

Aus dem Bereich Biophysik
Theoretische Medizin und Biowissenschaften
der Medizinischen Fakultät
der Universität des Saarlandes, Homburg/Saar

**Entwicklung und Charakterisierung einer
elektrohydrodynamischen Mikrofiltereinheit
zur Anreicherung suspendierter Nanometerobjekte**

*Dissertation zur Erlangung des Grades eines
Doktors der theoretischen Medizin*
der Medizinischen Fakultät
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2014

vorgelegt von: Michael Böttcher

geb. am: 09.03.1979 in Wolfen

Dekan der Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes
Prof. Dr. Michael D. Menger

Gutachter 1:

Gutachter 2:

Tag der mündlichen Prüfung:

Kurzfassung

Krankheitserreger in den frühen Stadien einer Infektion nachzuweisen, überfordert leider noch in vielen Fällen eine sonst leistungsfähige Diagnostik. Dies ist im Allgemeinen auf die äußerst geringe Konzentration von Keimen zurückzuführen, bei der selbst hochsensitive Nachweisverfahren wie die reverse transcription polymerase chain reaction an ihre Grenzen stoßen.

In der vorliegenden Arbeit wurde ein neuer Mechanismus zur Anreicherung von Mikro- und Nanopartikeln untersucht. Insbesondere war von Interesse inwieweit sich dieser für das Akkumulieren von Viren und Bakterien eignet. Setzt man Flüssigkeiten hochfrequenten elektromagnetischen Feldern aus, induzieren diese unter geeigneten Bedingungen Kräfte sowohl auf die Flüssigkeit wie auch auf darin suspendierte Teilchen. Die Nutzung dieser Effekte zum Transport von Flüssigkeiten und von mikrometergroßen Partikeln ist in der Literatur als elektrohydrodynamisches Pumpen bzw. als dielektrophoretische Manipulation ausgiebig beschrieben. Bei Arbeiten in unserem Labor zum elektrohydrodynamischen Pumpen in Mikrokanälen identifizierten wir einen Mechanismus, der zur Erzeugung von Wirbeln in einem ansonsten laminaren Strömungsfeld führt. Mit deren Hilfe ließen sich überraschenderweise Nanopartikel anreichern, deren Größenbereich sich bis in die Dimensionen von Viren erstreckt und die mit bisherigen Konfigurationen nur unzureichend prozessierbar sind.

Herkömmliche Filtersysteme führen bei niedrigen Konzentrationen zu undefinierten Anlagerungen und können bei hohen Partikeldichten leicht verstopfen. Die entwickelten Systeme arbeiten zwar vergleichbar einem Filter, ein besonderes Charakteristikum ist jedoch die fehlende physische Barriere. Filter nutzen ansonsten als Ausschlusskriterium die von der Größe der Erregerpartikel abweichenden Porendimensionen ihrer Membranen. Die hier vorgestellten Systeme besitzen, im Vergleich zum Durchmesser eines Viruspartikels, bis zu 500-mal größere Kanaldurchmesser. Sie können folglich nicht verstopfen und bewältigen sowohl hohe als auch niedrige Partikelkonzentrationen.

Gegenstand der Arbeit war es, die elektrohydrodynamische Filtration sowie deren Prozessparameter zu untersuchen. Hierfür wurde ein lineares Elektrodenarray in ein auf dem Kunststoff Polydimethylsiloxan basierendes Lab-on-a-Chip System integriert. Die Filterwirkung wurde exemplarisch an Viruspartikeln eines *Influenza A*-Stammes (*X-31*, *H3N2*), an dem Bakterien-

stamm *Staphylococcus warneri* und am Stamm *Bacillus thuringiensis* gezeigt. Quantifiziert wurde die Filtrationsleistung mit Hilfe nanometergroßer fluoreszierender Modellpartikel. Unter Zuhilfenahme hochauflösender fluoreszenzmikroskopischer Methoden wurde hierfür ein Meßplatz etabliert und für die Datenerhebung ein Bildverarbeitungsalgorithmus entwickelt. Parameter wie die elektrische Leitfähigkeit, die Spannung oder geometrische Parameter der Elektroden konnten somit hinsichtlich ihres Einflusses untersucht werden. Erstmals wurden in diesem Zusammenhang elektrohydrodynamische Strömungen an frei stehenden 3D-Mikroelektroden untersucht. Diese Elektroden wurden von unseren Partnern am Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie in Göttingen hergestellt. Da für die Etablierung der Wirbel lokale Temperaturunterschiede erforderlich sind, wurde das thermische Verhalten numerisch charakterisiert. Zum Vergleich wurden Temperaturwerte experimentell und orts aufgelöst über ein konfokales Laserrastermikroskop erfasst. Das Filterresultat wurde schließlich mit numerisch ermittelten Kennwerten verglichen, die vom Fraunhofer-Institut für Techno- und Wirtschaftsmathematik errechnet wurden. Die Verifikation experimenteller und numerischer Daten ergab eine weitgehende Übereinstimmung. Diese numerischen Approximationen ermöglichen künftig bereits im Vorfeld einer Neuentwicklung erste Voraussagen über deren Filtereffizienz.

Das Resultat ist ein für Viren, Bakterien als auch nicht metallische Nanopartikel geeigneter elektrohydrodynamischer Filter. Der frei ist von Problemen herkömmlicher Filter, wie einem Totalverschluss, und der die schnelle und verlustfreie Rückgewinnung angereicherter Partikel möglich macht. Er ermöglicht eine schaltbare Filtration und kann über einen Konzentrationsbereich von einigen millionen Partikeln pro Mikroliter bis hinab zu Konzentrationen von wenigen tausend pro Mikroliter zum Einsatz gebracht werden. Darüber hinaus sind, durch den Einsatz von Fängerpartikeln, auch deutlich kleinere Konzentrationsbereiche denkbar (wenige Partikel pro Mikroliter). Die numerische Modellierung ist geeignet Neuentwicklungen zu charakterisieren und damit Entwicklungskosten zu begrenzen und Vorhersagen über deren Leistungsfähigkeit zu treffen.

Abstract

The detection of pathogenic organisms in preclinical or in early clinical stages, proves to be difficult, even having an efficient diagnostics system. In general this is due to the extremely low concentration of pathogens, where even highly sensitive clinical diagnostics such as reverse transcription polymerase chain reaction reach their limits.

In the present study a new mechanism for the enrichment of micro- and nanoparticles was investigated. In particular, it was of interest whether this mechanism is suitable for the accumulation of viruses and bacteria. Given suitable conditions the exposure of liquids to radio frequency electromagnetic fields causes them to induce forces both to the liquid and to particles suspended therein. The use of these effects for transporting liquids and micrometer-sized particles is described extensively in the literature as electrohydrodynamic pumping or as dielectrophoretic manipulation. During the work on electrohydrodynamic pumps in microchannels in our laboratory, we identified a mechanism that leads to the generation of vortices in an otherwise laminar flow field. Surprisingly these vortices helped to accumulate nanoparticles in the size range down to the dimensions of viruses. Such particles could be processed insufficiently using previous configurations.

Common filters can easily clog at high particle densities and cause undefined deposits at low densities. The systems developed operate similar to a filter, however, a special feature is the lack of a physical barrier. Conventional filters use the pore dimensions of their membranes as an exclusion criterion to separate pathogens. The presented systems show up to 500 times larger channel diameters compared with the diameter of a virus particle. Consequently, they cannot block and are able to overcome both high and low particle concentrations.

Subject of this work was to investigate the electrohydrodynamic filtration process and its parameters. For this purpose, a linear array of electrodes was incorporated in a polymer-based Lab-on-a-Chip system of polydimethylsiloxane. The function of the filter has been shown using virus particles of *influenza A* (X-31 H3N2) a bacterial strain called *staphylococcus warneri* and the strain *bacillus thuringiensis*. The filtration performance was quantified with the help of nanometer-sized fluorescent model particles. For this purpose an experimental setup was established using high-resolution fluorescence microscopy methods. Furthermore an image processing

algorithm was developed for data collection. This allowed the analysis of parameters such as the electrical conductivity, the voltage or geometric parameters of the electrodes and their influence onto the filtration. This was the first time electrohydrodynamic streaming around free-standing 3D microelectrodes was examined. The electrode structures have been made by our partners at the Max-Planck-Institute for Biophysical Chemistry in Göttingen. The establishment of the vortices requires local temperature differences, therefore the thermal behavior of the filter was characterized using numerical methods. We recorded temperature values locally using a confocal laser scanning microscope and compared these experimentally measured data with the numerical ones. The measured filtration results were compared to characteristic values, numerically determined by the Fraunhofer Institute for Industrial Mathematics. The comparison of experimental and numerical data showed substantial agreement. In the future these numerical approximations allow predictions for the efficiency of newly developed filters.

The result is an electrohydrodynamic filter suitable for viruses, bacteria as well as non-metallic nanoparticles. It is free of disadvantages of conventional filters, such as total occlusion, while it enables fast and lossless recovery of enriched particles. It allows a switchable filtration and can be used within a wide concentration range from millions of particles per microliter to several thousand per microliter. Additionally, significantly smaller concentrations (a few particles per microliter) could be processed using trapping particles. The numerical modeling is suitable to characterize new systems, to reduce development costs and to allow a prognosis over their efficiency.

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|-----------|
| 1 Einleitung und Motivation | 1 |
| 1.1 Zielstellung | 2 |
| 1.2 Ausgangspunkte und Aufbau der Arbeit..... | 3 |
| 2 Theoretischer Hintergrund und Stand der Technik | 5 |
| 2.1 Flüssigkeiten und suspendierte Partikel | 5 |
| Hydrodynamische Strömungen..... | 6 |
| Hydromechanik in Mikrosystemen..... | 6 |
| Verhalten von Mikro- und Nanometerpartikeln in viskosen Flüssigkeiten | 11 |
| 2.2 Flüssigkeiten und Partikel in elektrischen Wechselfeldern | 13 |
| EHD-Flüssigkeitsbewegungen..... | 13 |
| AC-Elektroosmose | 14 |
| Elektrothermische Konvektionen..... | 16 |
| Dielektrophorese | 23 |
| 2.3 Thermisch induzierte Flüssigkeits- und Partikelbewegungen | 25 |
| <i>Brownsche</i> Bewegung..... | 25 |
| Thermophorese..... | 26 |
| 2.4 Trennverfahren für Mikro- und Nanopartikel in Mikrofluidiken | 27 |
| Mechanische Filtration..... | 27 |
| Hydrodynamische Trennung..... | 29 |
| Feld-Fluss-Fraktionierung..... | 30 |
| Elektrophorese | 31 |
| 3 Material und Methoden | 32 |
| 3.1 Mikrosysteme für Mikro- und Nanopartikel..... | 32 |
| Aufbau der <i>MicCell</i> | 33 |
| Aufbau der PDMS-Fluidikzelle für 3D-Elektroden..... | 35 |
| Aufbau <i>traveling wave</i> -Chip..... | 38 |
| 3.2 Betrieb fluidischer Mikrosysteme | 39 |
| 3.3 Betrieb der Mikroelektroden | 41 |
| 3.4 Bilderfassung und Bildverarbeitung | 41 |
| 3.5 Probenaufbereitung | 44 |
| Basislösung | 44 |
| Partikelsuspensionen..... | 44 |
| <i>Bacillus thuringiensis</i> | 44 |
| <i>Staphylococcus warneri</i> | 45 |
| <i>Influenza A (X31, H3N2)</i> | 45 |

| | |
|---|------------|
| 3.6 Fluorothermometrie..... | 46 |
| Theoretischer Hintergrund | 46 |
| Herstellung der Farbstofflösung und Kalibrierung | 47 |
| Bilderfassung der Thermometriedaten..... | 48 |
| Bildverarbeitung der Thermometriedaten..... | 49 |
| 3.7 Numerische Modellierungen mit Finiten-Elementen..... | 50 |
| 4 Ergebnisse und Diskussion..... | 53 |
| 4.1 Durchflußzelle mit integrierten Mikroelektroden zur Filtration..... | 53 |
| 4.2 EHD-Filtration biologischer Proben..... | 56 |
| <i>Influenza A (X31, H3N2)</i> | 56 |
| <i>Staphylococcus warneri</i> | 62 |
| <i>Bacillus thuringiensis</i> | 63 |
| 4.3 Variation geometrischer Parameter der Filterelektroden..... | 67 |
| Planare Elektroden | 67 |
| 3D-Mikroelektroden..... | 70 |
| 4.4 Variation fluidischer Parameter | 76 |
| Transportgeschwindigkeit..... | 76 |
| Konzentration der Partikel | 78 |
| 4.5 Variation elektrischer Parameter..... | 80 |
| Spannungsabhängigkeit | 81 |
| Elektrische Leitfähigkeiten und Signalfrequenzen | 82 |
| Phasenlage und gerichteter Transport | 86 |
| 4.6 Numerische Charakterisierung der Filtereinheit | 87 |
| Numerische Bestimmung des Wirkungsgrades | 87 |
| Numerische und experimentelle thermische Charakterisierung | 90 |
| 4.7 Mischen mit EHD-Wirbeln | 95 |
| 4.8 Dislokalisierung der DEP-Feldminima | 98 |
| 4.9 Thermosensitivität von PDMS..... | 100 |
| 5 Schlußfolgerungen..... | 102 |
| 6 Ausblick | 107 |
| Abkürzungen und Formelzeichen..... | 112 |
| Literaturverzeichnis | 115 |
| Publikationsliste | 121 |
| Danksagung | 122 |

1 Einleitung und Motivation

Eine rasche Diagnostik bakterieller und viraler Infektionen ist von enormem medizinischen – und volkswirtschaftlichen – Wert. So können etwa die Kosten einer Grippesaison in Deutschland leicht einen Milliarden-Betrag erreichen [Kressin 1999]. Insbesondere gilt dies vor dem Hintergrund von Infektionskrankheiten wie AIDS, Tuberkulose, SARS oder Schweinegrippe, die aufgrund moderner Transportwege immer schneller immer mehr Personen betreffen.

Eine solche Diagnostik ist jedoch schwer zu erzielen. Ihr stehen drei wesentliche Hindernisse entgegen: (i) Die Krankheitserreger sind durch ihre geringe Größe schwer handhabbar. (ii) Die Erreger befinden sich in komplexen Flüssigkeiten, wie Speichel, Urin oder Blut. (iii) Sie liegen zum für eine Therapieentscheidung relevanten Zeitpunkt in minimalen Konzentrationen vor, die unter der Nachweisgrenze einfacher Detektionsverfahren liegen. Dies gilt sogar für sensitive Methoden, wie die RT-PCR (*reverse transcription polymerase chain reaction*), die weniger als 100 Virenkopien in einem Milliliter Probe nachweisen kann.

Das zuletztgenannte Problem kann auf zweierlei Weise gelöst werden: Eine besteht in der gezielten Vermehrung der Erreger in der Probe – ein heute klinisch durchaus gebräuchlicher Weg, etwa im weitverbreiteten „BacT/ALERT“ der Firma bioMérieux. Trotz der hohen Teilungsraten von Bakterien ist dieser Weg zeitaufwendig. Der zweite Weg besteht in der räumlichen Anreicherung der Erreger am Ort der Detektion.

Bisherige Verfahren für diese zweite Lösung umfassen die Ultrazentrifugation oder die Ultrafiltration, die jedoch Nachteile aufweisen: So benötigen Nano- bzw. Ultrafiltrationsverfahren ein Membranmaterial aus Fasern-, Vlies- oder porösen Festkörpern. Mit der irreversiblen Anlagerung an das Filtermaterial ergeben sich somit Probenverluste. Zudem kann sich durch die Anreicherung und durch die Anlagerung anderer Bestandteile der Probe die Durchsatzfläche des Filters reduzieren – bis zu ihrem kompletten Verschluss. Drittens macht das Totvolumen des Filtermaterials ein Mindestvolumen der Probe erforderlich. Gravimetrische Verfahren, wie die Zentrifugation, wiederum sind apparativ aufwendig. So kommen im Ultrazentrifugationsbereich Vakuumtechnik, spezielle Rotoren und eine aufwendige Vorbereitung hinzu. Bislang besteht bei

beiden Methoden zudem kaum das Potential für eine Automatisierung. Aus den genannten Schwächen bestehender Systeme ergibt sich die Zielstellung dieser Arbeit.

1.1 Zielstellung

In der vorliegenden Arbeit wurde eine neuartige Anreicherungs-methode für nanometergroße Objekte entwickelt. Sie basiert auf der elektrischen Filtration über die elektrohydrodynamische (EHD) Manipulation von Flüssigkeiten. Für die entwickelten Mikrosysteme ergibt sich folgendes Anforderungsprofil:

- die effiziente Prozessierung physiologischer Suspensionen zur Anreicherung geringer Erregerzahlen (Viren bzw. Bakterien);
- ein geringes Gesamtvolumen, das die Handhabung von Proben mit < 1 ml erlaubt;
- eine verlustarme Probenrückgewinnung, z.B. durch den Verzicht auf eine Filtermembran bzw. durch Nutzung eines elektrokinetisch betriebenen Filters;
- ein zu- bzw. abschaltbarer Mechanismus;
- eine hohe Integrationsdichte zur potentiellen Automatisierung von Prozessschritten samt Anreicherung und Detektion;
- eine ausreichende Verschlussicherheit;
- die Entbehrlichkeit aufwendiger Vorbereitungen.

Darüber hinaus war es Ziel dieser Arbeit, ein besseres Verständnis der Funktionsprinzipien zu erlangen, um eine schnelle Konfektionierung des Systems zu ermöglichen.

Die der Anreicherung nachgelagerte Detektion ist nicht Gegenstand dieser Arbeit. Mit ELISA, PCR oder Immunfluoreszenz existieren etablierte Verfahren.

Vor der Erörterung des theoretischen Hintergrunds der verwendeten Techniken beschreibt der folgende Abschnitt die verfolgte Lösungsstrategie sowie die Gliederung dieser Arbeit.

1.2 Ausgangspunkte und Aufbau der Arbeit

Auf der Basis fluidischer Mikrosysteme existieren zahlreiche Ansätze zur Aufarbeitung von Probenmaterial. Ein Auszug diverser Methoden findet sich im Kapitel 2.4. Das Grundprinzip der EHD-Flüssigkeitsbewegung mit Hilfe wandernder elektrischer Potentialwellen (*traveling wave*) ist bereits länger bekannt [Melcher 1966 & 1967], konnte aber erst aufgrund von Entwicklungsfortschritten photolithographischer Fertigungstechniken in Mikrosystemen zum Einsatz gebracht werden [Fuhr 1992, Müller 1993, Fuhr 1994, Schnelle 2000 b, Felten 2006 a, b]. Die von dieser Form der Manipulation berührten Themengebiete sind in den Kapiteln 2.1, 2.2 und 2.3 aufgeführt. Dazu gehören das Verhalten von Flüssigkeiten und darin suspendierten Partikeln, das Bewegungsverhalten innerhalb elektrischer Wechselfelder und die thermisch hervorgerufenen Bewegungen. Die Arbeit baut auf den Erkenntnissen von Melcher und anderen Autorengruppen um Ramos *et al.*, Castellanos *et al.*, Müller *et al.* und Felten zum EHD-Pumpenmechanismus auf [Melcher 1966, Müller 1993, Ramos 1998, Castellanos 2003, Felten 2008]. Die Beobachtungen dieser Gruppen ergaben, dass sich über Mikroelektroden in einem Mikrosystem unter Verwendung hochfrequenter, elektrischer Wechselfelder ein gerichteter Transport über die Etablierung von Elektrokonvektionen realisieren lässt. Der Begriff der Elektrokonvektion bzw. der elektrothermalen Bewegung wurde von Melcher *et al.* und Ramos *et al.* geprägt [Melcher 1967, Ramos 1998]. Bislang beschränkten sich die Untersuchungen auf Flüssigkeiten mit unphysiologisch niedrigen elektrischen Leitfähigkeiten. Erst in jüngerer Zeit wurde der EHD-Pumpeffekt auch für höher leitfähige Medien untersucht [Holtappels 2009, Stubbe 2009]. Bei den Untersuchungen beobachtete man neben den gerichteten Transportbewegungen hydrodynamische Instabilitäten in Form von Wirbeln [Melcher 1967, Müller 1993, Felten 2006]. Mathematisch ausführlich beschrieben wurden diese elektrohydrodynamischen Instabilitäten von Stein [Stein 2008]. In dieser Arbeit werden speziell diese Wirbel zur Anreicherung von nanometergroßen Partikeln eingesetzt, um Erregerpartikel aus einer bewegten Flüssigkeitssäule zu filtrieren.

Die für die Untersuchungen entwickelten Mikrosysteme werden im Kapitel 3.1 beschrieben. Für die Umsetzung einer mikrofluidischen und elektrisch aktiven Filtrationseinheit wurde das bislang zum Pumpen niedrig-leitfähiger Flüssigkeiten eingesetzte EHD-System weiter- und z.T. neuentwickelt. So wurde eine auf dem Polymer Polydimethylsiloxan (PDMS) basierende mikrofluidische Zelle (*MicCell*) der Firma GeSiM um eine in den Kanal integrierte, planare Elektrodenoberfläche erweitert. Dieses System wurde im Hinblick auf die Wiederverwendbarkeit der aufwendig prozessierten Mikroelektroden gewählt. Das Material für den Kanal – PDMS – gestattete

es zudem, über die soft-lithographische Abformung mikrofluidische Einwegkanäle herzustellen. Als Substrat der Mikroelektroden wurden Dünnglassträger eingesetzt. Um den Charakter der Zelle als wiederverwendbares Modul zu unterstreichen, wurde ein präparatives Verfahren entwickelt, das die fluidisch dichte und trotzdem reversible Anbindung dieser Dünnglassträger gestattete. In dieser Arbeit wurden als Alternative zu planaren Mikroelektrodenfeldern erstmals dreidimensionale Mikroelektroden eingesetzt. Diese frei stehenden 3D-Mikroelektroden wurden von unseren Partnern am Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie in Göttingen erzeugt. Eigens für diese wurden ein separates Mikrosystem entwickelt und eine Prozedur ausgearbeitet, um die Strukturen in Mikrokanäle zu integrieren. Die anschließenden Abschnitte 3.2 bis 3.4 behandeln die Bedingungen für die Generierung der Elektrokonvektion und die optischen Methoden zur Erfassung der Filtration.

Im Hauptteil der Arbeit erfolgt die Charakterisierung der Filter. Um die Wirksamkeit der elektrischen Filtrationseinheiten mittels EHD zu verdeutlichen, wurden mit Viren und Bakterien versetzte physiologische Medien und Probensuspensionen filtriert. Mit Hilfe artifizierender Partikel konnten ferner verschiedene Prozessbedingungen untersucht werden, um deren Einfluss auf die elektrohydrodynamische Filtration zu bewerten. Dazu variierten wir strukturelle ebenso wie experimentelle Parameter systematisch. Die Effektivität ist mit einem auf die mikroskopischen Aufnahmen angewendeten Bildverarbeitungsalgorithmus bewertet worden. Ferner wurde die thermische Belastung des Probenmaterials von uns numerisch errechnet und mit dem Ergebnis fluorothermometrischer Messungen verglichen. Schließlich ist das Filtersystem mit der Finite-Elemente-Software *CoRheos* des Fraunhofer-Instituts für Techno- und Wirtschaftsmathematik (ITWM) numerisch modelliert worden, um einen Vergleich zwischen experimentellen und simulierten Ergebnissen zu ermöglichen.

Neben den genannten Untersuchungen zeigt diese Arbeit weitere Einsatzmöglichkeiten sowohl der EHD-Manipulation von Flüssigkeiten als auch für dreidimensionale Mikroelektroden auf. Beide stellen vielversprechende Ansätze für die zukünftige Entwicklung schnellerer und empfindlicherer Analyseverfahren dar.

2 Theoretischer Hintergrund und Stand der Technik

Die Entwicklung eines neuen Trennmechanismus muss die maßgeblichen physikalischen Bedingungen berücksichtigen, die in den folgenden Abschnitten erörtert werden. Insbesondere betrifft dies die Zusammenhänge zwischen der Hydromechanik, Temperaturfeldern und hochfrequenten elektrischen Wechselfeldern.

Da diese Arbeit im Wesentlichen ein Verfahren zur Trennung suspendierter Mikro- bzw. Nanopartikel von der Trägerflüssigkeit anstrebt, werden zunächst in den Abschnitten 2.1 bis 2.3 den Trennverfahren zugrundeliegende theoretische Grundlagen behandelt. Dies betrifft im Einzelnen die hydrodynamischen (2.1), elektrischen (2.2) und thermischen (2.3) Effekte. Alle drei sind zum Verständnis der hier verwendeten EHD-Filtration unabdingbar. Die Kombination des elektrischen Felds und des Temperaturfelds führt zu einer resultierenden hydrodynamischen Kraft, die letztlich die Filtration bewirkt.

Im letzten Abschnitt 2.4 werden bestehende Techniken auf Basis von Mikrosystemen beschrieben und ihre Charakteristika evaluiert. Dabei wird auf mechanische Filtration ebenso eingegangen, wie auf Dielektrophorese (DEP) und Elektrophorese. Aber auch eine seltener genutzte Trenntechnik, die Thermophorese, ist Gegenstand dieses letzten Abschnitts.

2.1 Flüssigkeiten und suspendierte Partikel

Für die Betrachtung der Anreicherungsmethode sind zwei grundlegende Aspekte von Bedeutung: zum einen das Verhalten der Flüssigkeit und zum anderen das der suspendierten Partikel. In den beiden folgenden Abschnitten wird zunächst das hydrodynamische Verhalten speziell in Mikrosystemen erläutert. Insbesondere soll auf die Effekte infolge der in Mikrokanälen dominierenden Randbedingungen eingegangen werden.

Partikel, wie Viren und Bakterien, weisen Größen von mehreren Nanometern bis hin zu mehreren hundert Mikrometern (Viren circa 10 nm bis 100 nm und Bakterien 0,1 μm bis 1000 μm) bei

kugel- bis stabförmiger Gestalt auf. Zur Quantifizierung und zur Modellierung wurden sie in den Experimenten durch sphärische, nanometergroße Partikel ersetzt. Wir betrachten nun zunächst die Hydromechanik in Mikrosystemen ohne und mit darin enthaltenen Partikeln.

Hydrodynamische Strömungen

Die Bewegungen realer Flüssigkeiten werden durch die *Navier-Stokes-Gleichung* beschrieben. Diese lautet für inkompressible, viskose, ausschließlich druckgetriebene Flüssigkeiten [Landau 1991]:

$$\frac{\partial v}{\partial t} + (\nabla v)v = -\frac{1}{\rho} \nabla p + \frac{\eta}{\rho} \Delta v \quad 2-1$$

In Abwesenheit weiterer externer Kräfte wird demnach durch einen Druckgradienten ∇p die Beschleunigung eines Flüssigkeitsteilchens $\partial v / \partial t$ hervorgerufen. Die innere Reibung, ausgedrückt durch die Viskosität η , wirkt dem treibenden Druckgradienten entgegen (Vorzeichen des letzten Terms), indem die Bewegungsenergie in Wärme umgesetzt wird. ρ bezeichnet die Dichte der Flüssigkeit.

In kleinen Leitungen und Kanälen, wie in Mikrosystemen, dominiert die innere Reibung über die Massenträgheit. Insbesondere spielt das gegenüber makroskaligen Systemen große Verhältnis der Oberfläche zum Volumen eine wichtige Rolle.

Hydromechanik in Mikrosystemen

In Mikrosystemen ist das Verhältnis der Oberfläche zum Volumen so groß, dass oberflächenspezifische Eigenschaften und Prozesse entscheidend werden. Randbedingungen, wie die Haftreibung und der Wärmeübergang an den Kanalwänden, haben in Mikrosystemen eine wesentliche Bedeutung für die Bewegung der Flüssigkeit. Das Verhalten von Flüssigkeiten in einem Mikrokanal wird daher stark von den strukturellen wie materialspezifischen Eigenschaften seiner Wände bestimmt.

Die Haftreibung etwa führt dazu, dass an den Wänden eines Kanals die Strömungsgeschwindigkeit gegen null geht. Es bildet sich eine Grenzschicht nahe der Wand [Landau 1991]. Innerhalb

dieser als laminar bezeichneten Schicht entsteht infolge extern aufgeprägter Flüssigkeitsbewegungen zwischen der Kanalwand und der Kanalmitte ein Geschwindigkeitsgradient (Abb. 2-1). Die Bestandteile der Flüssigkeit bewegen sich in dieser Grenzschicht stabil nebeneinander her, und Querströmungen in Form von Wirbeln oder gar Turbulenzen treten nicht auf.

