunge ktrl	24 mg	502,76	1,98	1,77	9,6
Lunge t +5 u.l.		213,43	1,98	2,04	6,2
Lunge t +5 lagret +4		256,69	2,02	2,12	5,2
Lunge t +5 lagret -20		279,84	2,03	2,26	6,9
Lever ktrl	32 mg	451,59	2,08	1,73	9,8
Lever t +5 u.l.		286,02	2,05	1,61	9,1
Lever t +5 lagret +4		366,14	2,1	1,99	7,1
Lever t +5 lagret -20		310,51	2,11	2,06	9,1
Nyre ktrl	31 mg	323,34	2,01	1,93	9,4
Nyre t +5 u.l.		332,2	2,03	2,11	8,9
Nyre t +5 lagret +4		420,15	2,06	2,23	5,5
Nyre t +5 lagret -20		335,82	2,07	1,36	8,7
Skjelettm. ktrl		147,56	2,04	1,77	9,6
Skjelettm t +5 u.l.		146,65	2,03	1,89	8,8
Skjelettm t +5 lagret +4		205,75	2,07	1,97	6,5
Skjelettm t +5 lagret -20		143,12	2,06	1,53	8,6

Tabell 4: Dyr 4

Dyr 5	Vekt	ng/ $\mu$ l	260/280-ratio	260/230-ratio	Gjsnt RIN
Hjerte ktrl	14 mg	309,59	2,02	1,95	9,2
Hjerte t +5 u.l.		217,11	2,03	2,04	9,2
Hjerte t +5 lagret +4		430,98	2,08	2,17	5,3
Hjerte t +5 lagret -20		313,89	2,07	2,02	8,7
Lunge ktrl	20,4 mg	656,58	2,02	2,19	9,9
Lunge t +5 u.l.		418,96	1,99	2,18	6,8
Lunge t +5 lagret +4		379,3	2,02	1,92	5
Lunge t +5 lagret -20		297,72	2,04	2,24	6,3
Lever ktrl	38 mg	793,43	2,11	1,89	9,8
Lever t +5 u.l.		427,08	2,05	1,81	9,4
Lever t +5 lagret +4		565,87	2,09	2,08	7,3
Lever t +5 lagret -20		564,19	2,07	1,76	9,1
Nyre ktrl		580,19	2,04	2,01	9,4
Nyre t +5 u.l.		474,33	2,03	2,11	8,2
Nyre t +5 lagret +4		554,86	2,06	1,72	5,5
Nyre t +5 lagret -20		384,62	2,08	2,2	8,1
Skjelettm. ktrl		174,85	2,06	1,84	9,4
Skjelettm t +5 u.l.		115,29	2,07	1,92	8,7
Skjelettm t +5 lagret +4		166,78	2,1	2,04	7,2
Skjelettm t +5 lagret -20		122,56	2,03	1,91	8,7

Tabell 5: Dyr 5

Dyr 6	Vekt	ng/ $\mu$ l	260/280-ratio	260/230-ratio	Gjsnt RIN
Hjerte ktrl	14,8 mg	213,76	2,05	2,04	9,6
Hjerte t-10 u.l.		1073,5	2,07	2,22	9,7
Hjerte t-10 lagret +4		178,76	2,07	1,95	6,6
Hjerte t-10 lagret -20		251,13	2,07	2,24	9,1
Lunge ktrl	8,2 mg	333,93	2	1,9	9,5
Lunge t-10 u.l.		283,7	2	2,15	9,9
Lunge t-10 lagret +4		163,71	2,05	1,92	7,3
Lunge t-10 lagret -20		309,23	2,04	2,28	9,1
Lever ktrl	31 mg	457,62	2,08	1,98	9,5
Lever t-10 u.l.		481,8	2,05	1,88	9,4
Lever t-10 lagret +4		531,55	2,1	1,97	7,6
Lever t-10 lagret -20		253,32	2,16	2,01	9,5
Nyre ktrl		475,9	2,04	1,71	9,8
Nyre t-10 u.l.		660,52	2,09	1,75	9,7
Nyre t-10 lagret +4		581,86	2,1	2,07	6,6
Nyre t-10 lagret -20		485,32	2,08	2,18	9,7
Skjelettm. ktrl		240,69	2,09	1,9	9,2
Skjelettm. t-10 u.l.		291,73	2,04	2,22	9,7
Skjelettm. t-10 lagret +4		177,37	2,1	2,14	6,5
Skjelettm. t-10 lagret -20		357,55	2,1	2,11	9,1

Tabell 6: Dyr 6

Dyr 7	Vekt	ng/ $\mu$ l	260/280-ratio	260/230-ratio	Gjsnt RIN
Hjerte ktrl	22 mg	263,45	2,03	1,94	9,4
Hjerte t-10 u.l.		307,57	2,05	1,68	9,4
Hjerte t-10 lagret +4		194,88	2,06	2,1	6,2
Hjerte t-10 lagret -20		299,29	2,06	2,04	9,1
Lunge ktrl	12 mg	340	1,98	2,34	9,2
Lunge t-10 u.l.		568,32	1,97	1,65	9,7
Lunge t-10 lagret +4		200,91	2,01	2,05	7,3
Lunge t-10 lagret -20		314,12	2,03	2,11	9,5
Lever ktrl	35 mg	508,83	2,07	1,63	9,6
Lever t-10 u.l.		300,09	2,05	1,82	9,6
Lever t-10 lagret +4		673,42	2,13	2,06	8,3
Lever t-10 lagret -20		352,1	2,13	2,06	9,4
Nyre ktrl		622,16?	2,02	2,11	9,8
Nyre t-10 u.l.		646,39	2,07	2,13	9,8
Nyre t-10 lagret +4		325,01	2,1	2,06	6,9
Nyre t-10 lagret -20		538,17	2,08	2,16	9,6
Skjelettm. Ktrl		128,33	2,03	1,8	9,2
Skjelettm. t-10 u.l.		226,87	2,12	2,05	9,4
Skjelettm. t-10 lagret +4		227,1	2,08	1,3	5,7
Skjelettm. t-10 lagret -20		120,06	2,08	1,41	8,7