Ein Beleg für ein laminares Strömungsverhalten spiegelt sich in der Höhe der dimensionslosen Kenngröße der *Reynolds-Zahl* (Re) wieder. Die Re -Zahl setzt die Massenträgheit der Flüssigkeit, bestimmt durch die Dichte ρ , die Geschwindigkeit v und einer charakteristischen Länge L des Systems ins Verhältnis zur dynamischen Viskosität η :

$$Re = \frac{\rho v L}{\eta} \quad 2-2$$

Für die charakteristische Größe L wird häufig der hydraulische Durchmesser D_h eingesetzt, der sich für einen Kanal beliebigen Querschnitts als Quotient aus dem Vierfachen der Querschnittsfläche A und dem mit Flüssigkeit benetzten Umfang U ergibt:

$$L = D_h = \frac{4A}{U} \quad 2-3$$

Die Dimensionen gängiger Mikrosysteme bewegen sich in Bereichen einiger hundert Mikrometer [Jaeger 2005, Squires 2005, Whitesides 2006]. Für Mikrokanäle ergeben sich, hier exemplarisch mit den Kenngrößen für Wasser ($\rho = 998 \text{ kg/m}^3$, $\eta = 1 \cdot 10^{-3} \text{ kg/m s}$ bei $20 \text{ }^\circ\text{C}$) und den verwendeten Strömungsgeschwindigkeiten von $v = 60 \cdot 10^{-6} \text{ m/s}$ sowie einem hydraulischen Durchmesser von $D_h = 54 \cdot 10^{-6} \text{ m}$, Re -Zahlen, die deutlich kleiner eins sind ($Re < 0,01$). Das Strömungsverhalten in ihnen ist also stärker von der Viskosität als von der Massenträgheit gekennzeichnet.

Die kritische Re -Zahl für Kanalströmungen, ab der Turbulenzen auftreten, liegt bei einem Wert von $Re_{krit} = 2100$ [Happel 1973] bis 2300 [Beebe 2002]. Re -Zahlen, die deutlich unter diesem kritischen Wert liegen, deuten auf ein laminares Strömungsbild. Dies ist typisch für Mikrosysteme.

Im Allgemeinen ist die Grenze zwischen laminares und turbulentem Strömungsverhalten durch einen Übergangsbereich charakterisiert, der unterhalb der kritischen Re -Zahl beginnt. Turbulentes Strömungsverhalten, wie auf makroskopischer Ebene, tritt zwar in Mikrosystemen nicht auf. Dies schließt erzwungene, beispielsweise elektrisch angetriebene, Konvektionsbewegungen nicht

aus [Melcher 1967, Müller 1993, Felten 2006]. In Systemen mit kleinen Re -Zahlen können sich Wirbel etablieren, sofern diese durch Störungen von außen hervorgerufen werden. Deren Bewegungsenergie wird vollständig durch die innere Reibung dissipiert. Das bedeutet, dass, sobald der Auslöser für die Störung - zeitlich oder räumlich - weit genug entfernt ist, die Bewegung durch den dominierenden Einfluss der Viskosität umgehend stoppt. Bei den beobachteten Wirbeln handelt es sich nicht um die aus dem makroskopischen bekannten Turbulenzen, dies belegt das Fehlen zweier Eigenschaften turbulenter Strömungen: Sie weisen ein ausgeprägt instationäres Verhalten auf und haben einen chaotischen Charakter. Die Strömungen, die sich aus elektrischen Störungen resultierenden Wirbeln in Mikrosystemen ergeben, sind dagegen quasi-stationär und geordnet. Das ergaben Zwei-Foki-Fluoreszenz-Kreuzkorrelations-Spektroskopie-Messungen (2fFCCS) [Felten 2008].

Betrachten wir zunächst weitere Aspekte unserer fluidischen Mikrosysteme: Die *Navier-Stokes*-Gleichung aus dem Abschnitt zuvor vereinfacht sich für stationäre, laminare Strömungen inkompressibler Flüssigkeiten mit kleinen Re -Zahlen zu einem linearen Ausdruck [Landau 1991]:

$$-\nabla p + \eta \nabla^2 \mathbf{v} = -\sum \langle \mathbf{F} \rangle \quad 2-4$$

Die Lösung dieser Gleichung beschreibt die resultierenden Strömungen einschließlich weiterer externer Kräfte, repräsentiert durch den Summenterm. Druckunterschiede, wie etwa bei pumpenbetriebenen Systemen, werden durch den ersten Term auf der linken Seite symbolisiert. Der Etablierung einer Druckdifferenz und damit eines Volumenstromes in einem Mikrokanal wirkt aufgrund des größeren Einflusses viskoser Eigenschaften innerhalb der laminaren Grenzschicht ein hydraulischer Widerstand entgegen. Nach dem Gesetz von *Hagen-Poiseuille* ergibt sich für einen rechteckigen Kanalquerschnitt folgende Relation für den resultierenden Volumenstrom Q . Der Kehrwert des hydraulischen Widerstandes wird verkörpert vom Quotienten aus dem Produkt der Kanalbreite w , der Kanalhöhe h zur dritten Potenz und dem Produkt der dynamischen Viskosität η und der Kanallänge l und wird multipliziert mit der Druckdifferenz Δp :

$$Q = \frac{wh^3}{12\eta l} \Delta p \quad 2-5$$

Damit bildet sich ein für Mikrosysteme charakteristisches, parabolisches Strömungsprofil mit dem bereits erwähnten Geschwindigkeitsgradienten aus (Abb. 2-1). Dies ist erkennbar an den Bereichen mit schneller Strömung (pink) in der Kanalmitte und niedrigen Geschwindigkeiten nahe Null (türkis) an den Kanalwänden. In Abhängigkeit von den Kanaldimensionen variiert die resultierende mittlere Strömungsgeschwindigkeit.

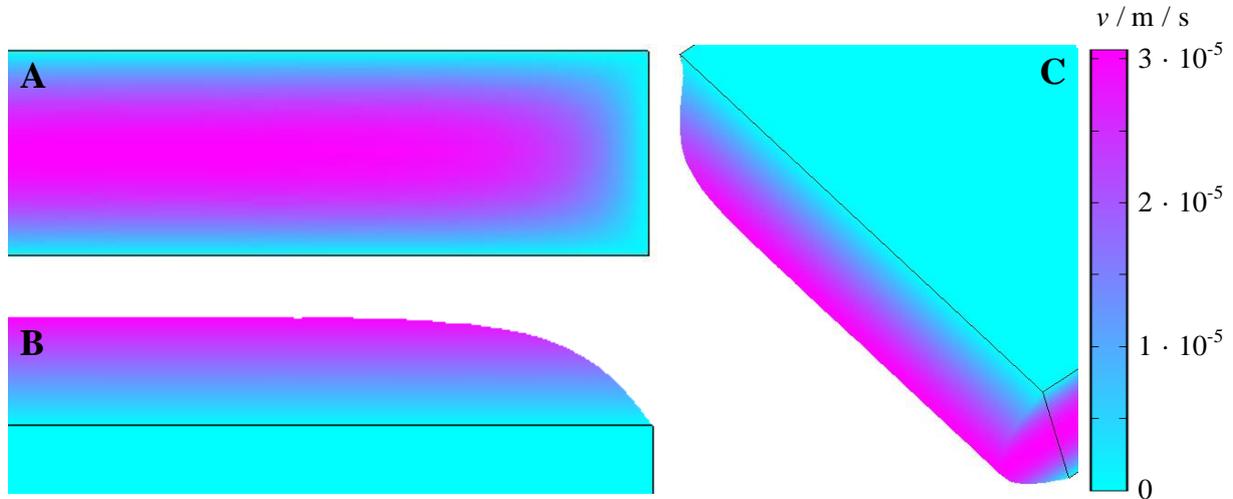


Abb. 2-1: Frontalansicht A), perspektivische Seitenansicht B) und schräge Aufsicht C) auf eine Mikrokanalströmung (numerische Simulation mit *Comsol Multiphysics*, Paket *incompressible Navier-Stokes*, Kanalhöhe 30 μm , 300 μm Kanalbreite, 20 $\mu\text{m/s}$ Strömungsgeschwindigkeit). Die Kanalwände erhalten die *no-slip*- und die Kanalmitte die *slip-symmetry*-Randbedingung. Farblich skaliert und zusätzlich durch die Deformationsdarstellung am Kanalausgang zu erkennen, ist der in der Mitte des Kanals befindliche Bereich der maximalen Strömungsgeschwindigkeit.

Eine weitere dimensionslose Kenngröße zur Charakterisierung eines Mikrosystems ist die thermische *Peclet-Zahl* (Pe_{Th}) (Formel 2-6). Sie gibt das Verhältnis des konvektiven Wärmetransports, repräsentiert durch v und L (Formel 2-2), zum Wärmetransport durch die Temperaturleitfähigkeit der Flüssigkeit a an. Die thermische *Pe-Zahl* ist hier von Bedeutung, weil zur Induzierung elektrohydrodynamischer Kräfte ein, wenn auch geringer, Temperaturgradient notwendig ist.

$$Pe_{Th} = \frac{vL}{a} \quad 2-6$$

Bei einer Temperaturleitfähigkeit wie der von Wasser ($a = 1,45 \cdot 10^{-7} \text{ m}^2/\text{s}$ bei 20 $^{\circ}\text{C}$), einer Flussgeschwindigkeit von $v = 60 \cdot 10^{-6} \text{ m/s}$ und den begrenzten Abmessungen unseres Mikrokanals - repräsentiert durch die charakteristische Größe $L = 54 \cdot 10^{-6} \text{ m}$ - übertrifft die Temperaturleitfähigkeit den konvektiven Transport etwa um den Faktor 45. Die Verteilung der Wärme in der Flüssigkeit wird folglich vorrangig über Leitungsvorgänge ablaufen, und der konvektive

Wärmetransport spielt nur eine untergeordnete Rolle.

Anders als zu vermuten ist, handelt es sich bei den beobachteten Wirbeln **nicht** um *Rayleigh-Benard*-Instabilitäten oder freie Konvektion, die sämtlich rein thermische Ursachen haben. Sie beschreiben ein durch räumlich inhomogene Erwärmung hervorgerufenen mechanisches Ungleichgewicht innerhalb einer Flüssigkeit infolge von Dichtegradienten: Liegt in einer Flüssigkeit durch Erwärmung eine schwere -dichtere- Ebene über einer leichteren, führt die Wirkung der Schwerkraft dazu, dass durch Konvektion ein Ausgleich angestrebt wird. Es handelt sich bei den hier beobachteten Wirbeln vielmehr um eine zwar thermisch induzierte aber elektrisch getriebene Form der Flüssigkeitsbewegung.

$$Ra = \frac{g \left| \frac{\partial \rho_M}{\partial T} \right| \Delta T L^3}{\eta a} \quad 2-7$$

Dies ergibt sich unmittelbar bei Betrachtung der *Rayleigh-Zahl* (Ra), einer weiteren dimensionslosen Kenngröße. Sie beschreibt das Wärmeübertragungsverhalten eines Systems. Darin wird die Wärmeübertragung per gravimetrisch getriebener Konvektion (Zähler) ins Verhältnis gesetzt zur Übertragung mittels Wärmeleitung (Nenner). Auf die Dichteunterschiede ρ_M in der Flüssigkeit, die durch einen Temperaturunterschied ΔT zwischen der Ober- und Unterseite eines Kanals entstehen, wirkt die Erdbeschleunigung g . Gedämpft werden solche Bewegungen von der dynamischen Viskosität η . Die Dimensionen des Mikrosystems sind erneut durch die charakteristische Größe L vertreten. Dies alles wird ins Verhältnis gesetzt zur infolge der Temperaturleitfähigkeit a transportierten Wärme. Ist die Ra -Zahl größer als ein kritischer Übergangswert, so überwiegt der konvektive Wärmetransfer per Gravitation; liegt sie darunter, erfolgt der Transfer vornehmlich durch Wärmeleitung.

Die kritische Ra -Zahl beträgt 1500 [Castellanos 2003]. Die Ra -Zahl beträgt für das hier untersuchte System selbst unter Annahme eines Temperaturunterschieds zwischen dem Boden und der Decke des Kanals (30 μm) von 15°K nur etwa $Ra \sim 0,06$, also weit unterhalb des kritischen Wertes. D. h. die gravimetrisch angetriebene Konvektion ist gegenüber der Wärmeleitung als Mechanismus des Wärmetransports zu vernachlässigen. Um einen kritischen Wert zu erreichen, müsste das System Kanaldimensionen L von wenigstens 2 mm aufweisen. Erst ab dieser Größenordnung sind gravitationsgetriebene Instabilitäten wie *Rayleigh-Benard*-Instabilitäten und freie Konvektion die dominierenden Antriebsmechanismen der Bewegung.

Der an der Bewegung beteiligte elektrische Mechanismus wird im Abschnitt 2.3 noch näher erläutert werden. Der folgende Abschnitt beschäftigt sich mit dem Verhalten von Partikeln in einer Flüssigkeit.

Verhalten von Mikro- und Nanometerpartikeln in viskosen Flüssigkeiten

Das Bewegungsverhalten in einer Flüssigkeit suspendierter Partikel lässt sich unter anderem durch eine partikuläre *Re*-Zahl (Re_p) beschreiben (Formel 2-8). Sie ist ein Maß für das Verhältnis zwischen Trägheitskräften des Partikels und den von ihm infolge der dynamischen Viskosität der Flüssigkeit erfahrenen Kräften. Sie weist damit aus, wie stark die Bewegung der Partikel von der der Flüssigkeit abweicht. Allgemein gilt, je kleiner das Partikel ist, desto enger ist seine Bewegung an die der Flüssigkeit gekoppelt. Das bedeutet für Partikel in der Größe von Viren und Bakterien, dass der Einfluss ihrer Massenträgheit deutlich hinter dem der viskosen Eigenschaften der Flüssigkeit zurückbleibt. Sie folgen daher den Stromlinien der Flüssigkeit.

$$Re_p = \frac{\rho d (v - v_p)}{\eta} \quad 2-8$$

Definiert ist die partikuläre *Re*-Zahl durch die Dichte der Flüssigkeit ρ , den Partikeldurchmesser d , den Geschwindigkeitsunterschied zwischen Partikel v_p und Flüssigkeit v und der Viskosität der Flüssigkeit η .

Erste theoretische Ansätze zur Bewegung von Partikeln mit kleinen partikulären *Re*-Zahlen in viskosen Flüssigkeiten gehen zurück auf Basset, Boussinesq und Oseen und werden in der *BBO*-Formel zusammengefasst. Diese beschreibt die Partikelbewegung als ein Zusammenspiel hier nachfolgend kurz erläuterter Anteile: der *Stokes*-Kraft (F_{St}) (Formel 2-9), einer virtuellen Zusatzmasse und dem *Basset*- bzw. *Historienterm*.

Für Partikel ist die *Stokes*-Kraft eine Reibung, die einer Beschleunigung innerhalb der Flüssigkeit entgegenwirkt. Definiert ist sie für kugelförmige Partikel durch die Geschwindigkeit v , die dynamische Viskosität η und den Radius des Partikels r :

$$F_{St} = -6\pi\eta r v \quad 2-9$$

Der Term der virtuellen Zusatzmasse entspricht der auf die vom Partikel verdrängte Flüssigkeit

wirkenden Trägheitskraft. Der *Basset*- oder Historienterm schließlich entspricht einer Kraft, die durch die viskositätsbedingt zeitverzögerte Ausbildung der Grenzschicht um das Partikel herum auftritt. Er ist für nicht übermäßige Beschleunigungen vernachlässigbar. Die *BBO*-Formel wurde später noch für turbulente Flüssigkeiten erweitert [Maxey 1983]:

$$\begin{array}{l} \text{Beschleunigung} \\ \text{des Partikels be-} \\ \text{wirkende Kraft} \end{array} = \begin{array}{l} \text{Stokes-} \\ \text{Kraft} \end{array} + \begin{array}{l} \text{Trägheits-} \\ \text{kraft der vir-} \\ \text{tuellen Masse} \end{array} + \begin{array}{l} \text{Auftrieb} \\ \text{+ Druck-} \\ \text{gradient} \end{array}$$

Die Beschleunigung des Partikels wird über die oben bereits beschriebenen Terme hinaus noch durch die Auftriebskraft sowie einen durch Druckgradienten generierten Anteil beeinflusst.

Neben diesen grundlegenden Größen wirken sich weitere Punkte auf die Bewegung aus. Diese lassen sich in drei Kategorien unterteilen: 1) Betrachtet man jedes Partikel für sich, so sind weitere Körperkräfte wie die Gewichtskraft, magnetische und elektrische Kräfte möglich. Sie sind jedoch nur von Bedeutung, wenn das Partikel durch sie die Dominanz der viskosen Eigenschaften der Flüssigkeit überwinden kann. Die sich aus der Kraftwirkung zwischen Flüssigkeit und mikro- bis nanometergroßen Partikeln ergebende Geschwindigkeitsdifferenz ist jedoch häufig nahe Null. So haben etwa die Auftriebs- bzw. die Gewichtskraft nur einen unbedeutenden Anteil an der Bewegung, weil sich die Dichte von Partikel und Flüssigkeit nur unwesentlich voneinander unterscheidet. 2) Die Bewegungen von Partikeln in einem Kanalsystem führen zu Wechselwirkungen. Hierzu zählen unter anderem Kollisionen mit den Wänden. Die Rauigkeit der Wand und die damit verbundenen Geschwindigkeitsveränderungen spielen hierbei eine Rolle. Es kann jedoch zum einen von einer geringen Rauigkeit der Wand ausgegangen werden, die damit nur geringfügige Änderungen zur Folge hätte. Zum anderen lassen die partikulären *Re*-Zahlen von Nanopartikeln kaum Bewegungen relativ zur Strömung – und somit zur Wand hin – erwarten. 3) Bei Gemengen mit größeren Volumenanteilen haben desweiteren interpartikuläre Effekte eine Wirkung auf die Bewegung der Partikel. Auch dieser Punkt ist hier von untergeordneter Bedeutung. Einzige Ausnahme sind die Orte lokaler Anreicherungen, an denen die Zahl der Partikel um Größenordnungen über dem Ausgangswert liegen kann. Dort zum Tragen kommende Effekte sind beispielsweise die apparente Diffusion und die Thermophorese (2.3).

Die genannten drei Kategorien haben somit bis auf die letzte und die im Folgenden beschriebenen elektrischen wie thermischen Einflussgrößen für die weiteren Betrachtungen nur eine gerin-

ge Bedeutung.

2.2 Flüssigkeiten und Partikel in elektrischen Wechselfeldern

Dieser Abschnitt setzt sich mit den elektrisch induzierten Kräften auseinander, die auf die Flüssigkeit (EHD-Kräfte) und auf die darin suspendierten Partikel (DEP-Kraft) einwirken. In der Arbeit wurde mit Hilfe hochfrequenter elektrischer Signale (kHz-MHz-Bereich) an Mikroelektroden ein elektromagnetisches Feld in einer elektrisch leitfähigen Flüssigkeit erzeugt. Die folgenden Abschnitte sollen die sich daraus ergebenden Effekte verdeutlichen.

EHD-Flüssigkeitsbewegungen

Das EHD-Prinzip berührt drei physikalische Bereiche: Neben einem elektrischen sind ein thermisch/ molekularer und ein mechanischer Effekt an der Ausbildung elektrisch angetriebener Konvektion beteiligt [Melcher 1981].

Die folgende Formel beschreibt die EHD-Kraft (F_{EHD}) als Summe elektrisch induzierter Kräfte.

$$F_{EHD} = \rho_E \vec{E} - \frac{1}{2} \vec{E}^2 \nabla \varepsilon + \frac{1}{2} \nabla \left(\rho_M \frac{\partial \varepsilon}{\partial \rho_M} \vec{E}^2 \right) \quad 2-10$$

Die EHD-Kraft setzt sich wie folgt zusammen: Der erste Term ist das Produkt aus der Raumladungsdichte ρ_E und dem applizierten elektrischen Feld E , zusammengefasst zur *Coulomb*-Kraft. Der zweite Term stellt die dielektrische Kraft dar (ε Permittivität), die auf induzierte Polarisationsladungen in der Flüssigkeit wirkt. Ihr Aufbau ist analog zu dem der *Coloumb*-Kraft: Wirken des elektrisches Feld E multipliziert mit der durch dieses induzierten Polarisation. Der letzte Term steht für die lokale Änderung der Dichte ρ_M infolge des elektrischen Feldes und meint die Konstriktion von Volumenanteilen. Dieser kann für inkompressible Flüssigkeiten vernachlässigt werden. Die *Coulomb*-Kraft und die dielektrische Kraft sind die beiden wesentlichen Bestandteile der EHD-Kraft. Wie die Vorzeichen verdeutlichen, wirken beide Effekte entgegengesetzt zueinander.

Für die hydrodynamische Wirkung der *Coulomb*-Kraft ist das Vorhandensein von Raumladungen ρ_E eine Grundvoraussetzung. Raumladungen werden in einer Flüssigkeit unter anderem

durch die Wirkung eines elektrischen Feldes auf Bereiche mit inhomogenen elektrischen Eigenschaften hervorgerufen [Felten 2006]. Zu Inhomogenitäten kommt es bei der Schichtung von Flüssigkeiten und/oder Gasen mit unterschiedlichen dielektrischen Eigenschaften [Melcher 1966, Lin 2004]. Eine weitere mögliche Ursache ist ein extern aufgeprägtes Temperaturfeld, das in der Flüssigkeit Inhomogenitäten durch deren temperaturabhängige dielektrische Eigenschaften (z.B. Leitfähigkeit, Permittivität) erzeugt [Melcher 1967]. Ebenso kann eine von innerhalb der Flüssigkeit wirkende – meist ohmsche, selten chemische – Erwärmung, wie bei den elektrothermisch induzierten Kräften, eine Ursache für inhomogene dielektrische Eigenschaften sein [Ramos 1998, Felten 2006]. Der so etablierte Gradient ist, wie der Formel 2-10 zu entnehmen ist, auch im dielektrischen Kraftanteil wirksam, jedoch mit deutlich geringerer Wirkung. Und auch die Ausbildung von Schichten unterschiedlicher elektrochemischer Eigenschaften an Grenzflächen zwischen Festkörpern und Flüssigkeiten spielt - wie bei der im Folgenden beschriebenen AC-Elektroosmose (ACEO) - eine Rolle bei der Ausbildung von Raumladungen [Ehrlich 1982].

AC-Elektroosmose

Als AC-Elektroosmose (*alternating current electroosmosis*, ACEO) bezeichnet man die durch ein elektrisches Feld induzierte Bewegung der in einer elektrochemischen Doppelschicht (*electric double layer*, EDL) angeordneten Ladungsträger und die daraus resultierende Bewegung der Flüssigkeit in der Nähe der Kanalwand. Prinzipiell besteht der Unterschied dieses Prinzips zur bekannteren DC-Elektroosmose (*direct current electroosmosis*, DCEO) lediglich in der Verwendung eines Wechselfeldes anstelle eines Gleichspannungsfeldes.

Eine wichtige Voraussetzung für ACEO ist die elektrochemische Doppelschicht. Diese bildet sich an Grenzflächen zwischen einer festen und einer flüssigen Phase aufgrund der Existenz von Oberflächenpotentialen. Die Doppelschicht übernimmt eine abschirmende Wirkung, die die Oberflächenpotentiale der Wand in Richtung der Flüssigkeit ausgleicht. Die Elektroneutralität wird dabei durch die schichtweise Anlagerung in der Flüssigkeit vorhandener freier Ladungsträger erzielt. Die Modellvorstellungen zur Zusammensetzung dieser Schicht stammen von Helmholtz, Gouy, Chapman und Stern. Die Doppelschicht besteht aus einer unbeweglichen Schicht von Ladungsträgern unmittelbar an der Grenzfläche zwischen Wand und Flüssigkeit, der *Stern-Ebene*. Im Anschluss folgt eine Schicht mit diffusiv verteilten Ladungsträgern, die den Übergang zur Flüssigkeit bilden. Mit dem Übergang der diffusiven Schicht zur Flüssigkeit sind sämtliche

Nettoladungen der Oberfläche ausgeglichen.

Ein Maß für die Dicke der Schicht, bei der die Oberflächenpotentiale um den $1/e$ -ten Teil abgesunken sind, ist die *Debye-Länge* $\lambda_D = 1/\kappa$ (Formel 2-11). Dargestellt ist hier die Formel für die *Debye-Länge* eines symmetrischen Elektrolyten wie NaCl, bei dem das Verhältnis von Anionen zu Kationen 1 : 1 ist. Dabei stehen ε , k_B und T für die Permittivität, die *Boltzmann-Konstante* und die Temperatur. c , z und e sind die Konzentration der Anionen bzw. Kationen, deren Wertigkeit und die Elementarladung. Die Ausdehnung der Schicht wird folglich stark von der Ionenkonzentration und damit der elektrischen Leitfähigkeit der Flüssigkeit beeinflusst. Mit zunehmender elektrischer Leitfähigkeit nimmt die Dicke der EDL ab, da mehr mobile Ladungsträger zur Ausbildung der Doppelschicht und somit zur Kompensation der Oberflächenladungen zur Verfügung stehen.

$$\lambda_D = \sqrt{\frac{\varepsilon k_B T}{2(z e)^2 c}} \quad 2-11$$

Für die Transportgeschwindigkeit v_{slip} ergibt sich – zunächst für den Fall der DCEO – aus der Dicke der Schicht, dem tangentialen Bestandteil des anliegenden elektrischen Feldes E_t , der Oberflächenladungsdichte σ_D und der Viskosität η (Formel 2-12) [Cahill 2005].

$$v_{slip} = \frac{\sigma_D E_t \lambda_D}{\eta} \quad 2-12$$

Je kleiner die *Debye-Länge* ist, desto geringer ist die Transportgeschwindigkeit der Elektroosmose.

Für die ACEO muss zusätzlich die Variation sowohl der Oberflächenladungsdichte als auch der Feldstärke durch die Verwendung eines Wechselfeldes beachtet werden. Unter Berücksichtigung dieser Veränderlichen ergibt sich die folgende Formel [Castellanos 2003]:

$$v_{slip} = \Lambda \frac{\varepsilon U^2}{8\eta r} \frac{\Omega^2}{(1 + \Omega^2)^2} \quad 2-13$$

$$\Omega = \frac{\omega C \pi r}{2\sigma} \quad 2-14$$

Der Faktor Λ ist eine empirische Konstante, die das Verhältnis des Spannungsabfalls über dem diffusiven Bestandteil der Doppelschicht zum Spannungsabfall über der gesamten EDL darstellt

[Castellanos 2003]. ε , U , η und r stehen für die Permittivität, das Potential, die Viskosität und den Elektrodenabstand. Der Wert von Ω wird durch die Kreisfrequenz ω , der Kapazität C der EDL, und der elektrischen Leitfähigkeit σ bestimmt. Die Frequenz, bei der die ACEO die maximale Geschwindigkeit erreicht, liegt bei [Castellanos 2003]:

$$f_0 = \frac{\sigma \lambda_D}{\pi^2 \varepsilon r \Lambda} \quad \text{2-15}$$

Der Frequenzbereich, bei dem die Transportgeschwindigkeit der ACEO maximal ist, beginnt bei wenigen Kilohertz [Minerick 2003, Zhou 2005, Velev 2006, Lin 2008]. Unterhalb und oberhalb dieser Frequenz f_0 tendiert die Geschwindigkeit gegen Null. Dieser Bereich lässt sich durch Modifizierungen der Elektrodenoberfläche, beispielsweise mittels Elektrodenisolierungen, um bis zu mehrere hundert Kilohertz verschieben [Cahill 2005].

Puffer oder Kulturmedien haben durch ihre hohe Ionenkonzentration nur kleine *Debye*-Längen. Zum Vergleich: Liegt die Ionenkonzentration eines 1 : 1-Elektrolyten bei 10 μM , beträgt die *Debye*-Länge λ_D etwa 100 nm, bei 10 mM beträgt λ_D nur noch 3 nm, und bei 100 mM etwa 1 nm. Die Ionenkonzentration biologischer Puffer und Lösungen liegt sogar noch über diesem letzten Wert. Unter solchen Bedingungen sind nur geringe Transportgeschwindigkeiten zu erwarten. Die Bewegung ist mit der im Folgenden betrachteten elektrothermischen jedoch eng verknüpft. Bei kleinen Frequenzen dominieren die kapazitiven Eigenschaften der EDL, diese werden mit steigender Signalfrequenz zunehmend überbrückt. Dann fällt das Potential nicht mehr bevorzugt über den Grenzflächen ab, sondern auch über der restlichen Flüssigkeit. Diese wirkt wie ein ohmscher Widerstand, der sich durch die Bewegung freier Ladungsträger im elektrischen Wechselfeld erwärmt. Diese Verluste elektrischer Energie gehen indirekt, über die Temperaturänderung und die Ausbildung dielektrischer Inhomogenitäten, in die elektrothermisch induzierte Bewegung ein, die im nächsten Abschnitt erläutert wird [Ramos 1998, Castellanos 2003, Felten 2006].

Elektrothermische Konvektionen

Mit Frequenzen oberhalb des elektroosmotischen Wirkspektrums gewinnen zusätzliche Prozesse an Bedeutung. Die durch Erwärmung entstehenden Anisotropien in der Flüssigkeit führen gemeinsam mit dem elektrischen Feld zu Raumladungen und zur Ladungstrennung. Dem entgegengesetzt verläuft die Ladungsrelaxation, bei der die Ladungen in der Flüssigkeit durch Wände-

rungsbewegungen einen elektrisch neutralen Zustand anstreben.

$$\langle W_e \rangle = \frac{1}{2} \langle \sigma E^2 \rangle \sim \frac{1}{2} \sigma U_{rms}^2 \quad 2-16$$

W_e ist die mittlere Heizleistung pro Volumen, die durch die Einwirkung eines elektrischen Feldes E bzw. einer Effektivspannung U_{rms} auf eine elektrisch leitfähige Flüssigkeit (σ) produziert wird. Sie beträgt für Systeme, wie sie in dieser Arbeit verwendet wurden ($U_{rms} = 10 V_{pp}$, Elektrodenabstand $10 \mu m$, Leitfähigkeit $\sigma = 300 mS / m$) etwa $38 GW / m^3$ bzw. umgerechnet auf das Volumen über den Elektrodenfeldern $24 mW$. Bei der Leitfähigkeit von Blut von etwa $600 mS / m$ beträgt sie $47 mW$ und kann in Kulturmedien ($\sim 1,2 S / m$) $95 mW$ erreichen. Abgeführt wird die produzierte Energie vorrangig über die Wärmeleitung (2.1). Die anschließende Dissipation vom Chip zur Umgebung ist infolge des großen Oberfläche-Volumen-Verhältnisses des Mikrosystems besonders effektiv. Man kann daher bei der Wärmeverteilung von einem quasi-stationären Zustand ausgehen, weil die Zeitskalen der Wärmeleitung klein sind stellt sich das Gleichgewicht auf diesen Skalen rasch ein [Melcher 1981]. Der Anteil des konvektiven Wärmeaustauschs, der wesentlich langsamer abläuft, kann dabei vernachlässigt werden. Die Formel 2-17 berücksichtigt diesen Umstand. Daher tragen vorrangig die Wärmeleitfähigkeiten λ der Flüssigkeit und die der Wände zur Temperaturänderung bei.

$$\lambda \nabla^2 T = -\frac{1}{2} \langle \sigma E^2 \rangle \quad 2-17$$

Das Resultat ist ein Temperaturgradient, der in Abhängigkeit von der Feldverteilung vom Kanal in Richtung der Wände verläuft [Jaeger 2005]. Dieser Gradient wirkt sich auf temperaturabhängige dielektrische Größen, wie die elektrische Leitfähigkeit σ und die Permittivität ε , aus. Die dielektrischen Eigenschaften der Flüssigkeit werden somit ortsabhängig (Formel 2-18 und 2-19). In erster Näherung kann die Temperaturabhängigkeit linear approximiert werden:

$$\sigma = \sigma(1 + \beta(\Delta T)) \quad 2-18$$

$$\varepsilon = \varepsilon(1 + \alpha(\Delta T)) \quad 2-19$$

Während die Leitfähigkeit mit der Temperatur zunimmt, die Werte für β ($+2,2 \% / K$) also positiv sind, sinkt die Permittivität durch einen negativen Wert für α ($-0,46 \% / K$) mit zunehmender Temperatur [Lide 2007]. Die zu Beginn dieses Abschnittes beschriebene Formel 2-10 formten Ramos *et al.* aufgrund dieser Bedingungen wie folgt um [Ramos 1998]:

$$\langle F_{EHD} \rangle = -\frac{1}{2} \left(\frac{\nabla \sigma}{\sigma} - \frac{\nabla \varepsilon}{\varepsilon} \right) \vec{E} \frac{\varepsilon \vec{E}}{1 + (\omega \tau)^2} - \frac{1}{4} \nabla \varepsilon |E|^2 \quad 2-20$$

Darin sind die Inhomogenitäten der Permittivität $\nabla \varepsilon / \varepsilon$ und der Leitfähigkeit $\nabla \sigma / \sigma$ als Bestandteil der *Coulomb*-Kraft erkennbar (erster Term). Die durch die inhomogene Temperaturverteilung und die Feldeinwirkung entstehenden Ladungsungleichgewichte versuchen, dem elektrischen Wechselfeld zu folgen, um einen Ladungsausgleich (Relaxation) zu erreichen [Felten 2006]. Sofern die charakteristische Relaxationszeit ($\tau = \varepsilon / \sigma$) der Flüssigkeit mit der Periodendauer des elektrischen Wechselfeldes annähernd übereinstimmt, entstehen aus diesen Ladungsverschiebungen Flüssigkeitsbewegungen. Die Flüssigkeit bewegt sich entsprechend dem Verhältnis von Anregung zu Relaxation phasenverschoben zum sich stetig ändernden elektrischen Potential an den Elektroden.

Eingesetzt wurde dieser Mechanismus bislang zur Erzeugung gerichteter Pumpbewegungen [Melcher 1966, Melcher 1967, Müller 1993, Felten 2006]. In der Regel wird eine um jeweils 90° -phasenverschobene Ansteuerung von vier Elektroden genutzt. Derartige hochfrequente Rechteck- oder Sinussignale erzeugen eine sich transversal über die Elektrodenoberfläche bewegende Potentialwelle. Daher stammt die Bezeichnung dieses Pumpprinzips als Wanderwellenmechanismus (*traveling wave*-Prinzip). Für einen funktionalen Pumpbetrieb sind bei symmetrischen Elektrodenformen mindestens drei unterschiedliche Phasenlagen notwendig [Bart 1990]. Bei symmetrischen Elektroden würde mit zwei phasenverschobenen Signalen keine gerichtete Bewegung entstehen, sondern die Ladungsträger würden lediglich schwingen. Über eine asymmetrische Gestaltung der Elektroden können auch mit nur zwei phasenverschobenen Signalen gerichtete Bewegungen in der Flüssigkeit erzielt werden [Olesen 2006; Chen 2007]. Beide Ansteuerungsmethoden sind für die AC-Elektroosmose und für die elektrothermisch induzierte Konvektion geeignet, was deren enge Verbindung verdeutlicht.

Durch die Kohäsion der Flüssigkeit entsteht aus der Ladungsträgerverschiebung eine gerichtete Flüssigkeitsbewegung, die dem Verhältnis der Relaxationszeit zur Anregungszeit entsprechend parallel bzw. antiparallel zur Bewegung des elektrischen Feldes über die Elektroden verläuft [Felten 2006]. Besondere Bedeutung hat, welche der beiden involvierten Kräfte überwiegt (Formel 2-20). Der Term der dielektrischen Manipulation fällt im Vergleich zum *Coulomb*-Term deutlich geringer aus. Die jeweilige Bedeutung für die resultierende F_{EHD} ist anhand der Kennzahl M zu erkennen [Ramos 1998] (Formel 2-21, 2-22):

$$\langle F_{EHD} \rangle = -M(\varpi, T) f(\nabla T, E_{rms}) \quad 2-21$$

$$M(\varpi, T) = \left(\frac{(\beta - \alpha)}{1 + (\varpi\tau)^2} + \frac{1}{2} \alpha \right) T \quad 2-22$$

Der von der Kreisfrequenz $\omega (= 2\pi f)$ und der Temperatur T abhängige Wert M ergibt zusammen mit einer Funktion des elektrischen Felds E und den Temperaturgradienten ∇T die F_{EHD} . Die Größe M ist eine Funktion der beiden Parameter α und β (Temperaturabhängigkeit der Permittivität und der Leitfähigkeit), sowie der Kreisfrequenz ω und der charakteristischen Relaxationszeit τ (siehe oben). Bei Vernachlässigung der Temperatur nimmt M Werte wie in der Abbildung 2-2 dargestellt an. Zwei Werte sind für jede Flüssigkeit charakteristisch: Zum einen ist dies die Übergangsfrequenz f_{trans} , definiert durch die Formel 2-23 [Melcher 1966].

$$f_{trans} = \frac{1}{2\pi\tau} \quad 2-23$$

$$f_{krit} = \frac{\sqrt{1 - 2\frac{\beta}{\alpha}}}{2\pi\tau} \quad 2-24$$

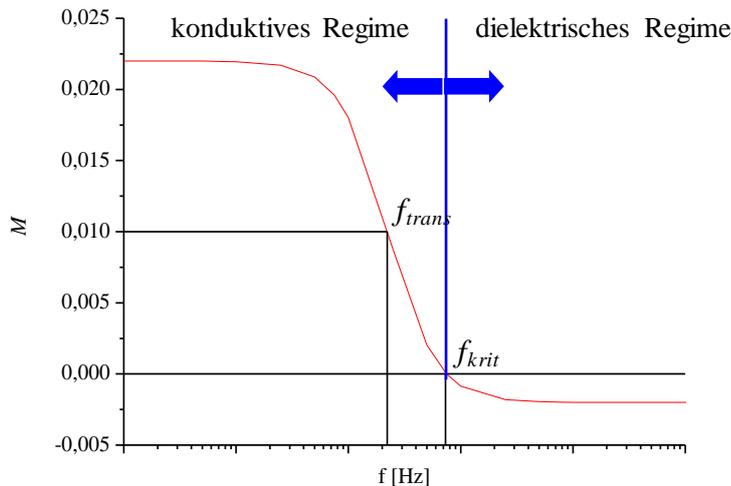


Abb. 2-2: Graph der Kennzahl M als Funktion der Frequenz.

Die Übergangsfrequenz f_{trans} entspricht dem Wendepunkt (Abb. 2-2). Bei dieser Frequenz tritt die größte Nettogeschwindigkeit auf [Melcher 1966, Ramos 1998, Castellanos 2003, Felten 2006]. Die zweite charakteristische Frequenz wird als kritische oder *Crossover*-Frequenz f_{krit}

bezeichnet [Ramos 1998, Holtappels 2009]. Sie definiert den Richtungsumschlag der Nettoströmung und ist gleichzeitig der Punkt, bei dem der *Coulomb*- und der dielektrische Term (Formel 2-20) betragsmäßig identisch sind.

Die elektrohydrodynamische Bewegung lässt sich in zwei Regime aufteilen: in einen niederfrequenten und einen hochfrequenten Bereich [Felten 2006]. In der Literatur über Elektrokonvektionen in Flüssigkristallsuspensionen sind jedoch die Begriffe „konduktives“ ($\hat{=}$ niederfrequentes) und „dielektrisches“ ($\hat{=}$ hochfrequentes) Regime gebräuchlich, die die Entstehungsprozesse für die Raumladungen und die Ladungstrennung besser verdeutlichen.

Die resultierende lokale Flüssigkeitsbewegung äußert sich, wie die in Abbildung 2-3 dargestellten numerischen Simulationen verdeutlichen [Stein 2008], in Form von Wirbeln [Felten 2006]. Die Strömungsbilder zeigen Werte entlang eines *xz*-Schnittes durch den Kanal mit vier um 90° in ihrer Phase verschobenen Signalen, die über ein Elektrodenfeld am Kanalboden (rote Linie) eingespeist werden. Es bilden sich über den Elektroden zwei gegenläufig rotierende Wirbel aus. Lediglich bei der Übergangsfrequenz wird nur ein, das gesamte Elektrodenfeld überspannender, Wirbel ausgebildet. Die Modellrechnungen zeigen darüber hinaus, dass das Maximum der erzeugten EHD-Strömung $6\ \mu\text{m}$ bis $10\ \mu\text{m}$ über der Elektrodenebene liegt.

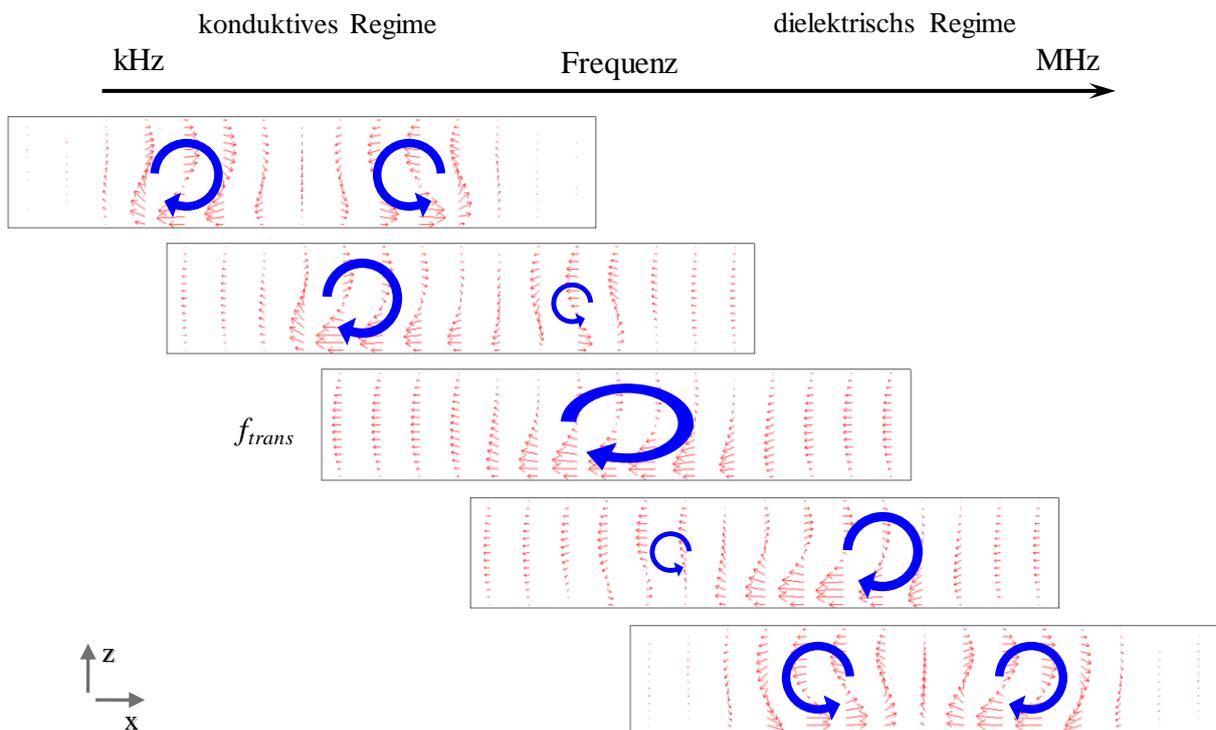


Abb. 2-3: Geschwindigkeitsverteilungen in einem Kanalabschnitt über den Mikroelektroden (rot) nach

dem *traveling wave*-Prinzip [Stein 2008]. Durch die blauen Pfeile wurde zusätzlich die Rotationsrichtung der Wirbel hervorgehoben. Die Maximalgeschwindigkeit des Nettostroms wird bei f_{trans} erreicht. In Bereichen, in denen der Faktor M Extremwerte annimmt (Abb. 2-2), ist die Geschwindigkeit der Flüssigkeit zwar lokal endlich, der Nettostrom liegt jedoch nahe Null. Erkennbar ist das rechts und links des Elektrodenfeldes sowie in Messungen [Felten 2006]. Beachten Sie, dass die lokalen Geschwindigkeiten der beiden Kanäle unten deutlich kleiner sind und lediglich um den Faktor sechs größer skaliert wurden.

Die Grafiken zeigen in vektorieller Darstellung die Orientierung der Flüssigkeitsbewegung. Lokal werden die Geschwindigkeiten oberhalb der Übergangsfrequenz f_{trans} zwar z. T. sehr hoch, jedoch ist die resultierende Nettogeschwindigkeit in diesen Frequenzbereichen nahe Null. Mit dem Übergang zum dielektrischen Regime ändern die Wirbel ihre Rotationsrichtung, und die lokalen Geschwindigkeiten schwächen sich deutlich ab.

Für Medien mit höheren elektrischen Leitfähigkeiten ergibt sich für die Werte von M folgendes Bild.

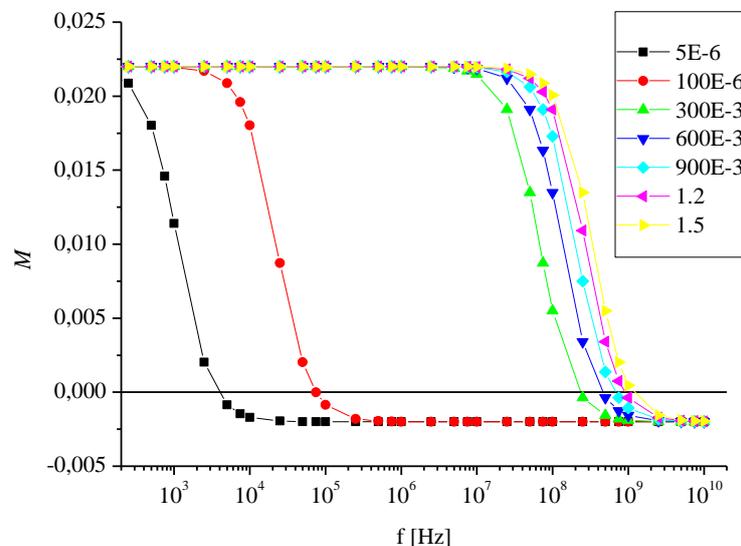


Abb. 2-4: Darstellung der Kennzahl M für verschiedene Leitfähigkeiten (in S/m), ohne Berücksichtigung des Temperatureinflusses.

Wie man den Kurven entnehmen kann, verschieben sich mit steigender elektrischer Leitfähigkeit der Kurvenverlauf und somit die Werte der kritischen Frequenz f_{krit} und der Übergangsfrequenz f_{trans} . Die Werte von M sind tatsächlich noch höher, wenn man berücksichtigt, dass sich die Temperatur durch ohmsche Erwärmung wiederum in Abhängigkeit von der elektrischen Leitfähigkeit und der applizierten Feldstärke ändert. Damit ist die elektrothermische Konvektion in physiologischen Medien bei hohen Feldfrequenzen im MHz-Bereich (Generatorlimit 18 MHz) im konduktiven Regime angesiedelt.

Zusammenfassend können die EHD-Flüssigkeitsbewegungen wie folgt beschrieben werden. Die Kraft, die verantwortlich ist für die Konvektionen, setzt sich aus der *Coulomb*- und der dielektrischen Kraft zusammen. Im niederen Frequenzbereich koppelt, durch die kapazitive Wirkung der Stern- und der diffusiven Ebene, nur ein geringer Anteil des elektrischen Feldes in die restliche Flüssigkeit ein. Dies tritt vor allem im Bereich der α -Dispersion auf, welche sich bei Feldfrequenzen von < 10 kHz findet [Glaser 1996]. Die hierdurch etablierten Konvektionen können der AC-Elektroosmose zugeordnet werden. Das bedeutet, die Umorientierung bzw. Deformation elektrodennaher Schichten, vor allem des diffusiven Bestandteils, werden durch das applizierte elektrische Wechselfeld hervorgerufen. Die in der EDL vorhandenen und durch Dissoziation entstehenden Ladungsträger interagieren mit dem Feld, das sich durch die stetige Umpolarisierung der Elektrodenoberfläche und die 90° -Phasenverschiebung zwischen benachbarten Elektroden, in einer Wellenfront bewegt. Die freien Ladungsträger versuchen, durch eine Wanderbewegung, die Potentialunterscheide auszugleichen und über die Ladungsrelaxation einen elektroneutralen Zustand zu erzeugen. Bei moderaten Feldstärken bewegt sich die Flüssigkeit durch Kohäsion in die gleiche Richtung wie die Wellenfront. Sind die Feldstärken deutlich größer kommt es zunächst zur Bildung von Ionenwolken und im Extremfall zum Zusammenbruch des bis dahin ausgeglichenen Zustandes der EDL. Große Feldstärken können bei sehr kleinen Doppelschichten zu Oszillationen des diffusiven Bestandteils der EDL oder zum Zusammenbruch des Gleichgewichtszustandes führen, und damit den Übergang von Ladungsträgern in die Doppelschicht fördern, die über diffusive Vorgänge allein nicht ausgeglichen werden können [Olesen 2010]. Die Folge sind Wirbel.

Ähnlich verhält es sich bei elektrothermischen Konvektionen. Bei Feldfrequenzen im kHz-MHz Bereich koppelt hier ein größerer Feldanteil direkt in die Flüssigkeit ein, weil kapazitive Randschichten überbrückt werden. Die Wirkung der Flüssigkeit als ohmscher Widerstand führt zur lokalen Erwärmung des Bereichs über den Elektroden. Über die große Oberfläche der Mikrosysteme wird die entstehende Wärme stetig abgeleitet. Es bildet sich ein stabiler Temperaturgradient aus, der zur Variation temperaturabhängiger dielektrischer Größen der Flüssigkeit führt. Dies sind vor allem die elektrische Leitfähigkeit und die Permittivität. Durch die Schichtung von Ebenen unterschiedlicher dielektrischer Eigenschaften, können über die Interaktion mit der wandernden Wellenfront Raumladungen ausgebildet werden und eine Ladungstrennung erfolgen. Diese ruft eine Wanderung von Ladungsträgern hervor, um über Ladungsrelaxation einen elektroneutralen Zustand zu erreichen. Diese Verschiebungen sind über die Kohäsion an die Flüssig-

keit gekoppelt. Die Bewegung selbst ist zweigeteilt. Dominiert bei niederen Frequenzen der Anteil der *Coulomb*-Kraft die Bewegung, wird bei höheren Frequenzen der Anteil der dielektrischen Kraft bedeutender. Verbunden ist dies mit einer Umkehr der Bewegung, von einer parallelen hin zu einer antiparallelen Orientierung relativ zur Potentialwelle. Auch hier führen kritische Feldstärken zur Ausbildung von Instabilitäten, die nicht allein durch Diffusion ausgeglichen werden können. Die Folge sind konvektive Instabilitäten in Form von Wirbeln. Diese Wirbel sind die Grundlage für die Anreicherungserscheinungen über den Elektrodenfeldern.

Das Prinzip der EHD-Flüssigkeitsbewegungen kann für polydisperse heterogene Dielektrika, wie Suspensionen von Zellen, Bakterien oder Viren, nicht ohne die Dielektrophorese als zeitgleich wirksames Prinzip betrachtet werden. Dies gilt insbesondere für die Bereiche unmittelbar über den Elektroden. Das Prinzip der DEP ist daher Gegenstand des nächsten Abschnitts.

Dielektrophorese

Dielektrophorese ist die elektromotorische Bewegung polarisierter partikulärer Dielektrika innerhalb eines inhomogenen elektrischen Wechselfeldes [Glaser 1996]. Grundlegende Betrachtungen wurden von diversen Autoren zum Thema der Dielektrophorese angestellt [Pohl 1978, Pethig 1997, Schnelle 1999 a, Schnelle 1999 b, Schnelle 2000 a]. Prinzipiell modifiziert ein partikuläres Dielektrikum, welches eine vom umgebenden Medium abweichende Polarisierbarkeit aufweist, lokal das zwischen den Elektroden etablierte elektrische Feld. Die resultierenden Polarisationsladungen bilden einen Komplex von Multipolen (Dipolen, Quadrupolen etc.) aus, welcher als Gesamtheit mit dem inhomogenen, elektrischen Feld interagiert und zu einer Kraftwirkung entlang des Feldgradienten führt. Damit ist die dielektrophoretische Kraft (F_{DEP}) im Mittel, durch die Induzierung der Polarisierung wie auch durch die elektromotorische Bewegung der Komplexe entlang des Feldgradienten definiert. Sie ist direkt proportional zum Quadrat des Effektivwertes der Feldstärke E_{rms} (Formel 2-25). Gleichzeitig ist sie sehr stark abhängig vom Radius des Partikels r und in geringerem Maße von der Permittivität des Mediums ϵ_M und vom Realteil des *Clausius-Mossotti*-Faktors f_{CM} .

$$\langle F_{DEP} \rangle = 4\pi r^3 \epsilon_M \Re(f_{CM}) \nabla E_{rms}^2 \quad 2-25$$

$$f_{CM} = \frac{\sigma_P^* - \sigma_M^*}{\sigma_P^* + 2\sigma_M^*} \quad 2-26$$

Dieser Faktor beschreibt das Verhältnis der komplexen Leitfähigkeit der Flüssigkeit σ_M zu der des Partikels σ_P . Dabei ist diese komplexe Leitfähigkeit σ^* definiert als:

$$\sigma^* = \sigma + i\omega\epsilon_0 \quad 2-27$$

Bestimmt wird die Richtung der elektromotorischen Bewegung vom Kontrast der komplexen elektrischen Leitfähigkeiten des Partikels und der des umgebenden Mediums. Der *Clausius-Mossotti*-Faktor kann in der gebräuchlichen Notation Werte von -0,5 bis 1 annehmen. Ist das Vorzeichen dieses Faktors und damit die dielektrophoretische Kraft negativ, wird dieser Prozess als negative Dielektrophorese (nDEP) bezeichnet. Ein Partikel wird entgegen der *Stokes*-Reibung (Formel 2-9), die es durch die Bewegung in einer newtonschen Flüssigkeit erfährt, zum Ort der niedrigsten Feldstärke bewegt. Die Lage des Feldminimums wird definiert durch die Elektrodengeometrie und die Ansteuerung der Elektroden. Bei positiven Werten spricht man von positiver Dielektrophorese (pDEP), wobei das Partikel an die Elektrodenkanten bewegt wird, den Orten der höchsten Feldstärke.

Aus der Formel 2-27 ergibt sich mit der Kreisfrequenz ω eine Frequenzabhängigkeit der Polarisierung. Der Frequenzbereich erstreckt sich bei einem Großteil dielektrophoretischer Anwendungen, beispielsweise bei der Manipulation von Einzelzellen, Zellorganellen, Bakterien oder Viren, von 100 kHz bis zu 100 MHz [Jaeger 2005, Grom 2006]. Zellgroße Partikel beispielsweise lassen sich optimal mit Hilfe der DEP handhaben [Fuhr 1999, Fiedler 1998, Dürr 2003, Hu 2005], aber auch Viren und Bakterien [Markx 1994, Müller 1996, Green 1997, Hughes 1998, Kentsch 2003]. Zumeist wird die DEP zusammen mit einer externen Strömung eingesetzt. Neben Spritzenpumpen kommen hierfür auch gravitations- oder zentrifugal betriebene Mikrofluidiken zum Einsatz [Boettcher 2006, Boettcher 2008].

Bei Verwendung hochfrequenter elektrischer Felder lässt sich die elektrohydrodynamische Bewegung der Flüssigkeit nur schwer von der dielektrophoretisch induzierten Bewegung der Partikel trennen. Daher müssen beide Kräfte bei der Deutung der Ergebnisse berücksichtigt werden.

Im folgenden Abschnitt werden einige durch die inhomogene Temperaturverteilung, des im Abschnitt zuvor beschriebenen Energieeintrags, hervorgerufene bzw. verstärkte Effekte eingehender betrachtet.

2.3 Thermisch induzierte Flüssigkeits- und Partikelbewegungen

An den Mikroelektroden kommt es zur ohmschen Erwärmung in den gut leitfähigen Flüssigkeiten (Formel 2-16). Die Änderung der Temperatur wird vorwiegend über die Wärmeleitfähigkeit des Mediums und der des umgebenden Kanalsystems dissipiert, so dass sich lokale Änderungen von einigen zehn Grad Kelvin einstellen können. Durch das elektrische Feld als Quelle thermischer Energie und die Wirkung des Kanalsystems, speziell der Kanalwände, als Senke für die produzierte Wärme, tritt nahe der Kanalmitte die größte Erwärmung auf [Jaeger 2005]. Diese lokale Veränderung zieht weitere Effekte nach sich. Zum einen wird lokal die *Brownsche* Bewegung verstärkt. Zum anderen können durch einen starken thermischen Gradienten Partikelbewegungen, wie etwa Thermophorese, provoziert werden.