Tabell 7: Dyr 7

Dyr 8	Vekt	ng/ $\mu$ l	260/280-ratio	260/230-ratio	Gjsnt RIN
Hjerte ktrl	17,3 mg	175,1	2,04	1,86	9,5
Hjerte t-10 u.l.		228,56	2,04	2,05	9,7
Hjerte t-10 lagret +4		204,93	2,07	2,21	5,5
Hjerte t-10 lagret -20		202,26	2,06	1,96	9,4
Lunge ktrl	20 mg	468,25	1,99	2,09	9,4
Lunge t-10 u.l.		316,41	1,99	1,4	9,6
Lunge t-10 lagret +4		189,59	2,05	1,97	6,3
Lunge t-10 lagret -20		190,88	2,04	2,22	9,6
Lever ktrl	12,8 mg	281,87	2,05	1,82	9,7
Lever t-10 u.l.		267,55	2,05	1,61	9,6
Lever t-10 lagret +4		261,12	2,12	2,09	8,3
Lever t-10 lagret -20		427,03	2,11	1,64	9,7
Nyre ktrl	30 mg	372,83	2,08	1,95	9,5
Nyre t-10 u.l.		592,51	2,09	1,81	9,7
Nyre t-10 lagret +4		671,01	2,11	2,2	7,6
Nyre t-10 lagret -20		407,57	2,07	1,31	9,8
Skjelettm. Ktrl		169,05	2	1,83	9,2
Skjelettm. t-10 u.l.		164,72	2,07	1,71	9,3
Skjelettm. t-10 lagret +4		117,8	2,13	1,58	6
Skjelettm. t-10 lagret -20		210,02	2,05	2,1	9,1

Tabell 8: Dyr 8

Dyr 9	Vekt	ng/ $\mu$ l	260/280-ratio	260/230-ratio	Gjsnt RIN
Hjerte ktrl	22 mg	358,94	2,02	1,92	9,6
Hjerte t-10 u.l.		396,13	2,02	1,92	9,6
Hjerte t-10 lagret +4		186,02	2,01	2,09	6,2
Hjerte t-10 lagret -20		342,9	2,1	2,07	9,1
Lunge ktrl	18 mg	303,78	2,01	1,97	9
Lunge t-10 u.l.		360,14	2	2,2	9,4
Lunge t-10 lagret +4		180,84	2,03	2,16	7,1
Lunge t-10 lagret -20		253,79	2,06	2,26	9,7
Lever ktrl	17 mg	319,86	2,04	1,64	9,6
Lever t-10 u.l.		423,34	2,02	1,54	9,6
Lever t-10 lagret +4		712,29	2,13	2,11	8,3
Lever t-10 lagret -20		290,73	2,13	2,16	9,8
Nyre ktrl	23,3 mg	411,05	2,09	1,77	9,9
Nyre t-10 u.l.		468,48	2,09	1,59	9,6
Nyre t-10 lagret +4		538,82	2,08	2,15	7,4
Nyre t-10 lagret -20		840,53	2,12	2,15	9,7
Skjelettm. ktrl		322,74	2,08	1,86	9,3
Skjelettm. t-10 u.l.		239,23	2,07	2,11	9,4
Skjelettm. t-10 lagret +4		298,22	2,09	2,17	5,9
Skjelettm. t-10 lagret -20		183,53	2,05	2,1	9,3

Tabell 9: Dyr 9

Dyr 10	Vekt	ng/ $\mu$ l	260/280-ratio	260/230-ratio	Gjsnt RIN
Hjerte ktrl		188,69	2,01	1,56	9,7
Hjerte t-10 u.l.		167,74	2,03	1,25	9,6
Hjerte t-10 lagret +4		146,66	2,06	2,25	5,8
Hjerte t-10 lagret -20		178,51	2,08	2,27	9,2
Lunge ktrl	32 mg	401,66	2,01	1,99	9,8
Lunge t-10 u.l.		272,77	2,03	2,02	9,6
Lunge t-10 lagret +4		180	2,05	1,85	6,5
Lunge t-10 lagret -20		286,46	2,08	2,2	9,6
Lever ktrl	22 mg	391,32	2,04	1,65	9,5
Lever t-10 u.l.		351,05	2,05	1,68	9,5
Lever t-10 lagret +4		389,8	2,13	2,08	7,8
Lever t-10 lagret -20		201,5	2,16	1,43	9,8
Nyre ktrl	30 mg	476,37	2,05	2,04	9,7
Nyre t-10 u.l.		386,29	2,12	2,1	9,7
Nyre t-10 lagret +4		356,72	2,1	2,24	7,6
Nyre t-10 lagret -20		397,54	2,1	1,07	9,9
Skjelettm. ktrl		323,51	2,07	1,84	9,2
Ny Skjelettm. t-10 u.l.		288,98	2,07	1,4	9,5
Skjelettm. t-10 lagret +4		96,81	2,04	1,36	5,3
Skjelettm. t-10 lagret -20		175,12	2,06	1,26	9,4

Tabell 10: Dyr 10