Brownsche Bewegung

Die *Brownsche* Bewegung betrifft alle Bestandteile einer Lösung oder Suspension. Molekulare und partikuläre Bestandteile werden durch willkürliche Stöße einzelner Flüssigkeitsteilchen des Trägermediums in Bewegung versetzt. Die unregelmäßigen Stöße münden in den charakteristischen Zitterbewegungen und dem so genannten *Random Walk*. Die Häufigkeit und Heftigkeit dieser Stöße ist abhängig von der lokalen Temperatur. Sind beispielsweise auf verschiedenen Seiten eines Partikels die Temperaturen verschieden, sind diese Stöße auf der wärmeren Seite ausgeprägter und treiben das Partikel in ein kälteres Areal.

Der Diffusionskoeffizient ist eine charakteristische stoffspezifische, und temperaturabhängige Größe, die diese thermisch bedingten Fluktuationen ins Verhältnis setzt zur entgegengesetzt wirkenden Reibung. Dieses Verhältnis ist für kugelförmige Partikel wie Bakterien und Viren in der *Stokes-Einstein-Gleichung* zusammengefasst.

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta r} \quad 2-28$$

Die thermische Energie wird repräsentiert durch das Produkt aus der *Boltzmann-Konstante* k_B und der absoluten Temperatur T . Die Reibung einer Kugel in einer viskosen Flüssigkeit (Formel 2-9) steht im Nenner dieser Gleichung.

Eine Abwandlung dieses Verhältnisses ergibt sich bei Betrachtung höher konzentrierter Partikelsuspensionen, bei denen Einzelpartikel durch Wechselwirkungen keine ungestörte Diffusion vollführen können (apparente Diffusion). Hierbei ergibt sich eine Zweiteilung des Diffusionskoeffizienten, wobei ein Teil die Bewegung nahe der ungestörten Diffusion darstellt während eine Reduzierung des Koeffizienten auf die Wechselwirkungen mit den anderen Partikeln hindeutet.

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta r} (1 - 1,83\phi) \quad 2-29$$

Dieses Verhalten findet in der empirisch ermittelten Formel von Batchelor seinen Ausdruck [Malcherek 2009]. Danach kommt zusätzlich dem Volumenanteil ϕ der Partikel in der Flüssigkeit eine Bedeutung zu. Dies fällt vor allem bei einem erhöhten Partikelgehalt ins Gewicht, wie etwa an den Orten einer Anreicherung.

Jedes aktiv bewegte Partikel muss die *Brownsche* Bewegung dominieren, wobei mit sinkendem Partikelradius die Beweglichkeit deutlich zunimmt: Hat beispielsweise ein 1 μm großes Partikel noch eine Diffusionskonstante von $5 \cdot 10^{-9} \text{ cm}^2 / \text{s}$, liegt dieser Wert für ein 10 nm großes Partikel bereits bei $5 \cdot 10^{-7} \text{ cm}^2 / \text{s}$ [Lide 2007].

Thermophorese

Lokale Temperaturunterschiede spielen bei der Thermodiffusion oder Thermophorese ebenfalls eine Rolle. Der Mechanismus wurde erstmalig von Carl Ludwig und Charles Soret beschrieben. Obwohl die Ursachen noch unzureichend beschrieben sind, geht man davon aus, dass die thermische Energie lokale Fluktuationen verstärkt. Grundsätzlich bewegen sich zuvor homogen verteilte Partikel meist aus einem warmen Teilbereich in kältere Nachbarareale und bilden lokal einen Konzentrationsgradienten. Auf den Skalen eines Mikrosystems genügen bereits wenige Grad Kelvin Unterschied [Duhr 2006 a-b]. In jüngster Zeit wurde dieser Mechanismus in Mikrosystemen zur gezielten Anreicherung von DNA-Fragmenten genutzt [Braun 2002, Baaske 2007, Mast 2010]. Der Effekt wirkt der molekularen Diffusion entgegen. Für kleine lokale Partikelkonzentrationen und kleine Temperaturgradienten hat die Thermodiffusion nur eine geringe Bedeutung und führt zu der bekannten Diffusionsrelation 2-30.

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D\Delta c \quad 2-30$$

Die Formel vernachlässigt den möglicherweise durch konvektive Strömungen hervorgerufenen

Anteil an Partikeln, der den Bereich verlässt bzw. in selben eintritt. Limitiert werden die Einsatzmöglichkeiten dieses Prozesses durch die Anfangsbedingung, dass der Volumenanteil der zu manipulierenden Partikel bereits zu Beginn der Manipulation größer Null sein muß, sich für deren Einsatz also bereits Partikel in ausreichender Menge vor Ort befinden müssen.

Im folgenden Abschnitt werden bereits etablierte Trennverfahren für Mikrosysteme vorgestellt. Dabei sollen unter anderem deren Stärken und Schwächen deutlich gemacht werden.

2.4 Trennverfahren für Mikro- und Nanopartikel in Mikrofluidiken

Prinzipiell liegt eine Auftrennung vor, wenn das Retentat – der unlösliche Bestandteil der Suspension – vom Filtrat (Permeat) - der Flüssigkeit - getrennt wird. Die eingesetzten Kräfte können elektrischer, magnetischer oder gravimetrischer Natur sein und einzeln oder in Kombination auftreten. Die geometrischen Abmessungen von Mikrosystemen ermöglichen durch die Einstellung der Stärke und Richtung dieser Kräfte den Einsatz unterschiedlicher Methoden, um suspendierte Partikel mit Durchmessern von Mikrometern bis Nanometern von der sie umgebenden Trägerflüssigkeit zu trennen und lokal anzureichern.

Neben der am weitesten verbreiteten mechanischen Filtration betrachten wir in diesem Kapitel auch hydrodynamische Trennverfahren, Feld-Fluss-Fraktionierung sowie die Elektro- und die Dielektrophorese. Im Folgenden werden kurz die Prinzipien der genannten Trennverfahren und deren Einsatzmöglichkeiten beschrieben.

Mechanische Filtration

In makroskopischen Systemen unterscheidet man bei der mechanischen Filtration zwischen der *Dead-End*- und der *Cross-Flow*-Filtration. Der Unterschied besteht in der Art und Weise, wie das Filtrat die Filterstruktur passiert.

Durchquert dieses bei der ersteren die Filterstruktur normal zur Oberfläche, tritt bei der *Cross-Flow*-Filtration die flüssige Phase nur partiell durch die Filterstruktur, die parallel zur Hauptströmungsrichtung angeordnet ist. Die *Cross-Flow*-Filtration ist deutlich weniger anfällig gegenüber einem Verstopfen des Filters durch das Retentat, erfordert jedoch einen höheren Volumen-

durchsatz zum Erreichen der gleichen Retentatmenge. Beide Verfahren sind Standardmethoden zur Ultrafiltration, mit der Viren und Proteine mit Größen von wenigen Kilodalton zurückgehalten werden können. Jede Filterstruktur hat eine charakteristische Ausschlußgröße, die die Flüssigkeit und kleinere Bestandteile passieren lässt, während das Retentat an bzw. in der Filterstruktur hängen bleibt. Mit der Dauer der Filtration verringert sich durch diese Anlagerungen der Durchtrittsquerschnitt fortlaufend. Der Antrieb für beide Verfahren ist ein Druckgradient zwischen den beiden Seiten der Filterstruktur.

Beide Filtrationsverfahren wurden bereits in Mikrosystemen eingesetzt: So wurden mit Feldern einander dicht benachbarter Säulen in einem Mikrokanal erfolgreich Partikel filtriert [De Malsche 2007, Lavrik 2010], darunter auch Blutzellen [Davis 2006]. Auch ein *Cross-Flow*-Betrieb wurde mit diesen Säulenfeldern realisiert, indem sie statt orthogonal parallel zum Basisstrom angeordnet wurden [Chen 2008]. Diese Anordnung hält die Partikel im Hauptkanal zurück, während das Filtrat hinter den Säulen austritt (Abb. 2-5).

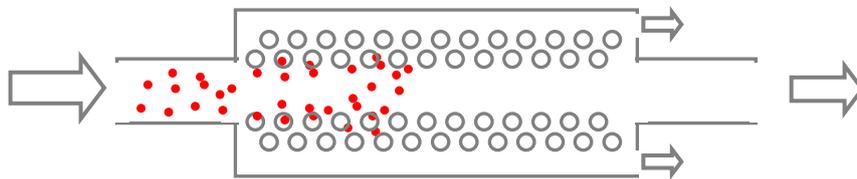


Abb. 2-5: Schematische Darstellung eines mechanischen Filters im *Cross-Flow*-Betrieb [Chen 2008].

Alternative Ansätze integrieren mittels *ion track etching* erzeugte nanoporöse Membranen in Mikrofluidiken [Metz 2004] oder verwenden die Verjüngung des Mikrokanals, um Partikel anzureichern [Hamblin 2010].

Das größte Problem mechanischer Filter sind Verstopfungen und damit verbunden ein Abfall der Filtrationsleistung. Dieser kann häufig nur über höhere Drücke ausgeglichen werden. Soll das Retentat weiterverarbeitet werden, müssen beim *Dead-End*-Betrieb die abgetrennten Substanzen oder Partikel aufwendig aus der Filterstruktur zurückgewonnen werden. Aber auch im *Cross-Flow*-Betrieb wird das Retentat an- bzw. in die Filterstruktur eingelagert. Aufgrund der Scherkräfte, die durch die parallele Orientierung des Filters zur Flüssigkeitsströmung entstehen, stellt sich im *Cross-Flow*-Betrieb ein Gleichgewicht zwischen dem Abtrag und der Anlagerung von Partikeln ein. Die Wahrscheinlichkeit eines Komplettverschlusses wird deutlich reduziert und die Rückgewinnung gestaltet sich einfacher als im *Dead-End*-Betrieb. Ein weiteres Problem der mechanischen Filtration in Mikrosystemen ist, dass das Totvolumen der Filterstruktur im Verhältnis

zur gesamten Probe nicht vernachlässigbar klein ist, wenn die Filterstruktur aus mehreren Ebenen besteht.

Diese Problematik der Verlegung des Filters durch das Retentat wird bei Verfahren ohne mechanische Barriere vermieden. Diese sind daher Gegenstand der folgenden Abschnitte dieses Kapitels.

Hydrodynamische Trennung

Bei der hydrodynamischen Trennung wird die Relativbewegung von Partikeln zueinander in einem inhomogenen Geschwindigkeitsfeld genutzt, um eine Auftrennung hervorzurufen. Bei dieser ist ein Größen- oder Dichteunterschied zwischen den zu trennenden Partikeln von Bedeutung: Größere Partikel einer Suspension etwa erfahren in einem Geschwindigkeitsgradienten auf einander gegenüberliegenden Seiten unterschiedliche Strömungsgeschwindigkeiten.

Verantwortlich für den Geschwindigkeitsgradienten ist beispielsweise das Verhältnis der Strömungswiderstände an den Ausgängen einer Verzweigung. Die Folge sind unterschiedliche Ausstromgeschwindigkeiten innerhalb des Volumenstromes. Es gilt: Mit steigendem Strömungswiderstand sinkt die Ausstromgeschwindigkeit. Wird ein Partikel auf zwei gegenüberliegenden Seiten unterschiedlich schnell überströmt, ist nach Bernoulli ein Druckunterschied die unmittelbare Folge (*Zweifach-Fung*-Effekt). Dieser führt zu einer Relativbewegung in den schneller durchströmten Kanal. Kleine Partikel bewegen sich aufgrund des geringeren Einflusses des *Zweifach-Fung*-Effekts statistisch häufiger in den langsamer durchströmten Ausgang (Abb. 2-6).

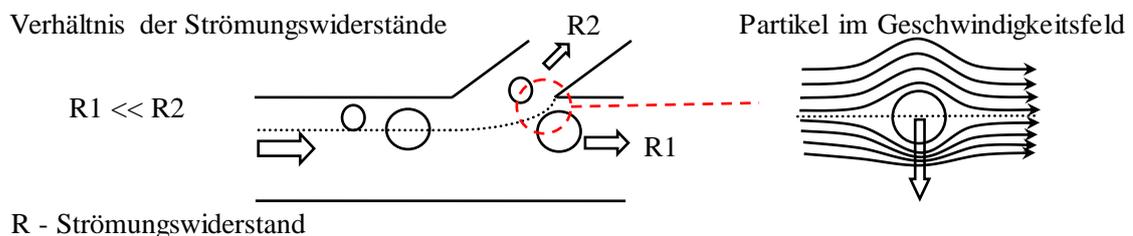


Abb. 2-6: Schematische Darstellung einer hydrodynamischen Trennung mit Hilfe eines Druckunterschieds beim *Zweifach-Fung*-Effekt.

Mit entsprechend dimensionierten Mikrokanälen und durch die Anpassung der Strömungsbedingungen gelingt es auf diese Weise, Partikel mit Mikrometerdurchmesser - wie weiße Blutzellen,

innerhalb eines Flüssigkeitsstromes anzureichern [Yamada 2005].

Ein alternatives hydrodynamisches Trennverfahren verwendet Vertiefungen in einer Kanalwand, die in einem definierten Winkel zu einer externen Strömung angeordnet sind und damit unter laminaren Bedingungen Mikrowirbel induzieren. In diesen werden Partikel räumlich voneinander getrennt, da sie je nach Dichte in unterschiedlichem Maß von den Wirbeln mitgetragen werden [Hsu 2008].

Wie aus den Beschreibungen zu entnehmen ist, eignen sich beide Methoden nur für zumindest mikrometergroße Partikel. Zudem sind große Dichteunterschiede wie sie in der zweiten Variante verwendet werden in Zellsuspensionen wie Blut nicht zu erwarten.

Die folgende Methode eignet sich für Gemenge aus Objekten hinunter bis zu molekularen Dimensionen.

Feld-Fluss-Fraktionierung

Die Feld-Fluss-Fraktionierung basiert auf der Trennung verschiedener Molekül- oder Partikelgruppen in unterschiedlichen Ebenen eines Flussprofils. In Mikrosystemen besteht zwischen den Randbereichen und der Kanalmitte in der Regel ein Geschwindigkeitsgradient (2.1, Abb. 2-7):

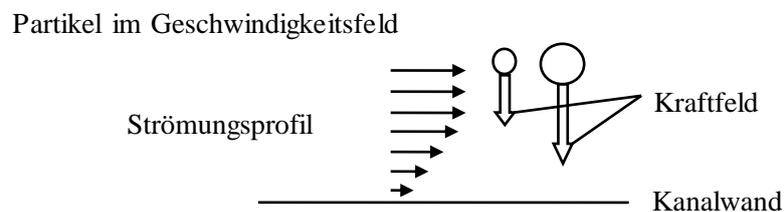


Abb. 2-7: Schematische Darstellung einer Feld-Fluss-Fraktionierung.

Werden Partikel mit Hilfe eines Kraftfeldes (Gravitation bzw. Zentrifugation, Magnetismus, elektrische Felder usw.) ausgelenkt, können durch unterschiedliche Partikeleigenschaften und der daraus resultierenden unterschiedlich starken Interaktion mit dem Feld, Partikelpopulationen in den langsamen Bereich der Strömung bewegt werden. Andere verbleiben im schnellen Bereich in der Kanalmitte und werden weitertransportiert. Das Prinzip wird mitunter entgegengesetzt verwendet, indem selektiv Partikel aufgrund ihrer Eigenschaften aus einem wandnahen

Gemisch heraus in schneller strömende Flüssigkeitsschichten verschoben werden. Die Trennung erfolgt bei diesen Methoden nicht nur räumlich: Die Partikel, die im Kraftfeld stärker ausgelenkt werden, kommen auch zeitverzögert am Ausgang an.

Daraus leitet sich ein Nachteil dieser Methoden ab: Um eine ausreichend hohe Trennschärfe zu erzielen, müssen die Partikel über eine lange Strecke hinweg kontinuierlich manipuliert werden, denn sobald das Kraftfeld nicht wirksam ist, verteilen sich die Partikel durch die auf diesen Skalen sehr wirksame Diffusion und andere Kräfte.

Elektrophorese

Die Elektrophorese beschreibt die Trennung geladener Gruppen entsprechend ihrer Polarität in einem statischen elektrischen Feld. Das Feld ist in Mikrosystemen meist parallel zu einem Transportkanal ausgerichtet. Zusätzlich kommt häufig eine Gelstruktur zum Einsatz, deren Vernetzungsgrad einen Einfluss auf die Transportgeschwindigkeit der verschieden großen und unterschiedlich stark geladenen Spezies hat und damit deren Durchtrittszeit beeinflusst. Eine spezielle Variante ist die der *Free-Flow*-Elektrophorese. Das elektrische Feld ist orthogonal zur Flussrichtung orientiert [Raymond 1994]. Auf ein Gel wird verzichtet. Die geladenen Gruppen werden innerhalb der Strömung dem Feld ausgesetzt und ordnen sich entsprechend ihrer Ladung über die gesamte Strombreite an.

Die Nachteile dieser Manipulationsmethode sind die notwendigen Vorbereitungsschritte, wie die Gelherstellung, und das hohe Risiko elektrolytischer Spaltvorgänge an den Elektroden. Beide Nachteile treten bei der bereits beschriebenen DEP nicht auf.

Diese ausführliche Diskussion herkömmlicher Anreicherungsverfahren in Mikrosystemen zeigte deutlich deren Vor- aber auch Nachteile auf. Letztere klar identifiziert zu haben, ist eine Grundvoraussetzung für das weitere Vorgehen dieser Arbeit, da die hier neu entwickelte Methodik die bestehenden Probleme natürlich weitestgehend vermeiden soll.

3 Material und Methoden

In diesem Kapitel werden die, für die Arbeit verwendeten, fluidischen Mikrosysteme, *MicCell* (GeSiM mbH), das Kanalsystem für den Einsatz von 3D-Elektroden und der *traveling wave*-Chip vorgestellt und charakterisiert. Ferner werden die zur Herstellung der EHD-Filterbausteine notwendigen Verfahren und die Vorbereitungsschritte beschrieben. Die Parameter und Einsatzbedingungen der mikrofluidischen wie elektrischen Peripherie werden daran anschließend thematisiert. Dann werden die eingesetzten licht- und fluoreszenz-mikroskopischen Messmethoden erläutert. Und der für die Erfassung der Daten benutzte Bildverarbeitungsalgorithmus wird kurz umrissen. Es folgt die Verarbeitung und Vorbereitung der Proben. Die letzten Punkte umfassen die Fluorothermometrie, als Methode zur orts aufgelösten Erfassung von Temperaturen in Mikrosystemen und die numerische Simulation des Temperatur- und Strömungsverhaltens mit Hilfe der Finite Elemente Methode (FEM).

3.1 Mikrosysteme für Mikro- und Nanopartikel

In diesem Abschnitt werden die elektrisch ansteuerbaren Mikrosysteme beschrieben, die bei den Untersuchungen eingesetzt wurden. Es wird ausgeführt, wie diese Systeme aufgebaut und welche Prozessschritte zur Fertigung notwendig sind. Die verwendeten Mikrosysteme sind Grundbausteine in einem System aus weiteren peripheren Elementen (Abb. 3-1). Darunter fallen Pumpensysteme, Generatoren und optische Einrichtungen zur Aufnahme.

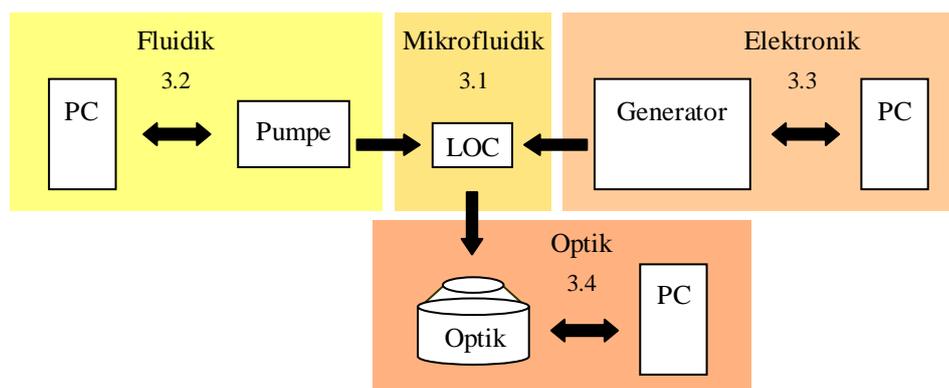


Abb. 3-1: Schematische Darstellung der Bestandteile der verwendeten Mikrosysteme. Die Pfeile verdeutlichen den uni- oder bidirektionalen Charakter der Verbindungen.

Aufbau der *MicCell*

Im Folgenden wird dargestellt, wie Mikrostrukturen von einer Siliziummatrize in das anorganische und farblose Polymer Polydimethylsiloxan (PDMS Sylgard 184, Dow Corning) übertragen wurden, um eine Mikrofluidikzelle *MicCell* (GeSiM mbH) zu generieren (Abb. 3-2).

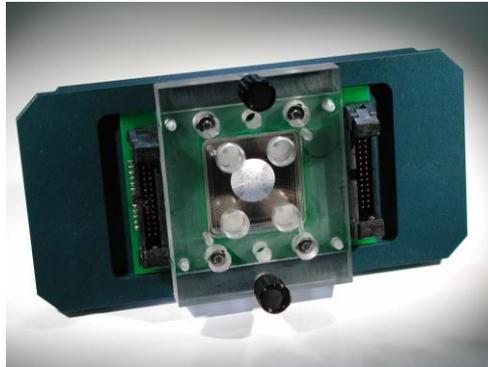


Abb. 3-2: Fotografische Abbildung der *MicCell* (GeSiM mbH).

Zur Abformung der Kanalstrukturen in PDMS wurde eine Gießstation (GeSiM mbH) verwendet. Die 300 μm breiten und 30 μm hohen Strukturen wurden zunächst eigenhändig am Computer mit Hilfe der Software *AutoCAD* entworfen und später durch die Firma GeSiM über ein Maskenverfahren per ultraviolettem Licht (UV) zunächst auf ein Polymer und dann über einen Ätzschritt auf Silizium übertragen. Die resultierende Siliziumform, die auch als Master bezeichnet wird, wurde zusätzlich mittels plasmaunterstützter chemischer Abscheidung (PECVD) mit Teflon beschichtet, um das Auslösen gegossener PDMS-Strukturen zu erleichtern. Je nach Anforderung wurde der gewünschte Master in eine Bodenplatte aus Aluminium integriert. Die lateralen und vertikalen Abmaße des späteren PDMS Guss-Stückes wurden von einem Ring aus Teflon definiert, der vor jeder Abformung auf der Bodenplatte platziert wurde. Mit einer Stützplatte aus Polymethylmethacrylat (PMMA) oder Polycarbonat (PC) wurde die Form verschlossen, wobei alle Zugänge zu den Kanälen mit Hilfe von Polyetheretherketon (PEEK)-Platzhaltern während des Gießens offen gehalten wurden. Das Rezept der PDMS-Mixtur richtete sich nach der vom Hersteller empfohlenen Zusammensetzung, 1 Teil Vernetzer auf 10 Teile PDMS-Vorpolymer. Anschließend wurde das Gemisch verrührt und, um Lufteinschlüsse im Polymer zu vermeiden, für $\frac{1}{2}$ h in einem Exsikkator platziert. Das Aushärten wird von diversen Gruppen unterschiedlich gehandhabt, vor allem im Hinblick auf Dauer und Temperatur gibt es deutliche Unterschiede [Erickson 2003, Piruska 2005, Chueh 2007, Gel 2009]. Die Literaturangaben reichen von 150 $^{\circ}\text{C}$ für 15 min Dauer bis hin zu 75 $^{\circ}\text{C}$ für 3 h. Für die verwendeten Mikrofluidikstrukturen wurde ein

abgewandeltes Protokoll verwendet. Das PDMS wurde für 10 h bei 80 °C thermisch vernetzt und damit vor allem der millimeter-großen Dicke der PDMS-Matte Rechnung getragen. Zur Assemblierung der Mikrofluidik wurde daran anschließend jeweils das Elektrodenglas mit Hilfe der in Tabelle 3-1 dargestellten Abfolge präpariert.

Tab. 3-1: Reinigungsprotokoll für das Elektrodenglas der *MicCell*

| Prozessschritt | Ablauf | Dauer |
|-----------------------|--|--------------|
| Reinigung | 2 % Hellmanex II (Hellma GmbH) in vollentsalztem Wasser (veH ₂ O) (arium 611VF, Satorius) in Ultraschallbad (Sonorex Super 10P, Bandelin electronic GmbH) | 5 min |
| | 2 x Spülen mit veH ₂ O | |
| | Ultraschallbad in veH ₂ O | 5 min |
| | 2 x Spülen mit veH ₂ O | |
| | Ultraschallbad in veH ₂ O | 5 min |
| Trocknung | Trocknen in Stickstoff (N ₂) | |
| Aktivierung | Aktivierung in Plasmaofen (Harrick Plasma) mit Sauerstoff Plasma (O ₂) | 30 s |

Das gereinigte und plasmaaktivierte Elektrodenglas wurde anschließend mit dem entformten PDMS verbunden. Hierzu wurde ein Stereomikroskop SZ-61 (Olympus Deutschland GmbH) verwendet, was die optische Kontrolle des Assemblierungsschrittes ermöglichte. Damit konnte die korrekte Orientierung der Mikroelektroden gegenüber dem Kanal sichergestellt werden. Anschließend wurde der gesamte Verbund in die Mikroskopierhalterung bzw. Fassung der *MicCell* eingesetzt und für 30 min bei 60 °C in einem Vakuumtrockenschrank (VD, Binder GmbH) versiegelt und evakuiert. Unmittelbar nach dem Abkühlen konnte das *MicCell* System verwendet werden. In Abbildung 3-3 sind die Bestandteile der *MicCell* abgebildet. In der Bodenplatte wurde eine Kalottenplatte federnd gelagert, um zu große Materialspannungen zu vermeiden. Darin wurde jeweils das Dünnglas mit den strukturierten Mikroelektroden platziert. Auf der gegenüberliegenden Seite befindet sich das PDMS mit dem Mikrokanal, welches unmittelbar mit der PMMA- oder PC-Stützplatte und indirekt mit einer Elektrodenplatine verbunden ist. Dieses wurde entsprechend der Elektrodenanordnung und damit jeweils relativ zu dem Dünnglas ausgerichtet.

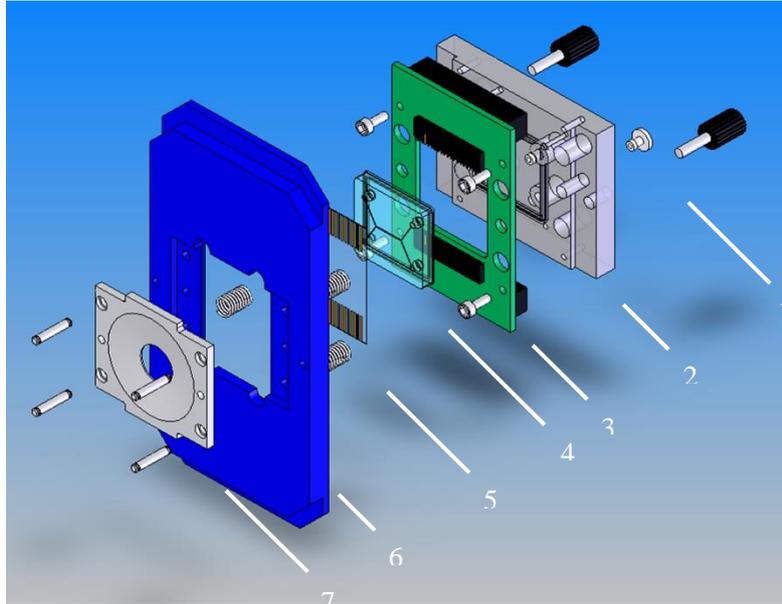


Abb. 3-3: Explosionszeichnung der *MicCell* (SolidWorks, Dassault Systèmes). Entsprechend der Nummerierung: 1) Schrauben zum Verschließen der Fluidzelle, 2) PMMA- bzw. PC-Stützplatte mit Bohrungen für die Mikrofluidikanschlüsse, 3) Platine mit Federkontakteleisten, die mit der Stützplatte verschraubt wird, 4) abgeformte PDMS-Matte mit Kanalstruktur auf der Unterseite, 5) Elektrodenglas mit Mikroelektroden auf der Oberseite (Dicke circa 170 μm), 6) Bodenplatte mit federnd aufgehängter Kalottenplatte und 7) Kalottenplatte als Zugang für die inverse Mikroskopie.

Aufbau der PDMS-Fluidikzelle für 3D-Elektroden

Für den Aufbau einer PDMS-Fluidikzelle für die frei orientierten 3D-Elektroden wurde zunächst eine Form aus Polyoxymethylen (POM) hergestellt. Die Abmessungen des Kanals betragen für dieses System 500 μm in der Breite und 500 μm in der Höhe. Die Gussform wurde mit Hilfe einer CNC-Fräse (WF4 CNC, Kunzmann Maschinenbau GmbH) realisiert.

Bei der Herstellung des PDMS-Kanals wurde als Kanaldecke ein Objektträger (Menzel Gläser GmbH & Co. KG) genutzt, der entsprechend dem Reinigungsprotokoll aus Tabelle 3-1 vorgereinigt wurde. Der gereinigte und aktivierte Objektträger wurde direkt auf dem noch ungehärteten PDMS platziert, und erst anschließend daran wurde das Polymer entsprechend den Angaben im vorangegangenen Abschnitt ausgehärtet. Der so verbundene PDMS-Glas-Kanal wurde aus der Form entnommen und das Elektrodenglas mit den 3D-Elektroden kopfüber auf der Zelle platziert und dadurch der Kanal verschlossen. Ein Protokoll aus der Arbeit von Chueh und Mitarbeitern wurde hierfür modifiziert [Chueh 2007]. Nach diesem Protokoll wird es möglich, PDMS-Schichten von weniger als 10 μm Dicke herzustellen. Durch diesen Zwischenschritt lässt sich neben den dünnen Schichtdicken zudem der Einstrom von PDMS in den Mikrokanal verhindern.

Zunächst wurde Toluol (Sigma-Aldrich Chemie GmbH) zu dem bereits mit dem Vernetzer verührten aber ungehärteten PDMS im Verhältnis von 1:2 gegeben. Daran anschließend wurden beide Substanzen für 5 min auf einem Vortexer (MS2 Minishaker, Ika Works Inc.) bei 2800 U/ min gemischt. Dann wurden auf einen Glasträger vergleichbar den Abmessungen des Elektrodenglases ($22 \times 32 \text{ mm}^2$) zwei Tropfen des Gemisches gegeben und anschließend mit dem *Spin coater* (CPS20, Semitec GmbH) flächig aufgetragen. Dafür wurde der *Spin coater* für 15 s zunächst langsam mit 500 U/ min und dann für weitere 60 s mit 1500 U/ min gedreht. Das beschichtete Glas wurde kopfüber auf den bereits ausgehärteten PDMS-Glas-Kanal gelegt und ruhte dort für 5 min, bis die gesamte Kanaloberseite mit dem PDMS /Toluol-Gemisch benetzt war. Anschließend wurde das Glas entfernt und stattdessen das Glas mit den 3D-Elektroden aufgesetzt. Im darauf folgenden Schritt wurden Schläuche (Außendurchmesser: 1,6 mm und Innendurchmesser: $256 \mu\text{m}$) der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) aus Polytetrafluorethylen (PTFE, Gamma Analysetechnik GmbH), mit der Hilfe unvernetzten PDMS, als Eingang und Ausgang eingeklebt und der gesamte Chip bei $80 \text{ }^\circ\text{C}$ für 10 h ausgehärtet. Im Folgenden wird erläutert, mit Hilfe welcher Schritte die 3D-Mikroelektrodenstrukturen erzeugt wurden. Über eine chemische Vakuumabscheidung wurde zunächst eine Schicht aus 10 nm Chrom (Cr) als Haftvermittler und 70 nm Aluminium (Al) auf einem Elektrodenglas mit $550 \mu\text{m}$ Dicke aufgetragen. Das entstandene Elektrodenglas wurde mit Hilfe einer Excimerlaser-Mikrostrukturiereinheit (Lextra 100, Exitech/ Lambda Physics) lokal und photoablativ am Fraunhofer Institut für Biomedizinische Technik bearbeitet. Die eigentlichen 3D-Elektroden wurden am Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie in Göttingen über eine CVD-Prozedur direkt auf das Substrat geschrieben. Zunächst wurde ein Präkursor namens Dimethylethylaminalan (DMEAA) in eine Vakuumkammer verbracht gemeinsam mit dem strukturierten Mikroelektroden - Substrat. Der Dampfdruck von DMEAA von 1 mbar führt dazu, dass die Substanz in die Gasphase übergeht. Anschließend werden über die Fokussierung zweier Laser in einem Raumpunkt die Moleküle des Präkursors lokal soweit erhitzt, bis bei etwa $100 \text{ }^\circ\text{C}$ das DMEAA zerfällt in zwei flüchtige, stabile Gase und solides Aluminium, das auf der Oberfläche abgeschieden werden kann. Um die Struktur zu schreiben, wird das Substrat unter dem Fokuspunkt mit einer Durchschnittsgeschwindigkeit von bis zu $50 \mu\text{m/s}$ bewegt [Lehmann 1991, Lehmann 1995, Stuke 2005, Stuke 2007]. So lassen sich, einzig limitiert von der notwendigen Zugänglichkeit der beiden Laser, beliebige dreidimensionale Elektrodenstrukturen aus Aluminium schreiben (Abb. 3-4).

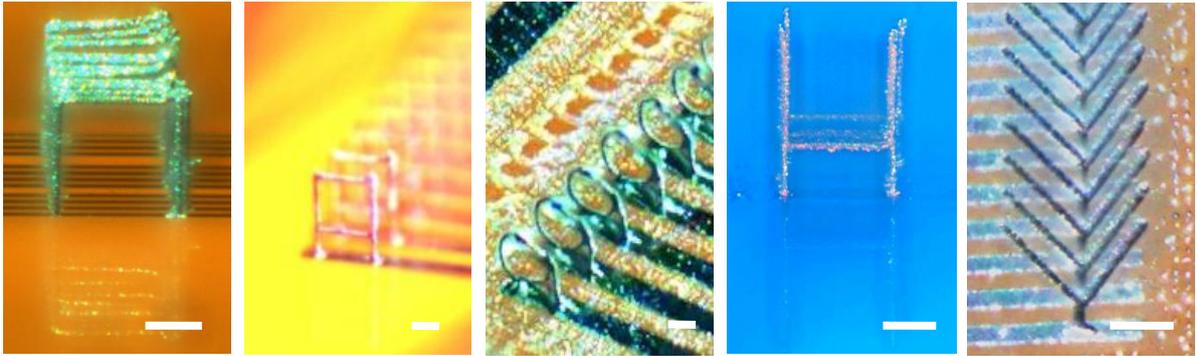


Abb. 3-4: Ein exemplarischer Auszug prozessierbarer 3D-Elektrodenstrukturen. Von links nach rechts: Tore auf planen Mikroelektroden (hier dunkel), Doppeltore, Ringe, H- und Y-Elektroden. Der weiße Balken entspricht 50 μm . Die Strukturen wurden am Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie in Göttingen in der Gruppe von Prof. Stuke hergestellt.

Die Abbildung 3-5 zeigt eine Konstruktionszeichnung der Mikrofluidikzelle, die für die Integration der 3D-Mikroelektroden verwendet wurde.

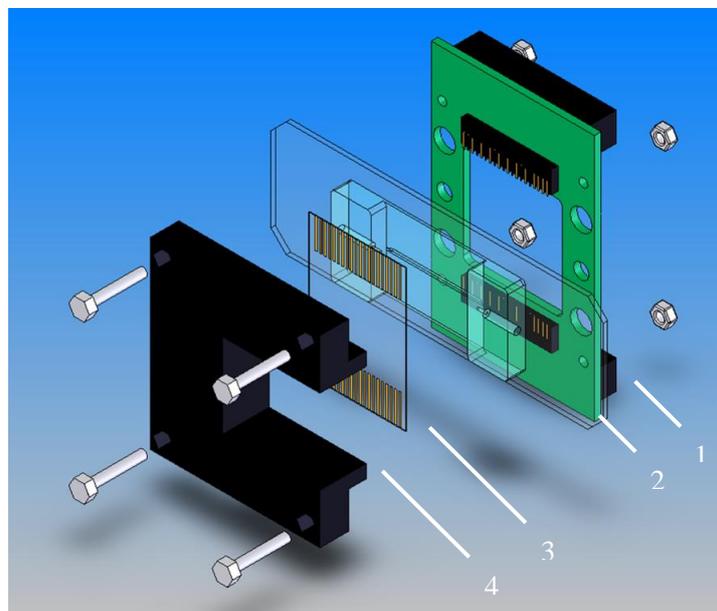


Abb. 3-5: Explosionszeichnung der Mikrofluidikzelle für 3D-Elektroden. Der Nummerierung nach sind folgende Bestandteile abgebildet 1) die Elektrodenplatine mit Federkontaktleisten, 2) der Objektträger mit dem abgegossenen PDMS-Kanal, 3) das Elektrodenglas mit den in den Kanal ragenden 3D-Mikroelektroden (Dicke 550 μm) und 4) zur Fixierung ein POM-Bauteil als Gegenstück für die Federkontaktleisten.

Die elektrische Kontaktierung wurde über die Platine (1) mit den Federkontaktleisten realisiert. Zur Stabilisierung des Kontaktes der vergoldeten Kontaktleisten und des Elektrodenglases wurde das Bauteil (4) mit Hilfe der Schrauben fixiert.

Aufbau *traveling wave*-Chip

Bei dem zusätzlich eingesetzten Mikrosystem handelt es sich um einen Glas-Polymer-Verbund. Der, anders als die Systeme zuvor, bereits verschlossen zur Anwendung bereit steht. Diese kommerziellen Chipsysteme werden von der Firma GeSiM hergestellt. Zunächst wurden die Elektrodenebenen mit einer CAD-Software (*AutoCAD*, Autodesk Inc.) entworfen und auf eine Cr-Maske übertragen. In einem Photolithographieprozess wurden mit Hilfe dieser Masken anschließend Metallmikroelektroden - 10 nm Titan als Haftvermittler und 200 nm Platin als Elektrodenmaterial - auf Glasträger übertragen. Bei den Gläsern handelt es sich zum einen um ein Dünnglas mit 170 μm Dicke. Diese Glasstärke bietet die Möglichkeit, Prozesse im Innern des Kanals, mit nahezu allen lichtmikroskopischen Methoden optisch aufgelöst zu verfolgen. Als zweites Glas wurde ein Dickglas verwendet, welches über Bohrungen auf der Oberseite, den mikrofluidischen Zugang ermöglicht.

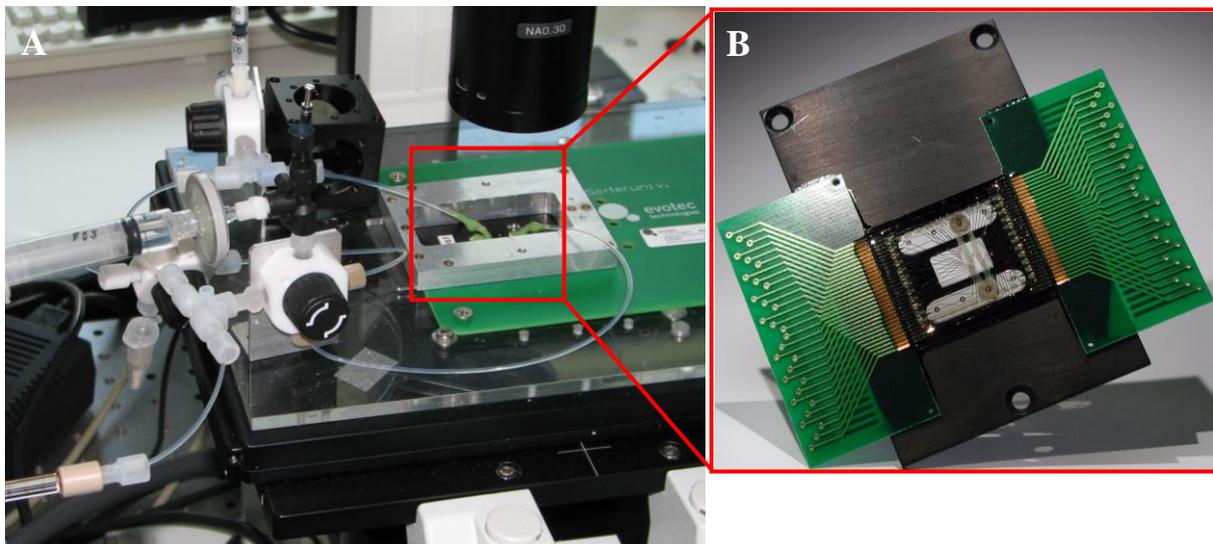


Abb. 3-6: Aufnahmen eines *traveling wave*-Chips A) integriert in einen Aufbau, bestehend aus peripherer Mikrofluidik (Spritzenpumpe, Spritzen, Schläuche und Ventile), einem System zur optischen Überwachung (Mikroskop, Kamera und Rechner) und der elektrischen Peripherie (Generator & Steuerrechner) und B) einzeln (GeSiM mbH).

Zur Verringerung elektrischer Verluste im Betrieb wurde zusätzlich jeweils eine 600 nm bis 1 μm dicke Siliziumnitridschicht (Si_3N_4), auch als Passivierung bezeichnet, über chemische Gasphasenabscheidung (CVD) aufgetragen. Die Schicht wurde anschließend lokal mit Hilfe einer weiteren Cr-Maske im Bereich des Kanals und an den Kontaktstellen an den Glasrändern geöffnet. Diese Prozedur wurde sowohl für das Dickglas als auch für das Dünnglas, dem späteren Kanalboden, verwendet. Die Kanalwände wurden über einen zusätzlichen lithographischen Schritt auf das Dickglas prozessiert. Eingesetzt wurde ein Photolack namens SU-8, über dessen

Dicke die spätere Kanalhöhe eingestellt werden kann. Die Höhe der Mikrofluidikzelle betrug bei den Versuchen circa 30 μm . Verschluss wurde das Kanalsystem mittels eines Klebers, der über ein Siebdruckverfahren aufgetragen wurde und einen leitfähigen Kleber, der an den Außenbereichen die Elektroden der Dünnglassseite mit den Kontaktflächen des Dickglases verbindet. Der gesamte Glas-Polymer-Verbund wurde auf einem Aluminiumträger fixiert und über zwei Platinen, die an den Seiten mit einer Leiterplatte verbunden sind, elektrisch gekoppelt (Abb. 3-6 B). Zur Kontaktierung der Leiterbahnen wurden die Mikroelektroden auf dem Dickglas mit Golddraht gebondet und zur mechanischen Stabilisierung der Bonddrähte mit Epoxydharz verklebt.

3.2 Betrieb fluidischer Mikrosysteme

Die fluidische Peripherie der unter Abschnitt 3.1 genannten Mikrosysteme setzt sich aus folgenden Bestandteilen zusammen: Für den druckgesteuerten Vortrieb der Partikelsuspensionen kam eine Spritzenpumpe (Pump 33, Harvard Apparatus) zum Einsatz. Ferner wurden gasdichte 25 μl und 50 μl Spritzen eingesetzt (ILS GmbH) sowohl für die Basisströmung als auch für die Injektion der Probe. Die Verbindungen zwischen den Spritzen, den eingesetzten Ventilen und den Mikrofluidiksystemen wurden über HPLC-Schläuche aus PTFE realisiert (256 μm Innendurchmesser, Gamma Analystechnik). In Abbildung 3-7 A sind schematisch die Verläufe der Mikrofluidik für die *MicCell* und die Mikrofluidik mit dem *traveling wave*-Chip (*TW*-Chip) abgebildet.

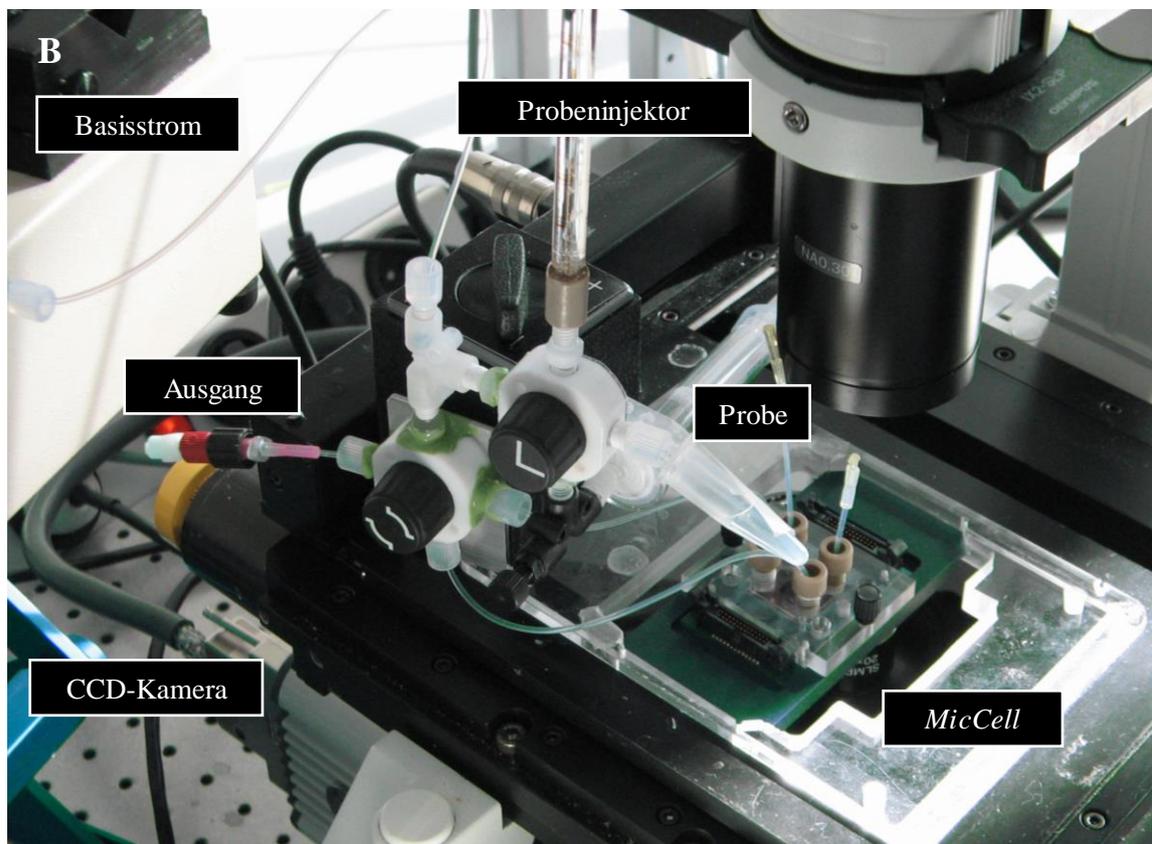
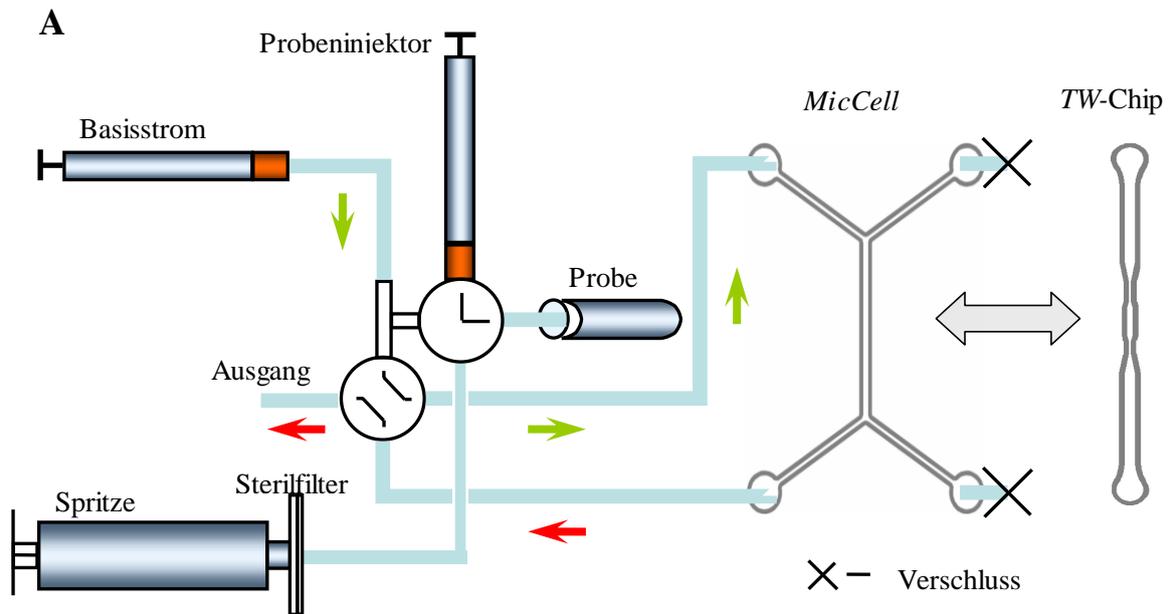


Abb. 3-7: Das Schema und ein Foto der peripheren Fluidik und einer *MicCell* im Verbund. Im Bild A) ist das fluidische Schema dargestellt, das für die Versuche verwendet wurde. Der graue Pfeil auf der rechten Seite macht die Austauschbarkeit der mikrofluidischen Bausteine deutlich. In Abbildung B) ist die *MicCell* mitsamt der fluidischen Peripherie auf dem elektromotorischen Mikroskoptisch eines IX-71-Mikroskops zu sehen. Im Bild ist die elektronische Peripherie ausgespart.

3.3 Betrieb der Mikroelektroden

Die Mikroelektroden in den Mikrosystemen wurden über einen 32-Kanal-Hochfrequenzsignalgenerator (Cytocon 400, Perkin Elmer) angesteuert. Dieser Generator ist in der Lage, an jedem einzelnen Kanal unabhängig voneinander Rechtecksignale von 0...25 V_{pp} Spannung und Frequenzen von 300 Hz...18 MHz zu realisieren. Ferner sind mit dem Gerät bis zu zwölf zueinander versetzte Phasen realisierbar. Angesteuert wurde der Generator über eine parallele Schnittstelle (LPT) von einem Rechner mit der Software *Switch* (Perkin Elmer). Für verschiedene Elektrodenstrukturen und Variationen lassen sich darin über eine grafische Oberfläche Schalterelemente definieren. Diese Software ermöglicht außerdem zeitlich variable Schaltzustände an verschiedenen Elektroden gleichzeitig zu realisieren bzw. über Schrittfolgen und Schleifen Makros auszuführen.

3.4 Bilderfassung und Bildverarbeitung

Die Aufnahme der Bildsequenzen erfolgte mit verschiedenen Mikroskopsystemen. Zum Einsatz kamen für Hellfeld- und Fluoreszenzaufnahmen sowohl ein Inversmikroskop (IX-71, Olympus Deutschland GmbH) wie auch ein Aufrechtmikroskop (BX-40, Olympus Deutschland GmbH) mit 5 x, 10 x, 20 x oder 50 x-*long distance*-Objektiven (SLMPlan, Olympus Deutschland GmbH). Ferner wurde für aufwendig zu lagernde Mikrosysteme und aus Gründen der besseren optischen Zugänglichkeit ein um alle drei Raumachsen drehbares Stereomikroskop (SZX-12, Olympus Deutschland GmbH) eingesetzt. Bei allen Mikroskopen wurde die digitale Erfassung der Bilddaten mit einer CCD-Kamera (Orca ER, Hamamatsu Photonics Deutschland GmbH) über einen C-Mount-Zugang gewährleistet. Für die Ansteuerung der Kamera wurde die herstellereigene Software *Simple-PCI* verwendet.

Die Informationsverarbeitung wurde für die Auswertung und Vermessung der Bilddaten in der Bildbearbeitungssoftware *Image-Pro* (Image-Pro Plus 4.0, Media Cybernetics) durchgeführt. Insbesondere die nachträgliche Verwertung der gesammelten Bilddaten wurde über eigens erstellte Makros ermöglicht. Die erhaltenen Daten wurden entweder in das Tabellenkalkulationsprogramm *Excel* (Microsoft Corp.) oder die Software *Origin* (OriginLab Corp.) übernommen und aufgearbeitet und die Ergebnisse anschließend grafisch dargestellt.

Im Folgenden ist schematisch dargestellt, welche Schritte eine Messung beinhaltete (Abb. 3-8).

Im oberen Teil der Abbildung ist exemplarisch das Verhalten einer Partikelsuspension mit 200 nm großen fluoreszierenden Partikeln in einer Salzlösung dargestellt. Gekennzeichnet ist die Anreicherung zunächst von einem Basisfluss, der von außen über eine Spritzenpumpe appliziert wird. Dann werden, die dunkel im ersten Bild der Abbildung zu erkennenden, vier linearen, den Kanal querenden und 10 μm breiten Mikroelektroden mit einem elektrischen Signal beaufschlagt, welches zur Ausbildung zweier elektrohydrodynamischer Wirbel direkt über den Elektroden führt. Diese Flüssigkeitsbewegung führt zu der Anreicherung von Partikeln über dem Elektrodenarray in der Mitte des Kanals (zweites Bild, Abb. 3-8). Nach dem Abschalten des elektrischen Feldes können sowohl die Partikel vor als auch die Partikel in der Filterstruktur ungehindert weiter transportiert werden.

Schritte der Anreicherung

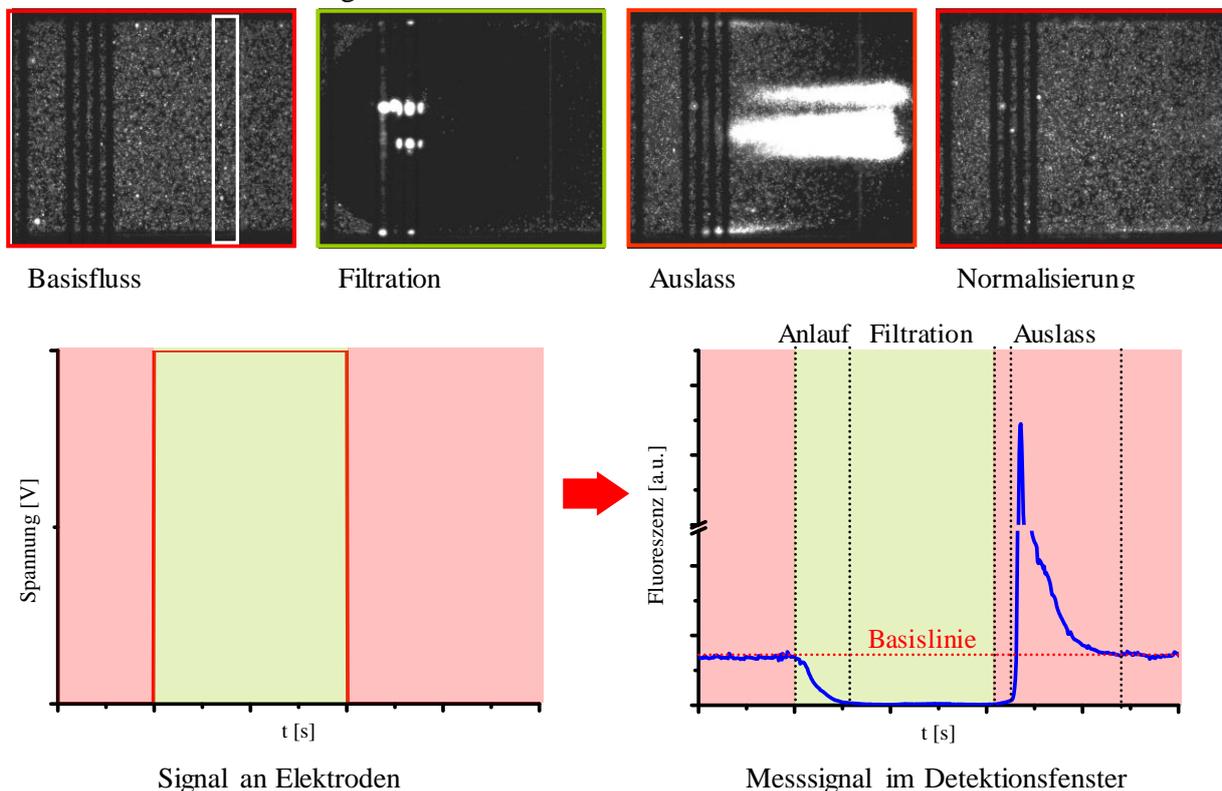


Abb. 3-8: Grafische und schematische Darstellung des Messsignals. Der obere Teil der Grafik zeigt die Reaktion einer Partikelsuspension im Mikrofluidikkanal. Das weiß umrandete Feld im ersten Bild steht für den Bereich, der für die Fluoreszenz ausgewertet wurde. Im unteren Teil, ist dargestellt wie sich das elektrische Signal auf das Fluoreszenzsignal auswirkt. Im rechten Bild sind neben den einzelnen Schritten eines charakteristischen Messsignals die dazugehörigen Reaktionen abgebildet.

Die Grafiken der Abbildung 3-9 stellen exemplarisch unterschiedliche Messsignale dar, die bei der optischen Vermessung detektiert werden konnten: als erstes das Messsignal, bei dem nur die Basislinie erfasst wird. Dies tritt bei reinen Durchläufen *ohne Filtration* auf, bei denen der Parti-

kelstrom homogen verteilt das Detektionsfenster durchquert. Dies entsteht bei abgeschalteten Elektrodenfeldern bzw. unzureichender Filtrationswirkung, ausgelöst durch ein zu niedriges Elektrodenpotential, das zu einer schwach ausgeprägten elektrohydrodynamischen Wirbelströmung führt.

Die untere Grafik zeigt ein *Überlaufen* der Akkumulations- bzw. Filtrationseinheit. Dabei überwinden zunächst wenige Partikel bis hin zu Partikelgruppen die EHD-Barriere. Ein solches Verhalten ist durch einen Anstieg (rote Pfeile) im Signalverlauf trotz eines aktiven elektrischen Feldes zu erkennen. Gerade der fortwährende Zustrom von Partikeln führt in herkömmlichen Filtrationseinheiten häufig zur Verstopfung der gesamten Einheit.

Die rechte der Grafiken zeigt einen nahezu idealen Verlauf für die elektrohydrodynamische Filtration. Das Signal sinkt, nach kurzer Verzögerung, mit dem Einschalten des elektrischen Feldes und tendiert kurz darauf gegen Null. Nach dem Abschalten des Feldes weist das Messsignal mit kurzer Verzögerung einen Spitzenwert auf, welcher sich rasch dem Verlauf vor der Feldeinwirkung angleicht. Diese Spitzenwerte entsprechen dem Entlassen einer zurückgehaltenen bzw. angesammelten Menge (Retentat) von Partikeln.

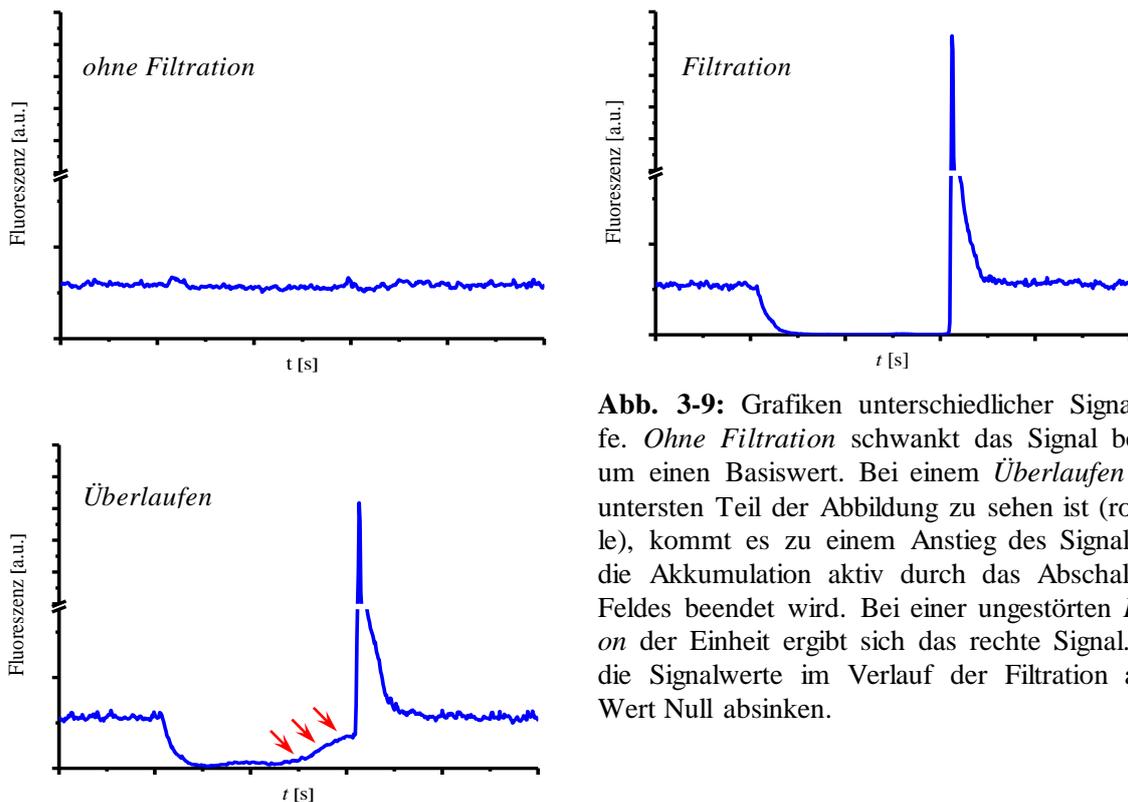


Abb. 3-9: Grafiken unterschiedlicher Signalverläufe. *Ohne Filtration* schwankt das Signal beständig um einen Basiswert. Bei einem *Überlaufen* wie im untersten Teil der Abbildung zu sehen ist (rote Pfeile), kommt es zu einem Anstieg des Signals bevor die Akkumulation aktiv durch das Abschalten des Feldes beendet wird. Bei einer ungestörten *Filtration* der Einheit ergibt sich das rechte Signal. Wobei die Signalwerte im Verlauf der Filtration auf den Wert Null absinken.

3.5 Probenaufbereitung

In diesem Abschnitt sind die bei den Untersuchungen zur EHD-Filtration verwendeten Schritte zur Probenaufbereitung aufgeführt, darunter die Fluoreszenzfärbungsschritte sowie die Herstellung der eingesetzten Lösungen.

Basislösung

Die in den Versuchen zum Einsatz gekommenen Basislösungen enthielten in Wasser gelöstes und 99,99%-ig reines Natriumchlorid (NaCl). Mit Hilfe einer Waage (Explorer, Ohaus Europe GmbH) wurde für das entsprechende Volumen Wasser das Salz eingewogen, je nach gewünschter Leitfähigkeit. Die elektrische Leitfähigkeit wurde mit Hilfe eines Konduktometers 703 (Knick Elektronische Messgeräte GmbH & Co KG) bei 25 °C ermittelt und überwacht. Zusätzlich wurde 0,5 % (w/v) des wasserlöslichen Polymers Polyvinylalkohol (PVA) zugesetzt, um die unerwünschte Aggregation zugesetzter Partikel zu verhindern [Gradl 2003].

Partikelsuspensionen

In den Basislösungen wurden entsprechend der gewünschten Endkonzentration gelb-grün fluoreszierende Nanometerpartikel (Fluoresbrite, Polyscience Europe GmbH) mit einem Durchmesser von 200 nm suspendiert. Für die Versuche wurden Suspensionen mit $3 \cdot 10^{10}$ p/ml, $3 \cdot 10^9$ p/ml, $3 \cdot 10^8$ p/ml, $3 \cdot 10^7$ p/ml und $3 \cdot 10^6$ p/ml Partikelgehalt angefertigt. Die Partikel emittieren Licht bei einer Wellenlänge von 500 nm bei vorheriger Anregung mit Licht einer Wellenlänge von 445 nm. Für weitere Partikelsuspension wurden unter anderem 2 µm und 6 µm große Polystyren-Partikel (PS) mit und ohne Fluoreszenzfarbstoff verwendet (Polyscience Europe GmbH).

Bacillus thuringiensis

Der Stamm *Bacillus thuringiensis* (DSM # 5724, DSMZ - Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen) wurde auf Agar (Nummer 1, DSMZ) bei 30 °C kultiviert. Dieser besteht aus 5 g Pepton, 3 g Fleischextrakt, 15 g Agar auf 1 l veH_2O . Zur Kultivierung wurde der pH-Wert auf 7 eingestellt. Zur Verwendung in der Mikrofluidik wurden die Zellen in gewünsch-

ter Konzentration in der Basislösung aufgenommen.

Staphylococcus warneri

Der grampositive Bakterienstamm *Staphylococcus warneri* (DSM # 20316, DSMZ) wurde bei 37 °C anaerob in einer 5 ml Schüttelkultur über Nacht und bei einem pH-Wert von etwa 6,2 inkubiert. Das verwendete Medium entspricht in seiner Zusammensetzung dem Medium Nummer 11 der DSMZ (mit 10 g Caseinpepton, 10 g Fleischextrakt, 5 g Hefeextrakt, 20 g Glukose, 1 g Tween 80, 2 g Dikaliumhydrogenphosphat (K_2HPO_4), 5 g Natriumacetat, 2 g $(NH_4)_2$ citrat, 0,2 g hydratisiertes Magnesiumsulfat ($MgSO_4 \times 7 H_2O$) und 0,05 g hydratisiertes Mangan(II)-sulfat ($MnSO_4 \times H_2O$) auf 1 l veH_2O). Die Menge von 10 μ l Kulturlösung wurde in eine neue Schüttelkultur überführt, bis zum Eintritt der Kultur in die logarithmische Wachstumsphase (optische Dichte bei 600 nm 0,4 - 0,6). Ein Volumen von 1 ml Kultursuspension wurde anschließend bei 2000 g für die Dauer von 5 min zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und durch eine identische Menge phosphatgepufferter Salzlösung (1 x PBS Dulbecco, AppliChem GmbH) ersetzt.

Zur Färbung wurden 340 μ l der Bakteriensuspension mit 40 μ l des Farbstoffs (10 x) Epicoccocnone (FuoroProfile Kit, Sigma Aldrich Biochemie GmbH) im Dunkeln bei 37 °C und unter Schütteln für die Dauer von 20 min inkubiert. Die Anregung des Farbstoffs erfolgte bei 490 nm Wellenlänge und die Emission wurde bei 610 nm detektiert.

Influenza A (X31, H3N2)

Bei den Viren handelt es sich um etwa 100 nm große *Influenza A*-Viren (X31, H3N2, HU Berlin) mit einer Ausgangskonzentration von $7 \cdot 10^{11}$ p/ml. Diese Virensuspension mit 1 ml Volumen wurde abgedunkelt mit 10 μ l einer 10 μ M R18-Lösung (Octadecyl Rhodamin B, Molecular Probes Inc.) für 20 min bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend daran wurde die Suspension 5 min lang bei 25000 U/min und 4 °C abzentrifugiert (Centrifuge 5415 R, Eppendorf AG). Der Überstand wurde durch Salzlösung ersetzt. Daran anschließend wurde die gesamte Lösung mit einem sterilen Spritzenfilter mit 0,22 μ m Porendurchmesser (Cellulose / Acetat, VWR International) filtriert und auf Eis gekühlt. Anschließend wurde die Lösung durch die Zugabe von Salzlösung auf den gewünschten Partikelgehalt eingestellt.

3.6 Fluorothermometrie

Nachfolgend werden neben dem theoretischen Hintergrund die für die Fluorothermometriemessung notwendigen Arbeitsschritte erläutert. Hierfür werden zunächst die Herstellung der Farbstofflösung und die Prozedur zur Kalibrierung vorgestellt. Ferner werden die Parameter und allgemein die Bildaufnahme erläutert, und es wird dargestellt, mit Hilfe welcher Abfolge von Bildmanipulationen das Endergebnis erzeugt wurde.

Theoretischer Hintergrund

Die Messung der Temperatur in Mikrosystemen erfordert neue Ansätze, um eine mikrometergenaue örtliche Auflösung realisieren zu können. Bisherige Systeme, wie optische Infrarotkamerateamsysteme, haben ihre optische Auflösungsgrenze bei mehreren Mikrometern (Beispiel 35 μm , Compact Pyroview 380L mit Makroobjektiv). Speziell bei der Verwendung elektrischer Felder in physiologischen Medien erfordert das Auftreten lokaler Erwärmungen an den Mikroelektroden geeignete Methoden, um diese einer näheren Untersuchung unterziehen zu können [Guijt 2003, Graham 2010]. Ein Beispiel für eine Messmethode, die zur Bestimmung der Temperatur in Mikrosystemen dient, liefern Jaeger *et al.* [Jaeger 2007]. Die Methode der Wahl ist hier die Fluorothermometrie, die einen gelösten Fluoreszenzfarbstoff nutzt, um lokale thermische Änderungen optisch zu erfassen.

Prinzipiell verändert sich unter Wärmezufuhr die Quantenausbeute eines gelösten Farbstoffs. Die aus der Temperaturzunahme resultierende gesteigerte *Brownsche* Bewegung führt zu einer Vergrößerung der Zahl von Kollisionen gelöster Farbstoffmoleküle. Dabei kommt es auch zu einer strahlungslosen Abregung der angeregten Farbstoffmoleküle. Die Temperaturabhängigkeit der Fluoreszenzintensität kann als logarithmisch betrachtet werden.

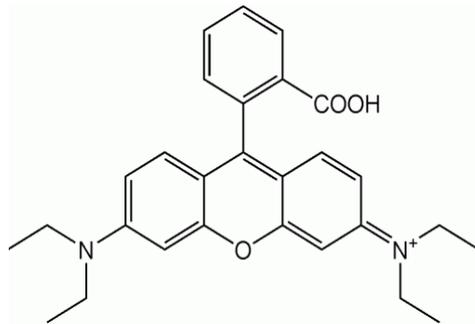


Abb. 3-10: Strukturformel von Rhodamin B. Die Wellenlänge der Fluoreszenzanregung liegt bei 560 nm und die der Emission bei 584 nm.

Kennt man die bei verschiedenen Temperaturen ermittelten Intensitätsausbeuten, lässt sich daraus für diesen speziellen Farbstoff die resultierende Änderung der Temperatur ermitteln sofern man die Konzentration und die experimentellen Bedingungen als konstant annimmt. Als geeigneter Fluoreszenzfarbstoff hat sich bei verschiedenen Versuchen von Jaeger der Farbstoff Rhodamin B ergeben [Jaeger 2005, Jager 2007]. Die Strukturformel ist in Abbildung 3-10 wiedergegeben. Nach diesen Versuchen ergibt sich folgende Abhängigkeit für die Strahlungsintensität des Farbstoffs von der Änderung der Temperatur.

$$\Delta T = T_1 - T_0 = \frac{1}{m} \ln \frac{I_0}{I_1} \quad 3-1$$

Dabei steht ΔT für die resultierende Änderung der Temperatur aufgrund eines messbaren Intensitätsunterschiedes im Emissionssignal des Farbstoffes. Der Logarithmus des Quotienten aus der Intensität I_0 bei einer Ausgangstemperatur zur Intensität I_1 bei veränderten Temperaturbedingungen ist proportional zur Änderung der Temperatur. Ferner spielt ein für jeden Farbstoff spezifischer Faktor m^{-1} eine Rolle und muss vor der Fluoreszenzmessung für die verwendete Farbstoffkonzentration messtechnisch ermittelt werden.

Herstellung der Farbstofflösung und Kalibrierung

Für die Farbstofflösung wurden 50 mM Rhodamin B (Rhodamin B, Sigma Aldrich Biochemie GmbH) zunächst in einer NaCl-Lösung mit 300 mS / m elektrischer Leitfähigkeit und einem Zusatz von 0,5% (w / v) PVA aufgenommen. Anschließend wurde diese Lösung verdünnt bis zu einer Endkonzentration von 50 μ M Rhodamin B. Die Kalibrierung der Farbstofflösung wurde an einem Fluoreszenzspektrometer (LS55, Perkin Elmer) mit einer über ein Wasserbad (Wasserbad) beheizbaren Quarzglasküvette durchgeführt.

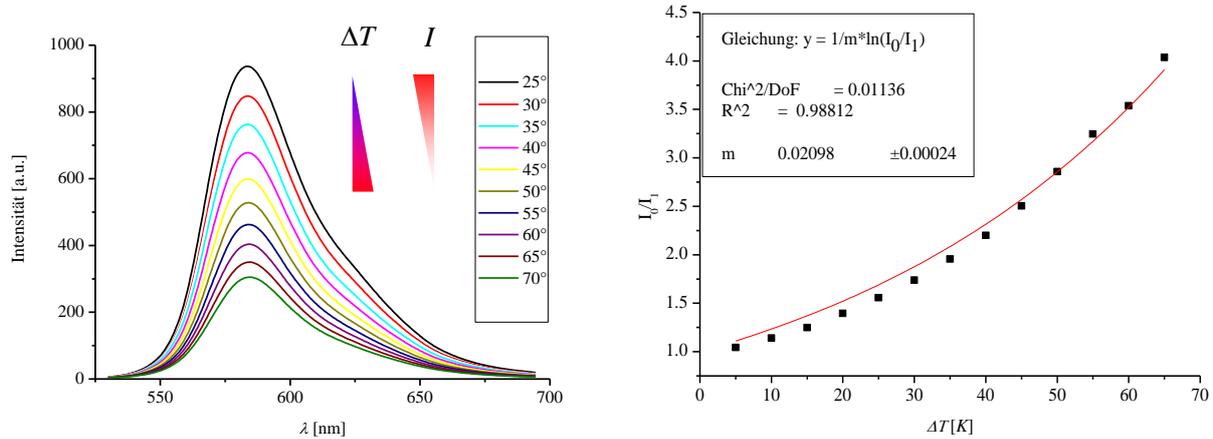


Abb. 3-11: Emissionsspektren von gelöstem und bei 560 nm Wellenlänge angeregtem Rhodamin B bei verschiedenen Temperaturen. Anschließend werden die Intensitätswerte einer Wellenlänge aus den Spektren entnommen und mit der oben angeführten Formel 3-1 angefitet. Daraus ergibt sich der stoffspezifische Faktor m^{-1} für Rhodamin B, mit dem der Wert eines jeden Bildpunktes multipliziert wird, um ortsaufgelöst die Änderung der Temperatur zu ermitteln.

Bilderfassung der Thermometriedaten

Die Aufnahmen der Fluorothermometrie wurden an einem konfokalen Laser-Raster-Mikroskop (CLSM LSM510 Meta, Zeiss AG) aufgezeichnet. Die Farbstofflösung wurde über einen Spritzenfilter mit 0,22 μm Porengröße (Cellulose / Acetat, VWR International) in das System gespült. Anschließend ruhte das System zur Äquilibration bei 25 °C Raumtemperatur für die Dauer von 2 min. Die elektrische Anregung erfolgte ebenfalls für die Dauer von jeweils 2 min, danach wurde eine Aufnahme in Form eines xz-Schnittes angefertigt. Ein Schnittbild wurde gewählt, weil bei einer Pixelzeit von durchschnittlich 1,6 μs die Aufnahmezeit für den gesamten Schnitt auf 0,2 s reduziert werden konnte. Somit sind schnell alle Änderungen erfassbar. Es wurden jeweils nur vier Elektroden des Elektrodenfeldes angesteuert. Da es sich bei diesem CLSM-System um ein inverses Mikroskop handelte, wurden Mikrosysteme genutzt, deren Mikroelektroden sich an der Decke des Kanals befanden (TW-Chip). Mikroelektroden am Boden verfälschten das Resultat, weil der Bereich unmittelbar über den Elektroden und daran angrenzende Bereiche nur ungenügend ausgeleuchtet werden konnten. Eine schematische Darstellung zum Auslesen der Fluoreszenz und damit der Temperatur am CLSM ist in Abbildung 3-12 zu sehen.

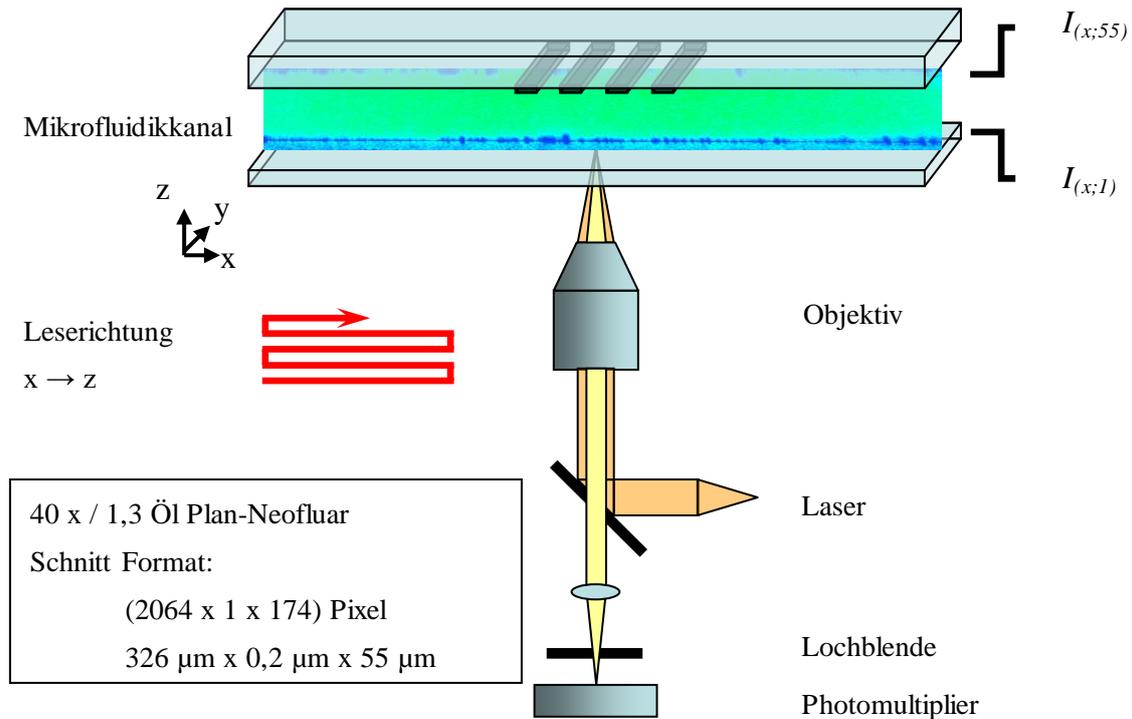


Abb. 3-12: Schematische Abbildung der Fluorothermometrie mit Hilfe des CLSM. Für die Aufnahmen wurde ein 40 x vergrößerndes Ölimmersionsobjektiv verwendet. Für die Fluoreszenzanregung wurden die folgenden Einstellungen benutzt. Angeregt wurde mit einer Wellenlänge von 543 nm bei 40% der maximal möglichen Ausgangsleistung. Das emittierte Licht wurde über einen Strahlteiler mit 543 nm und über einen Langpass, der ab einer Wellenlänge von 505 nm geöffnet ist, geleitet. Die Lochblende des CLSM wurde auf 73 μm eingestellt.

In der Abbildung ist ein Schnitt durch den Mikrokanal zu erkennen, in dessen Mitte mit Hilfe der Mikroskopieeinrichtung das Intensitätssignal für jeden Punkt des durch das konfokale Volumen definierten Bereiches ausgelesen wurde.

Bildverarbeitung der Thermometriedaten

Alle Bildbearbeitungsschritte wurden mit der Software *Image Pro* durchgeführt. Die Bilder des ruhenden Systems vor der Zuführung der elektrischen Energie und während ihrer Zuführung wurden zunächst von Grauwertbildern mit 8 bit Farbtiefe in Bilder im Fließkomma-Format konvertiert. Daran anschließend wurden die Intensitätswerte beider Bilder entsprechend der Formel 3-1 miteinander ins Verhältnis gesetzt. Die Bildpunkte bzw. die Grauwerte des resultierenden Bildes wurden logarithmiert und mit dem aus der Kalibrierung der Fluoreszenzintensitäten ermittelten Faktor für Rhodamin B multipliziert. Daraus ergeben sich Bilder, deren Grauwerte die lokalen Änderungen der Temperatur in dem aufgenommenen Schnitt wiedergeben. Um die Veränderungen noch deutlicher hervorzuheben, wurden die Grauwertbilder anschließend in Falsch-

farben-Bilder umgewandelt. Der gesamte Umformungs- und Manipulationsablauf ist in Abbildung 3-13 schematisch wiedergegeben.

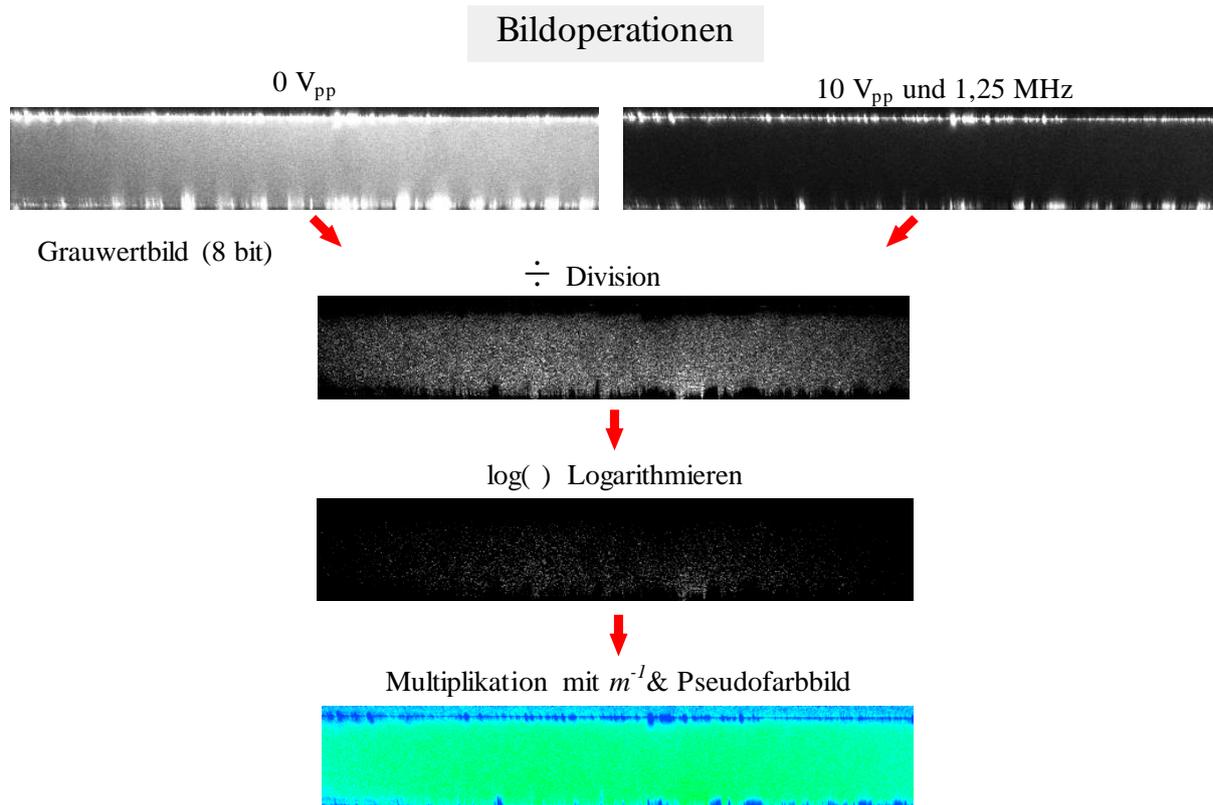


Abb. 3-13: Schematische Darstellung der Bildmanipulationen. Beide Grauwertbilder werden zunächst in Fließkommabilder konvertiert und dividiert. Das Ergebnis wird entsprechend der Formel 3-1 logarithmiert und mit dem aus der Kalibrierung gewonnenen Faktor m^{-1} multipliziert. Zum besseren Verständnis wird aus dem Ergebnis ein Falschfarbenbild erzeugt. Es wurde eine Farbtabelle mit einem Verlauf von blau - niedrigen Werten - nach rot - hohen Werten - gewählt.

3.7 Numerische Modellierungen mit Finiten-Elementen

Zur numerischen Modellierung des elektrischen, thermischen und strömungstechnischen Verhaltens eines Mikrosystems mit Mikroelektroden kam die FEM-Software *Comsol Multiphysics* (Comsol 3.2, Comsol Multiphysics) zum Einsatz. Es wurde ein zuvor entwickelter Algorithmus verwendet [Stein 2008]. Eingesetzt wurden drei Pakete der Software. Die Ergebnisse der Einzelpakete wurden mit der mathematischen Software *Matlab* (Matlab 7.0, Mathworks) verarbeitet und anschließend entsprechend den Anforderungen der Modellierungssoftware umgeformt. Diese Daten wurden an das nächste Paket übergeben und als Ausgangswerte für die anschließende Berechnung verwendet. Der Vorgang wurde für das Ergebnis wiederholt, um resultierend die elektrisch induzierte Bewegung der Flüssigkeit im System abzubilden.

Mit Hilfe des Paketes *Electrostatics Generalized* wurde zunächst das elektrische Verhalten des Systems quasi-statisch abgebildet. Dazu wurden die strukturellen und intrinsischen Kenndaten in die Software übertragen. Hierbei wurden als strukturelle Daten die Dimensionen der Kanalstruktur übernommen und die stofflichen Kenndaten entsprechen Literaturwerten, die in Tabelle 3-2 zusammengefasst sind. An den modellierten Mikroelektroden wurde ein Sinussignal angenommen, dessen maximaler Potentialwert zwischen den benachbarten Elektroden jeweils um einen, entsprechend der Ansteuerung, definierten Phasenwinkel verschoben wurde. Die Periode eines dieser Signaldurchläufe, und damit das elektrische Feld, wurden in zeitdiskrete Werte zerlegt und anschließend mit Hilfe der Software *Matlab* über die Trapezregel gemittelt. Die ermittelte Matrize wurde in die Modellierungssoftware eingelesen und für das nächste Paket *General Heat Transfer* bereitgestellt. Daraus ließ sich mit den weiteren Kenndaten aus Tabelle 3-2 das thermische Verhalten unserer Mikrofluidik modellieren.

Tab. 3-2: Intrinsische Kenndaten für die FEM-Modellierung

| Material | | Kennwerte | Kennzahl |
|------------------|---|----------------------------|--|
| PDMS | allgemein | Dichte | $0,97 \text{ kg} / \text{m}^3$ |
| | elektrisch | relative Permittivität | 2 |
| | | elektrische Leitfähigkeit | $25 \cdot 10^{-15} \text{ S} / \text{m}$ |
| | thermisch | spezifische Wärmekapazität | $1460 \text{ J} / \text{kg} \cdot \text{K}$ |
| | | thermische Leitfähigkeit | $0,15 \text{ W} / \text{m} \cdot \text{K}$ |
| | Glas | allgemein | Dichte |
| elektrisch | | relative Permittivität | 6 |
| | | elektrische Leitfähigkeit | $2,5 \cdot 10^{-5} \text{ S} / \text{m}$ |
| thermisch | | spezifische Wärmekapazität | $750 \text{ J} / \text{kg} \cdot \text{K}$ |
| | | thermische Leitfähigkeit | $1,14 \text{ W} / \text{m} \cdot \text{K}$ |
| NaCl-Lsg. | | allgemein | Dichte (von H_2O) |
| | dynamische Viskosität (von H_2O) | | $1,08 \cdot 10^{-3} \text{ Pa} \cdot \text{s}$ |
| | elektrisch | relative Permittivität | 80 |
| | | elektrische Leitfähigkeit | $(0,3; 0,6; 0,9) \text{ S} / \text{m}$ |
| | thermisch | spezifische Wärmekapazität | $4184 \text{ J} / \text{kg} \cdot \text{K}$ |
| | | thermische Leitfähigkeit | $0,598 \text{ W} / \text{m} \cdot \text{K}$ |

Werte entnommen aus Lide [Lide 2007] sowie Livermore und Voldman [Livermore 2004]

Diese Ergebnisse wurden anschließend erneut bearbeitet, um die aus dem elektrischen Feld und dem thermischen Verhalten resultierende Volumenkraft zu ermitteln, und an das letzte Paket

Microfluidics (Incompressible Navier-Stokes) übergeben. Für die numerische Verarbeitung der Eingaben wurde ein Rechner mit einer AMD-Zweikern-CPU (AMD 64 FX-62) und 3 GB RAM eingesetzt. Eine gesteigerte Rechnerkapazität und damit ein feineres Netz für die FEM-Simulationen konnte mit einem AMD-Vierkern-Rechner (AMD Phenom X4 965) mit 8 GB Arbeitsspeicher erzielt werden.

Dargestellt sind in der Abbildung 3-14 das verwendete strukturelle Design des Kanals und die für die Berechnung genutzte Netzstruktur. Für die obere Kanalbegrenzung durch das PDMS ist in der Abbildung nur ein kleiner Abschnitt dargestellt.

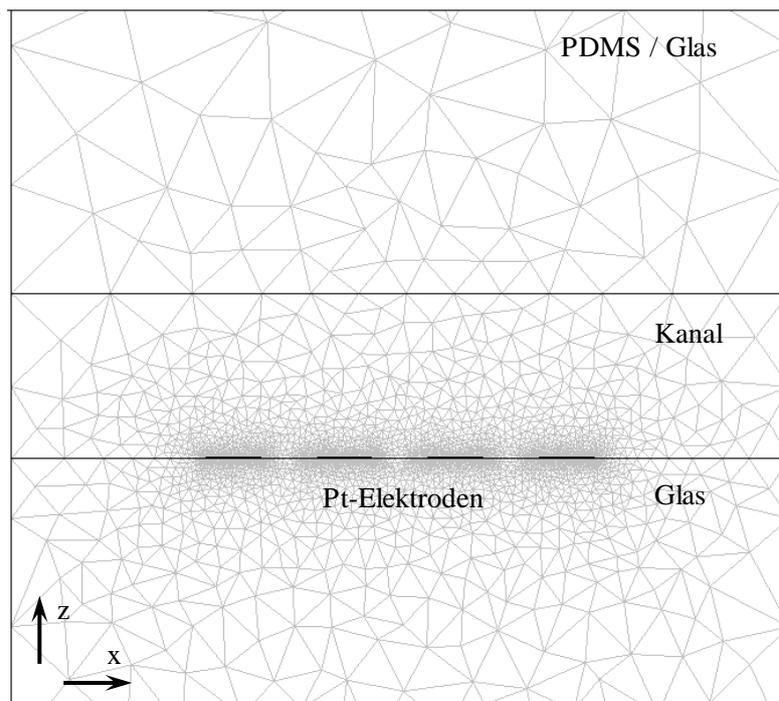


Abb. 3-14: Typische Netzdomain für die numerische Simulation eines zweidimensionalen Falles für das elektrische Feld oder die Temperatur. 2D-Ansicht des Mikrokanals mit Dünnglas an der Unterseite und PDMS auf der oberen Seite. Dazwischen der Kanal mit den vier Einzelelektroden.

4 Ergebnisse und Diskussion

Die im Rahmen dieser Arbeit erfolgreich entwickelte EHD-Filtration pathogener Keime und Viren wäre ohne ein geeignetes Mikrosystem nicht möglich gewesen. Dieses System wird daher zunächst eingehend erläutert.

Bei den in diesen LOC-Systemen filtrierten Flüssigkeiten handelte es sich um Suspensionen von Influenza-Viren, Bakterien oder 200 nm große artifizielle Modellpartikel in Kulturmedium oder anderen elektrisch hochleitfähigen Lösungen. Diese Trägerflüssigkeiten sind aus physikalischen Gründen in elektrischen Mikrosystemen nur schwer zu handhaben und werden daher häufig durch einfachere - im Extremfall Wasser - ersetzt. Dies geht klar zu Lasten der medizinischen Relevanz. Aus diesem Grund wurde hier auf die Verwendung physiologischer Flüssigkeiten Wert gelegt. Anhand dieser Proben wurden die für das Filterresultat der neuen Methode maßgeblichen Parameter identifiziert. Die Quantifizierung der Filterwirkung erfolgte optisch: Ein Bildverarbeitungsalgorithmus ermöglichte die Bewertung der Filterwirkung unter Variation einzelner Parameter, wie der Spannung, der Leitfähigkeit, der Phasenlage und des Partikelgehalts.

Parallel zu den experimentellen Arbeiten, zur Effizienz des EHD-Filters, wurden die gewonnenen Resultate mit numerischen Simulationen des Fraunhofer-Institut ITWM verglichen. Mittels der FEM-Software *Comsol Multiphysics* wurde in unserem Haus die Temperaturentwicklung in der Flüssigkeit untersucht. Zum Vergleich wurde die Temperatur in der Filtereinheit mikroskopisch gemessen.

Am Ende dieses Kapitels werden weitere Einsatzmöglichkeiten der hier entwickelten Methode diskutiert - neben der elektrischen Filtration etwa die Labordiagnostik.

4.1 Durchflußzelle mit integrierten Mikroelektroden zur Filtration

Unter Verwendung von Komponenten der Firma GeSiM wurde eine Mikrofluidikzelle mit Elektrodenröhrchen und einem Kontaktierungsmechanismus entwickelt.

Auf Dünnglassträgern wurden 10 µm breite Elektroden erzeugt. Dabei wurden jeweils Gruppen von vier Elektroden nebeneinander verwendet, weil gegeneinander um 90°-phasenverschobene Wechselspannungen besonders einfach erzeugt werden können [Felten 2006]. Vorangegangene numerische Simulationen deuteten darauf hin, dass die hier für die Filtration genutzten Flüssigkeitswirbel an den Grenzen der Elektrodenfelder auftreten [Stein 2008]. Diesem Umstand wurde mit der Einteilung der Elektroden in mehrere kleine Viererpakete, und damit der Erhöhung der Zahl der Ränder, Rechnung getragen. Dies steht im Gegensatz zur Verwendung von EHD-Elektroden zum Zweck des Pumpens, bei dem üblicherweise mehr Elektroden, meist zwölf, hintereinander folgen. Die Gestalt der Elektrodenpakete wurde zusätzlich durch elektrisch isolierende Streifen aus Siliziumnitrid modifiziert oder das Design der Elektroden selbst verändert. Sämtliche dieser Maßnahmen dienten der Erhöhung der Anzahl der über den Elektrodenfeldern auftretenden Wirbel. Die entwickelte Durchflußzelle ermöglicht nach dem Kontaktieren der Mikroelektroden mit Federkontakten die Ansteuerung von vierzig Elektroden (4.1). Limitiert wird die Zahl zugleich aktiver Elektroden durch die 32 separat ansteuerbaren Ausgänge des verwendeten Hochfrequenzgenerators.

In der Abbildung 4-1 A ist die unterseitige Ansicht der Durchflußzelle zu sehen. Die Elektroden wurden, wie in Bild B zu sehen, in Paketen oder Feldern unterschiedlicher Länge zusammengefasst. Dies meint die Gesamtheit aus Elektroden und Elektrodenzwischenräumen.

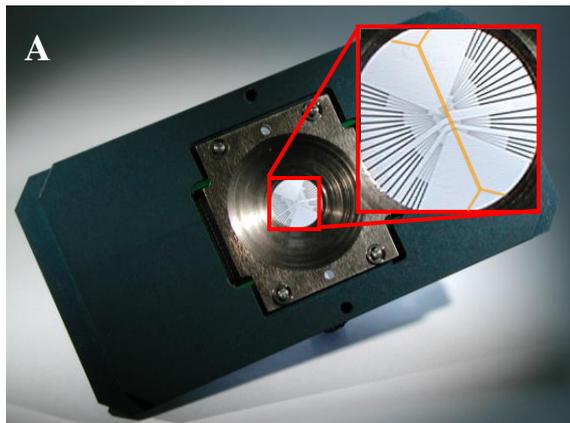
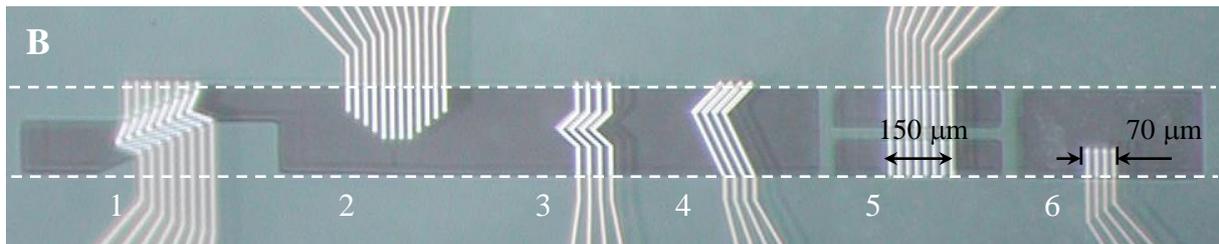


Abb. 4-1: A) Die Durchflußzelle (Basisplatte 5 cm x 10 cm). Die vergrößerte Ansicht des Bildausschnitts (roter Kasten) zeigt die Kalottenplatte für den optischen Zugang des Objektivs, die Zuleitungen der Mikroelektroden und den 300 µm breiten Hauptkanal (orange). In B) sind Varianten planer Mikroelektroden in Paketen zu vier, acht und zwölf Einzelelektroden abgebildet. Die Felder wurden variiert von Rechtecken (6), Pfeilformen (1, 3, 4) und Bögen (2) bis hin zu durch elektrische Isolierung unterteilten Elektrodenfeldern (5). Die Elektrodenbreite beträgt jeweils 10 µm. Die Elektroden (weiß) bestehen aus 200 nm Platin und 10 nm Titan. Dunkelblau sind die Bereiche, in denen

die Elektroden offen liegen, und hellblau die Bereiche mit der circa 600 nm dicken Passivierungsschicht aus Siliziumnitrid abgebildet.



Die Kanalwände verlaufen nach dem Zusammenfügen entlang der Öffnung in der Si_3N_4 -Passivierungsschicht (weiß gestrichelte Linien, Abb. 4-1 B). Für jeden Versuch wurden die Mikroelektroden auf dem Dünnglas (170 µm) über einen Federkontaktmechanismus mit den Ausgängen des Generators verbunden. In Abbildung 4-2 ist eine Seitenansicht der mit dem Dünnglas verbundenen Zelle aus PDMS abgebildet (linkes Bild).

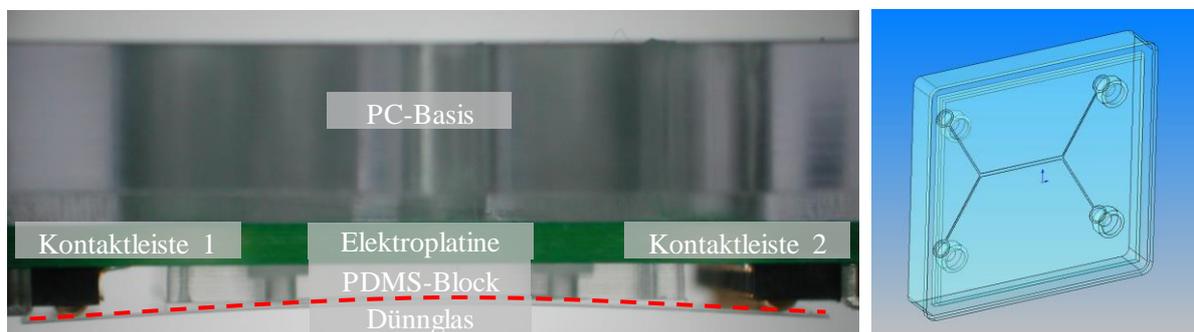


Abb. 4-2: Die Durchflußzelle in Seitenansicht (links) und Mikrokanal am Boden des PDMS-Blocks (rechts). Links: Von oben beginnend sind der PC-Träger, in grün die Elektroplatine mit den jeweils links und rechts stehenden Federkontaktleisten, in der Mitte der gegessene PDMS-Block einschließlich der Zugänge (siehe Bild rechts) und als Abschluss das Elektrodenglas (rot gestrichelt) dargestellt. Das Dünnglas ermöglicht über die metallisierten und freiliegenden Oberflächen den elektrischen Kontakt.

Die Abbildung oben veranschaulicht die Kontaktierung der Mikroelektroden auf dem Dünnglas: Beim Zusammenbau wurde zunächst der Kontakt zu den Federleisten und erst danach durch An-

pressen die Verbindung zum Kanalsystem hergestellt. Die Aufnahme macht ferner die mechanische Spannung deutlich, die auf das Elektrodenglas beim Kontakt wirkt (Biegung der rot gestrichelten Linie, Abb. 4-2). Daher wurde mit Hilfe einer Aktivierung mit kaltem O₂-Plasma und durch das Einspannen der Zelle in die Vorrichtung (Abb. 4-1) die Dichtheit des Mikrokanals gewährleistet. Nur die Oberfläche des Dünnglases wurde über das Plasma aktiviert, was zu einer Reinigung und zur Bildung reaktiver Gruppen führt und das Glas besser an den frisch ausgehärteten PDMS-Block binden läßt. Außerdem läßt sich bei dieser Vorgehensweise das Dünnglas unbeschadet entfernen und damit mehrfach einsetzen. Die Plasma-Aktivierung beider Seiten (PDMS und Dünnglas) hatte zwar eine dichte Verbindung zur Folge, führte jedoch beim Versuch, beide zu trennen, zu Beschädigungen des Glases. Basierend auf den bisherigen Erkenntnissen zum EHD-Pumpen von Flüssigkeiten wurde eine Kanalhöhe von 25 µm bis 30 µm verwendet. Zum einen klingt das für den EHD-Mechanismus verantwortliche elektrische Feld in z-Richtung rasch ab, und in größeren Kanälen nimmt der Einfluss makroskopischer Störungen der EHD-Strömung zu. Daneben skaliert die lokale Strömungsgeschwindigkeit, die für die Wirbelpaare und damit die Filtration verantwortlich ist, mit der Feldstärke. Wodurch der Einzugsbereich für die Anreicherung limitiert ist. In der hier vorgestellten Durchflußzelle aus PDMS sind die Mikroelektroden auf den unteren Teil des Kanals beschränkt. Dies ist in dem im späteren Kapitel 4.6 besprochenen System anders; es gestattet Elektroden beiderseits des Mikrokanals.

Nach der Präsentation der verwendeten Durchflußzelle werden nun die mit dieser hinsichtlich der Filtration von Probensuspensionen aus Viren und Bakterien erzielten Ergebnisse erläutert.

4.2 EHD-Filtration biologischer Proben

Dieser Abschnitt behandelt die Resultate der Filtration physiologischer Proben in dem elektrischen Filter, um die Einsatzmöglichkeiten und Leistungsfähigkeit der EHD-Filter bei biologischen Fragestellungen zu verdeutlichen. Zu diesem Zweck wurden beispielhaft mit Viren oder Bakterien belastete Proben untersucht: *Influenza A*, *Staphylococcus warneri* und *Bacillus thuringiensis*.

Influenza A (X31, H3N2)

Zur EHD-Filtration von Viruspartikeln eines Influenza-Stamms (*Influenza A*, Stamm X31) wur-

den die mittels UV-Strahlung inaktivierten, etwa 100 nm großen Partikel zunächst fluoreszenzgefärbt und anschließend 50 μl Suspension über den Injektionsmechanismus (Abb. 3-7 B) des peripheren fluidischen Systems in den Mikrokanal gespült. Die als Trägermedium dienende NaCl-Lösung wies physiologischen Medien entsprechende elektrische Eigenschaften auf (300 mS / m).

Nachdem sich ein konstanter Partikelstrom eingestellt hatte, wurden die Mikroelektroden mit einem elektrischen Signal von 1,25 MHz beaufschlagt. Zur Aktivierung wurde jeweils ein Rechtecksignal an den vier Elektroden angelegt, wobei das Signal zwischen benachbarten Elektroden jeweils um 180° in seiner Phase verschoben war. Das Elektrodenfeld zur Anreicherung besaß vier parallele Mikroelektroden von 10 μm Breite und gleichem Elektrodenabstand. Damit beträgt das Volumen über den Elektroden bei 30 μm Kanalhöhe, 70 μm Elektrodenfeldgesamt-länge sowie 300 μm Kanalbreite 0,6 nl.

In den folgenden Messkurven zeigt sich ein Strom aus Viruspartikel, der einen definierten Bildbereich passiert. Das gewählte Fenster hatte eine Länge von 35 μm und eine Breite von 300 μm und wurde 140 μm hinter dem Mikroelektrodenfeld platziert (Abb. 4-3). Der Abstand des Fensters vom Elektrodenfeld entspricht dem Zweifachen der Breite des Elektrodenfeldes und wurde willkürlich festgelegt. Die für die Anreicherung verantwortlichen Wirbel liegen über dem Elektrodenfeld, ihre Bewegungsbahnen jedoch ragen über den Rand des Elektrodenfeldes hinaus. Dies belegen sowohl experimentelle Beobachtungen [Felten 2008] als auch numerische Ergebnisse [Stein 2008]. Daher wurde ein Versatz gewählt, um Einflüsse vernachlässigen zu können, die sich aus diesen lokalen Flüssigkeitsbewegungen ergeben.

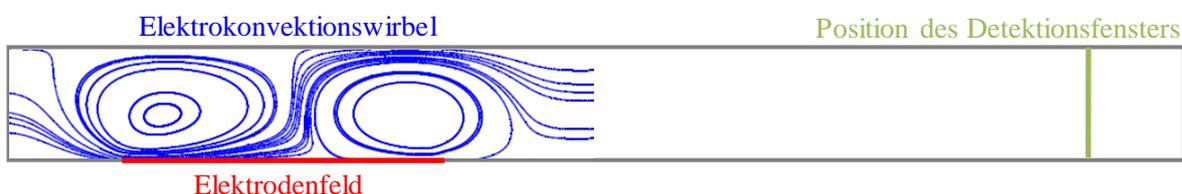


Abb. 4-3: Der Bildausschnitt stellt die Elektrokonvektionen als Teil eines Kanals dar und verdeutlicht so die Position des Detektionsfensters relativ zur Wirbelerzeugung (Simulationsresultat Stein 2008).

In Abbildung 4-4 sind die bei verschiedenen Spannungswerten des EHD-Filters (4 V_{pp} bis 10 V_{pp}) optisch erfassten Signalkurven abgebildet. Die Kurven lassen sich in zwei Regime unterteilen: solche, in denen das elektrische Feld entweder aus- (nicht schraffiert) oder eingeschaltet (rot hervorgehoben) ist. In den Kurvenbereichen ohne Feld (1, 3 und 5 der Grafik C) ist der Strom der Viruspartikel durch das Detektionsfenster als kontinuierliches Signal messbar. Die

während der Feldeinwirkung aufgenommenen Kurvenbereiche (2 und 4) zeigen eine Reduktion der Zahl erfasster Ereignisse und weisen damit auf ein Zurückhalten, also eine elektrische Filtration, hin. Diese endet mit dem Abschalten des Feldes: Jeweils zu Beginn der Abschnitte 3 und 5 sind kurzzeitig größere Messwerte erkennbar. Diese zeitlich limitierte Steigerung des Signals deutet auf das Entlassen zuvor zurückgehaltener Partikel hin.

Bei einer eingesetzten Konzentration von $7 \cdot 10^9$ Partikeln / ml sollten in dem Volumen unmittelbar über dem Elektrodenfeld zumindest rechnerisch deutlich mehr als 1000 Partikel enthalten sein. Der zu erwartende Wert war zu keinem Zeitpunkt detektierbar. Mögliche Ursachen sind eine unzureichende Farbstoffbelegung der Partikeloberfläche, Verluste auf dem Weg zum Elektrodenfeld, die vorzeitige Abregung der Fluoreszenz durch die Benutzung eines 20-er Objektivs, dessen Bildfeld größer ist als der Detektionsbereich, oder eine unzureichende Erfassung durch den verwendeten Algorithmus. Die Reduktion der Quantenausbeute durch die produzierte Wärme kann ebenso ein Grund sein. Der Farbstoff Octadecylrhodamin B ist ein mit einer Lipidgruppe versehenes Derivat des Rhodamins und verhält sich hinsichtlich seiner Temperatursensitivität mutmaßlich vergleichbar dem bereits in 3.6 beschriebenen Farbstoff Rhodamin B. Die lokale Erwärmung erreicht bei $10 V_{pp}$ Spannung an den Elektroden und einer Leitfähigkeit von $300 \text{ mS} / \text{m}$ etwa 14 K . Mit der daraus resultierenden Erwärmung von $25 \text{ }^\circ\text{C}$ auf $39 \text{ }^\circ\text{C}$ zeigt sich bei Rhodamin B eine Reduktion der Fluoreszenzintensität von etwa 30% . Neben der elektrischen Aktivität der Elektroden trägt auch die Beleuchtung zur Erwärmung bei.

Vergleicht man die Signalverläufe, so ist erkennbar, dass die Kurve bei einem niedrigen Spannungswert von $4 V_{pp}$ (Abb. 4-4 A) nahezu unverändert blieb. Vergleichbare Spannungswerte zeigten in Versuchen mit artifiziellen Modellpartikeln (3.4) eine geringe Filtrationsleistung. Bei Spannungen von $6 V_{pp}$ und darüber zeigten sich deutlich Bereiche mit einem verminderten Durchsatz für die Dauer der Elektrodenaktivität (C). Dieses Verhalten ist ein deutlicher Hinweis auf einen Schwellwert, ab dem die EHD-Filtration einsetzt. Die Höhe der Spannung ist auch ein Stabilitätskriterium: Erst ab diesem Schwellwert bilden sich hydrodynamische Instabilitäten aus, infolge derer die Filtration einsetzt. Die externe Strömung von $20 \text{ } \mu\text{m} / \text{s}$ stellt keine Störung des EHD-Mechanismus dar. Zwar transportiert sie Wärme konvektiv ab und schwächt so die Etablierung der Instabilitäten und damit die Filtration, jedoch wäre dieser Effekt erst bei Strömungsgeschwindigkeiten größer $500 \text{ } \mu\text{m} / \text{s}$ vergleichbar mit dem der Wärmeleitung [Jaeger 2005].

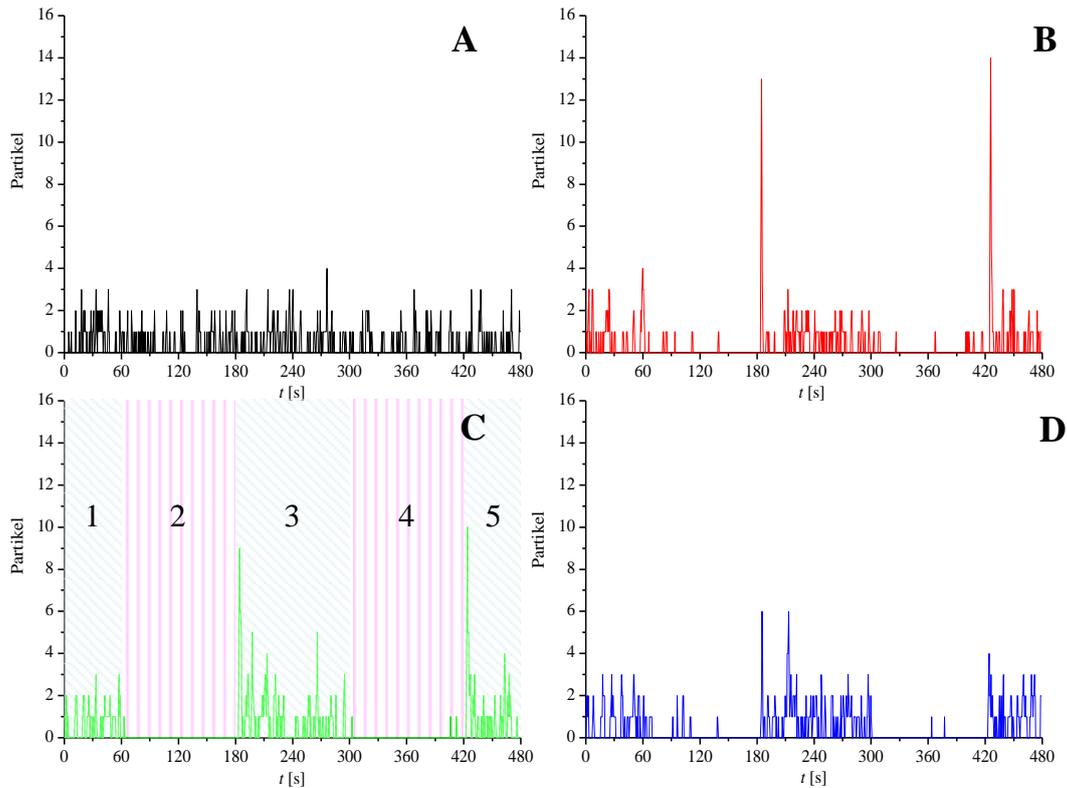


Abb. 4-4: Anreicherung von Viruspartikeln Influenza A (*X31*) aus einer NaCl-Lösung (elektrische Leitfähigkeit 300 mS / m) mit anschließendem Entlassen aus dem EHD-Filterelement. Durchgeführt für Spannungen von A) 4 V_{PP}, B) 6 V_{PP}, C) 8 V_{PP} und D) 10 V_{PP} jeweils bei 180°-phasenverschobenen Signalen und einer Frequenz von 1,25 MHz. Die Fließgeschwindigkeit betrug 20 µm / s. Es wurden vier parallele Mikroelektroden mit 10 µm Breite eingesetzt.

Nach je 2 min wurde das Feld an den Elektroden abgeschaltet. Etwa 5 s danach zeigte sich ein kurzer, kräftiger Anstieg. Bei der gewählten externen Geschwindigkeit entspricht dies der Transportzeit eines Aggregates vom Elektrodenfeld zum Detektionsfenster. Die Filtration ist nicht vollständig: Auch während der Filtrationsphase (Grafik B und D Abb. 4-4) passieren Partikel die hydrodynamische Barriere.

In Abbildung 4-5 ist das Entlassen zuvor angereicherter fluoreszierender Partikel rot hervorgehoben. Schwarz sind im Bild die vier Mikroelektroden zu erkennen und weiß die akkumulierten Aggregate, die durch das Abschalten des Feldes aus dem elektrischen Filter entlassen werden. Das weiß gestrichelte Areal hinter den Elektroden markiert in Position und Größe das Detektionsfenster. Deutlich ist zu erkennen, dass trotz einer Kanalbreite von 300 µm die Viruspartikel vorzugsweise in der Mitte des Kanals entlassen wurden. Neben der Filtration entlang des Kanals muß folglich zusätzlich ein lateral fokussierender Mechanismus auftreten.

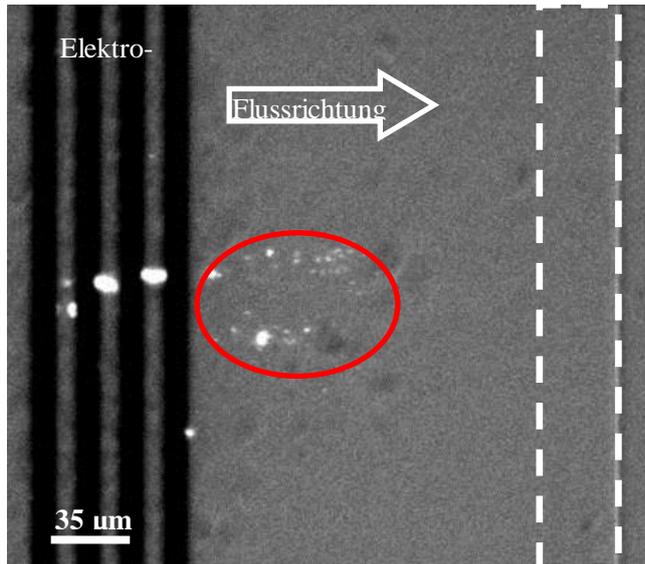


Abb. 4-5: Mit Octadecylrhodamin B gefärbte Viruspartikel die angereichert wurden. Die Partikel wurden zunächst akkumuliert und 2 min später entlassen (rot umrandet). Dabei passierten sie das weiß hervorgehobene Detektionsfenster.

Die Partikel wurden beim Filtrieren über den gesamten Kanalquerschnitt von $9000 \mu\text{m}^2$ zwischen und in die beiden gegenläufig rotierenden Wirbel gesogen, in die Kanalmitte transportiert und dort konzentriert (hellgrüne Areale, Abb. 4-6).

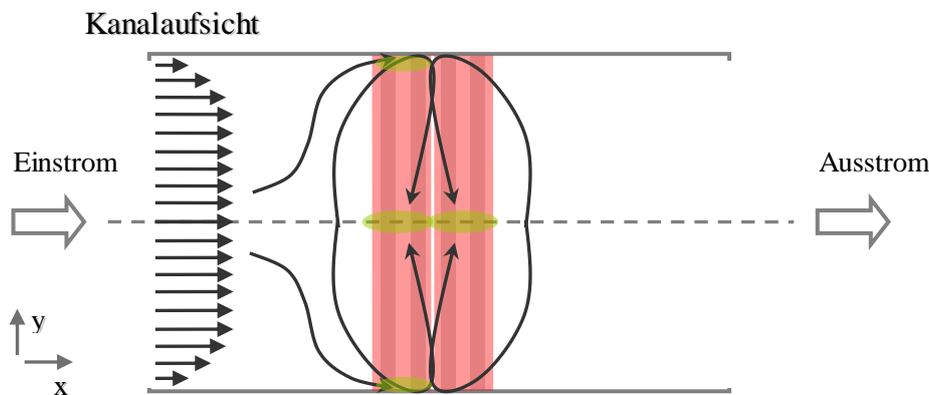


Abb. 4-6: Skizze zur Bahn der Viruspartikel in der Strömung und zum Ort ihrer Anreicherung. Dargestellt sind orange die beiden gegenläufig rotierenden EHD-Wirbel und hellgrün die Areale der Anreicherung.

Fluoreszenzgefärbte *Influenza A*-Virenpartikel konnten angereichert werden und danach, durch das Abschalten des elektrischen Feldes, entlassen werden. Während der gesamten Dauer der Experimente wurden Viruspartikel über die externe Strömung nachgeführt. In unserem System wurden erstmals EHD-Flüssigkeitsbewegungen benutzt, um 100 nm große Viruspartikel anzureichern. Der Rolle der DEP kommt hierbei eine untergeordnete Bedeutung zu, anders als bei den im Folgenden beschriebenen Systemen. Die durch das externe Pumpen wirkenden hydrodynamischen Kräfte wurden durch die in den Wirbeln auftretenden Geschwindigkeiten von mehreren hundert Mikrometern pro Sekunde dominiert und führten zur beobachteten Filtration. Diese lokal hohen Geschwindigkeiten wurden in früheren Arbeiten unter anderem mit Hilfe der

2fFCCS experimentell gemessen [Grom 2006, Felten 2008].

In früheren Versuchen gelang eine Anreicherung bestenfalls mit äußerst komplexen Mikrofeldkäftigen aus acht in mehreren Ebenen angeordneten Elektroden. Die Ansätze zur Manipulation von Bakterien- oder Viruspartikeln in elektrokinetischen Systemen stützen sich häufig allein auf die DEP Kräfte [Green 1997, Hughes 1998, Lapizco-Encinas 2007]. Als Hilfsmittel verwendeten andere Gruppen zudem mit Antikörpern beschichtete artifizielle Partikel [Kentsch 2003]. Kennzeichnend für Versuche zur Konzentrierung pflanzlicher (*Tabakmosaikvirus*) und humaner Viren (*Herpes-simplex Typ 1*) mittels DEP waren, verglichen mit physiologischen Seren (Beispiel: Blut circa 600 mS / m), geringe elektrische Leitfähigkeiten von wenigen Millisiemens pro Meter [Green 1997, Hughes 1998]. Zudem wurden die Partikel in der Regel aus unbewegten Suspensionen heraus aufkonzentriert. Die Einschränkung auf eine ruhende Flüssigkeit bedeutet die Verwendung eines äußerst kleinen Flüssigkeitsvolumens (etwa 225 fl) wie bei Manipulation 27 nm großer *Hepatitis-A-Viren* mittels einer Kombination aus EHD-Flüssigkeitsbewegungen und nDEP und einer elektrischen Leitfähigkeit von 300 mS / m [Beispiel Grom 2006]. Ein Erklärung für diese Limitation sind die geringen dielektrophoretischen Haltekräfte auf Nanopartikel, die bereits wenige Mikrometer über den Elektroden von der *Brownschen* Bewegung übertroffen werden, sofern nicht interpartikuläre Effekte dem entgegen wirken [Jaeger 2005]. Damit ist, anders als bei unserem System, die Dauer der Anreicherung zeitlich begrenzt: Sobald der Nahbereich der Elektroden verarmt ist, werden keine weiteren Partikel nachgeführt. Ein solcher Mechanismus ist mithin für die Verarbeitung eines größeren Volumens Probenmaterials klar ungeeignet. In unserem System wurden Viren aus einem bewegten Flüssigkeitsstrom mit annähernd physiologischer Leitfähigkeit angereichert. Ferner werden vier parallele und in einer Ebene angeordnete Mikroelektroden für die Manipulation verwendet, was die Kosten eines solchen Geräts um Größenordnungen verringert. Und in unserem System können dem entgegen, nach drei Minuten, etwa 12,5 nl verarbeitet werden, d.h. das hindurchgepumpte Lösungsvolumen ist dann bereits 55fach größer.

Nach der Filtration von Virussuspensionen wenden sich die beiden folgenden Abschnitte zwei unterschiedlichen Bakterienkulturen zu, von denen die eine direkt humanpathogen ist, während die andere medizinische Relevanz durch ihren Einsatz zur Bekämpfung von Mücken erhält, die als Vektoren von Malaria und Dengue fungieren.

Staphylococcus warneri

Die Abbildung 4-7 zeigt mit Hilfe unseres elektrohydrodynamischen Filtrationsmoduls erfolgreich aufkonzentrierte Bakterien des mit dem Farbstoff Epicocconone fluoreszenzgefärbten Bakterienstamms *Staphylococcus warneri* (rote Pfeile). Die Größe dieser sphärischen Zellen liegt zwischen $0,8\ \mu\text{m}$ und $1,2\ \mu\text{m}$. Die Zellen wurden erneut mit einem Paket aus vier parallel angeordneten Elektroden lokal angereichert. Die Versuche wurden in Zellkulturmedium mit einer Leitfähigkeit von $1,6\ \text{S/m}$ durchgeführt. Durch die Kombination aus einer hohen elektrischen Leitfähigkeit des Trägermediums – im physiologischen Bereich! - und Spannungswerten von $8\ \text{V}_{\text{pp}}$ wurde durch die resultierende lokale Anhebung der Temperatur die Fluoreszenzintensität deutlich reduziert (vgl. vorangegangener Abschnitt). Dies erschwerte die zuverlässige optische Diskriminierung der Partikel vom Hintergrund.

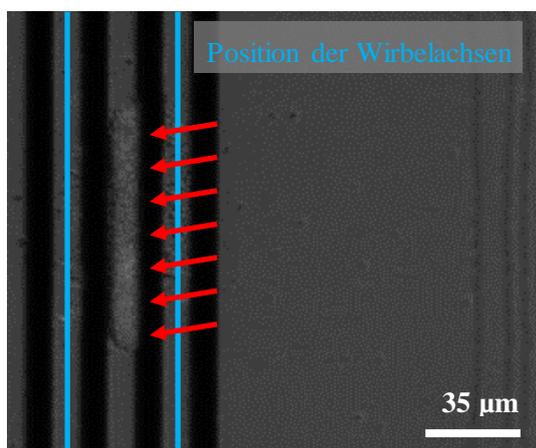


Abb. 4-7: Fangen von *Staphylococcus warneri* Bakterien. Dargestellt ist eine Elektrodenstruktur über der Bakterien Zellen gefangen wurden. Die Spannung zur Akkumulation betrug $8\ \text{V}_{\text{pp}}$. Das Signal hatte eine Frequenz von $1,25\ \text{MHz}$ und die Fließgeschwindigkeit betrug $60\ \mu\text{m/s}$. Die blauen Linien stehen für die Position der Wirbelachsen und die roten Pfeile deuten auf das Areal in dem die Bakterien akkumuliert wurden.

Bemerkenswerterweise akkumulierten die Zellen des acht bis zehnfach größeren *Staphylococcus* in einem anderen Elektrodenbereich als die $100\ \text{nm}$ großen Virenpartikel des *Influenza*-Stammes (siehe oben): Wie bei der Virenfiltration liegen die Achsen der Wirbel bei einer Ansteuerung mit vier Mikroelektroden über dem ersten und dritten Elektrodenzwischenraum (Abb. 4-7). Die Akkumulation der Partikel fand damit zwischen dem Wirbelpaar statt. Die Bakterien wurden auf einer Höhe von etwa $25\ \mu\text{m}$ angereichert (Gesamthöhe des Kanals circa $30\ \mu\text{m}$). Verifiziert wurde die Position über das Fokussieren auf die Bakterien und die Elektroden, die sich in unterschiedlichen Fokusebenen befanden. Die Ursache hierfür ist bei niedriger leitfähigen Trägermedien eine Kombination aus EHD- und DEP-Kräften [Felten 2006]. In unserem Fall ist der für die DEP maßgebliche Unterschied zwischen Innen- und Außenleitfähigkeit äußerst gering. Zudem ist die DEP-Kraft an der Kanaldecke durch den großen Abstand zu den Elektroden ohnehin deutlich kleiner. Die DEP-Kräfte sind infolge dessen an der Kanaldecke kleiner als der EHD-Anteil. Geht man von den zwei gegenläufig rotierenden EHD-Wirbeln aus, deutet die Rotationsrichtung

eigentlich mittig auf das Elektrodenfeld (Abb. 4-8). Dieses Verhalten ist bei diesen hohen elektrischen Leitfähigkeiten, wie bereits im Kapitel 3.3 ausgeführt, im konduktiven Regime der EHD-Bewegung angesiedelt. Theoretisch sollte am ehesten am Boden mit einer Akkumulation zu rechnen sein. Es existiert jedoch ein zweiter strömungsberuhigter Bereich zwischen den Wirbeln an der Kanaldecke (grüne Areale Abbildung).

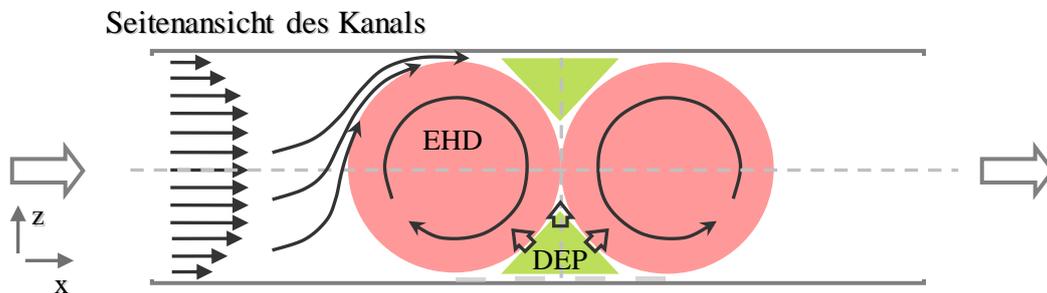


Abb. 4-8: Lokalisierung der strömungsberuhigten Zonen innerhalb des Strömungsfeldes.

Diese Areale ergeben sich auch aus numerischen Simulationen zum Pumpenmechanismus [Stein 2008]. Die Partikel gelangen über die Rotationsbewegungen der Strömung in den oberen Bereich während sie aus dem unteren durch die vorhandenen schwachen DEP-Kräfte ausgetrieben werden. An der Decke werden sie durch die Wirbel in ihrer Lage stabilisiert. Der Akkumulation entgegen wirken zeitgleich die temperaturbedingt verstärkte Diffusion und die Thermophorese. Sie überwiegen in diesem Fall die auf eine Anreicherung hinwirkenden Kräfte erkennbar nicht. Große Partikel, wie Bakterien, werden aus dem unteren strömungsberuhigten Bereich verdrängt. So lässt sich ein durch die EHD-Strömungen stabilisiertes Anreicherungsareal an der Kanaldecke erklären.

Als drittes und letztes Beispiel zur schaltbaren Anreicherung von Pathogenen in physiologischen Lösungen werden nun Zellen von *Bacillus thuringiensis* betrachtet.

Bacillus thuringiensis

Bacillus thuringiensis (*Bt*) Zellen haben einen Durchmesser von 1 μm , sind etwa 5 μm lang und stäbchenförmig. *Bt* wurde hier untersucht vor allem aufgrund der alternativen Morphologie der Bakterien ihrer Verfügbarkeit. Wieder wurde eine Struktur aus vier Einzelelektroden genutzt. Die optische Erfassung der Filtration erfolgte im Unterschied zu den beiden vorausgegangenen Versuchen im Durchlicht. Ein Unterscheidungsmerkmal der Bakterien zu den beiden Proben zuvor ist sowohl ihre Größe als auch ihr Formfaktor im Vergleich zu den bislang annähernd run-

den Partikeln. Auffällig bei der Aufnahme in Abbildung 4-9 ist, wie bei dem Bakterienstamm zuvor, die Akkumulation in der mittig über der Elektrodenstruktur, zwischen zweiter und dritter Elektrode. Damit werden die Partikel erneut vorrangig zwischen den induzierten Wirbeln der EHD-Filtereinheit angereichert. Bei den Versuchen kam es zu Ablagerungen an der Kanaldecke. Darüber hinaus wurde beobachtet, dass die Bakterien nach dem Verlassen der Filtereinheit nicht einzeln vorlagen, sondern das Filterareal in größeren Paketen verlassen (nicht gezeigt).

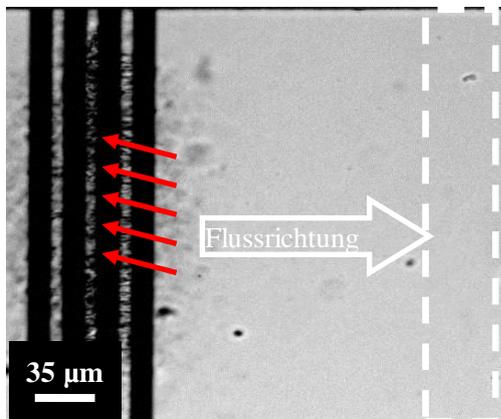


Abb. 4-9: Filtration des *Bacillus thuringiensis*. Die Filterversuche wurden bei einer Betriebsspannung von $10 V_{PP}$ und $1,25 \text{ MHz}$ durchgeführt. Weiß gestrichelt ist das Detektionsareal dargestellt. Die roten Pfeile weisen auf das Sammelareal an der Kanaldecke.

Infolge der veränderten Beleuchtungstechnik wird deutlich, dass auch bei Spannungswerten von $8 V_{PP}$ und $10 V_{PP}$ die Zahl der im Detektionsfenster registrierten Partikel größer Null ist (Abb. 4-10). Der Rückhalt ist demnach nicht vollständig und einige Partikel können die zwei als Barrieren wirkenden Wirbel passieren. Durch das Einschalten des elektrischen Feldes kommt es zu einer Reduzierung der Zahl detektierter Ereignisse auf umgerechnet zwei Partikel pro Sekunde (Abb. 4-10 A).

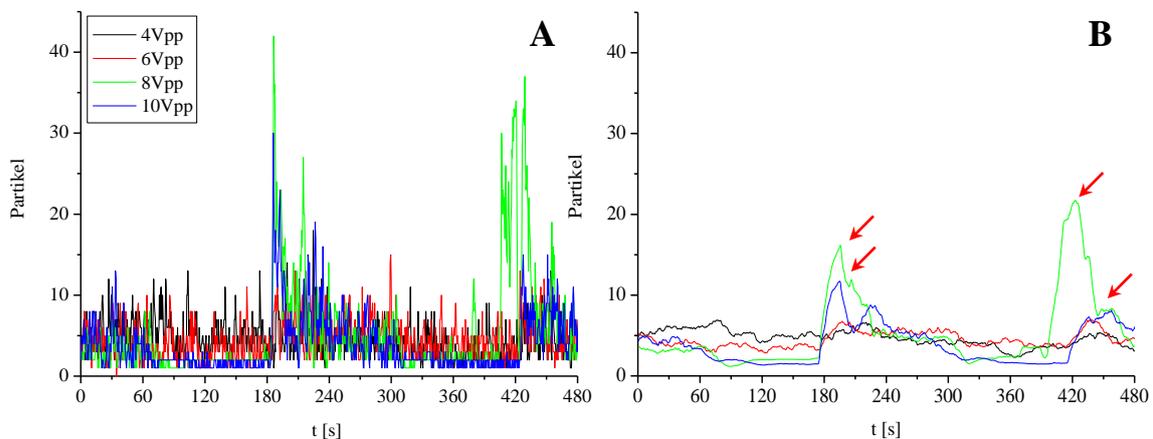


Abb. 4-10: Detektierte Partikelaggregate pro Zeiteinheit bei verschiedenen Spannungen A) im Original und B) nach einer Glättung über 40 Datenpunkte.

Eine Glättung der Kurve verdeutlicht diesen Umstand qualitativ (Abb. 4-10 B). Eine eindeutige Reduktion des Partikeldurchflusses tritt erst ab $8 V_{PP}$ Versorgungsspannung auf. Auch in diesem

Fall übersteigen die nach dem Abschalten des Feldes auftretenden Spitzenwerte bei $8 V_{PP}$ jene Werte für $10 V_{PP}$ (rote Pfeile, Abb. 4-10 B).

In unserem System wurden die beiden bakteriellen Proben, die runden *Staphylococcus warneri* wie die stäbchenförmigen *Bacillus thuringiensis*, erfolgreich aus den vorbeiströmenden Suspensionen heraus angereichert und konnten wieder entlassen werden. Es wurden Flüssigkeiten verwendet, die zu physiologischen Medien vergleichbare elektrische Leitfähigkeiten aufwiesen. Abschätzungen der Intensität relativ zum Partikelgehalt deuten bei *Bt* auf lokale Konzentrationssteigerungen um über 200% hin. Die Untersuchungen mit *Staphylococcus warneri* zeigen ähnliche Anreicherungsgrade. Sämtliche Bakterien wurden zwischen den beiden EHD-Wirbeln im Nahbereich der Kanaldecke gefangen. Die Quantifizierung wird durch die Aggregation der Zellen zu größeren Paketen erschwert. Dieses Zusammenballen ist für die anschließende Diagnostik jedoch nicht von Belang.

Die einzige im weitesten Sinne vergleichbare frühere Studie zur elektrisch schaltbaren Filtration von Bakterien aus realen Medien betraf Sporen der Stämme *B. subtilis*, *C. sporogenes*, *B. anthracis* und *C. botulinum* in Milch, Apfelsaft u.a. [Koklu 2010]. Die Autoren nutzten in diesem Fall zwei einzelne Elektroden (1-Phasen-Ansteuerung) und konnten damit, nach eigener Aussage, mit einer Kombination aus nDEP und EHD-Bewegungen Bakteriosporen in 30 Minuten um 73% anreichern. Jedoch wurden auch in dieser Arbeit während des Versuchszeitraums keine weiteren Partikel nachgeführt, wodurch das behandelbare Probenvolumen äußerst klein blieb.

In der vorliegenden Arbeit wurden sowohl Viruspartikel als auch Bakterien mit Hilfe der EHD-Wirbel innerhalb von nur 2 min lokal auf das zwei- bis vierfache der Ausgangskonzentration angereichert. Die Manipulation per DEP [Green 1997, Hughes 1998] spielt hier jedoch nur eine untergeordnete Rolle. Und anders als in Beiträgen, die bereits auf einer Kombination aus DEP und EHD-Bewegungen aufbauten [Grom 2006, Koklu 2010], kommt in unserem System der EHD-Bewegung eine größere Bedeutung zu, wie ein Vergleich der gemessenen Geschwindigkeiten verdeutlicht [Grom 2006, Felten 2008]. Gründe sind die Schwächung der DEP sowohl durch den in physiologischen Medien weitgehend fehlenden Leitfähigkeitskontrast als auch durch die Partikelanreicherung an einem Ort geringer elektrischer Feldgradienten (Kanaldecke). Drittens reduzieren die geringen Abmessungen der Partikel die DEP-Kraft. In der Abbildung 4-11 ist das Ergebnis einer numerischen 3D-Simulation der EHD-Bewegung dargestellt [Stein 2008].

Wie aus den Versuchen mit den Viren deutlich wurde, werden nanometergroße Partikel auf den Achsen der sich ausbildenden Wirbel gefangen und nicht wie bei den Bakterien in einem Zwischenraum. Bislang existiert für diese Beobachtungen keine zufriedenstellende Beschreibung des Sachverhalts. Eine Erklärung für die Anreicherung der Virenpartikeln auf den Rotationsachsen der Wirbel liefert das Modell zur Entstehung von Sekundärströmungen [Einstein 1926]: Durch die innere Reibung der Flüssigkeitsschichten in der Nähe der Kanalwand kommt es zu Geschwindigkeitsunterschieden. Die Folge ist eine in der Nähe dieser Flächen durch die Abbremsung deutlich reduzierte Zentrifugalkraft bei einer gleichzeitig dominierenden Druckkraft, die ins Innere der Wirbel zeigt. Letztere ist Folge des Bernoulli-Effekts: Im Inneren des Wirbels ist die Strömungsgeschwindigkeit höher als in seinen Randbereichen. Jedes Volumenelement Flüssigkeit hat daher eine höhere kinetische Energie als ein analoges Element außerhalb. Um die Energieerhaltung zu gewährleisten, wird dieser Zugewinn der potentiellen Energie entnommen. Bei einer strömenden Flüssigkeit entspricht die potentielle Energie dem Druck. Letzterer ist daher in Bereichen hoher Geschwindigkeit niedriger, was den oben genannten Druckgradienten in den Wirbel hinein erklärt. Das Resultat ist die Ausbildung von Sekundärströmungen. Die für diese Dämpfung der Rotation notwendigen Flächen finden sich hierbei mit den Kanalseitenwänden, der Kanaldecke und dem Kanalboden rings herum. Die komplexen Sekundärströmungen transportieren Partikel in der Größe von Viren in die Bereiche innerhalb der Wirbel und anschließend in die Kanalmitte (Abb. 4-4 und Abb. 4-5). Größere Partikel wie Bakterien werden vorrangig durch ein Zusammenspiel aus EHD und DEP in den strömungsberuhigten Bereichen zwischen den Wirbeln an der Kanaldecke angereichert.

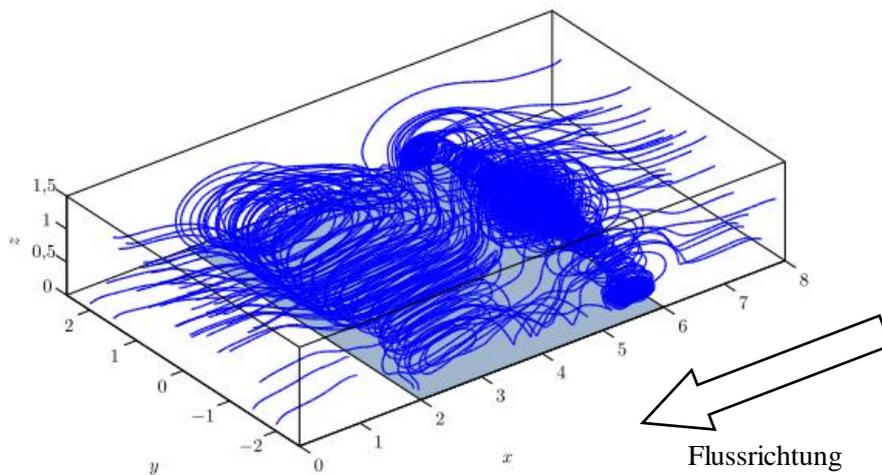


Abb. 4-11: 3D-Simulation einer Wirbelformation des konduktiven Regimes in entdimensionalisierter Darstellung [Stein 2008]. Strömungsverhalten über einem Mikroelektrodenfeld (hellblau, *Comsol Multiphysics*). Die Bewegungsbahnen von Flüssigkeitsteilchen sind als dunkelblaue Stromlinien dargestellt.

Die Resultate mit Viren- und Bakteriensuspensionen verdeutlichen hervorragend die Effektivität

von EHD-Filtereinheiten beim Einsatz mit kontaminierten Flüssigkeitsvolumina im Mikroliterbereich.

In den folgenden Teilen der Arbeit werden Einflussfaktoren, die sich auf das Filterresultat auswirken, untersucht. Zunächst wird die Elektrodenform und -anordnung sowie deren Wirkung auf die EHD-Flüssigkeitsbewegung betrachtet.

4.3 Variation geometrischer Parameter der Filterelektroden

Faktoren wie die Form der Elektroden und deren relative Anordnung haben einen unmittelbaren Einfluss auf das elektrische Feld und damit auf das Filtrationsresultat. Zur Untersuchung wurde verglichen, wie sich artifizielle Partikel bzw. die sich etablierenden Strömungen in Mikrokanälen mit zweidimensionalen (planaren) Elektroden gegenüber Kanälen mit dreidimensional freistehenden Elektroden verhalten. Es wurde untersucht, wie sich die Form und die Anordnung planarer Elektrodenfelder auf die EHD-Bewegungen auswirken. Außerdem wurden die EHD-Strömungsfelder bei Verwendung von 3D-Elektroden studiert.

Planare Elektroden

Von den zahlreichen Möglichkeiten, das elektrohydrodynamische Strömungsbild um 2D-, also planare, Elektroden herum zu variieren, wurden Elektrodenelemente mit Unterbrechungen und Elektrodenfelder mit variierender Elektrodenlänge näher untersucht (Abb. 4-12).

In der linken Bildserie in Abbildung 4-12 wurde ein 30 μm breiter Passivierungstreifen über den Elektroden aufgebracht. Aus einem großen Elektrodenfeld wurden zwei kleinere. Die Passivierungsschicht aus 600 nm dicken Siliziumnitrid, mit einer dielektrischen Permittivität von 7,5, schwächt die lokale Feldstärke etwa 500fach [Jaeger 2005] und wirkt sich lokal auf die Etablierung der EHD-Strömungen aus. Die 2 μm Partikel werden von der EHD-Strömung sowie von der DEP bewegt und sammeln sich nicht in den Wirbeln, sondern dazwischen. Diese sind strömungsberuhigte Zonen (Abb. 4-8).

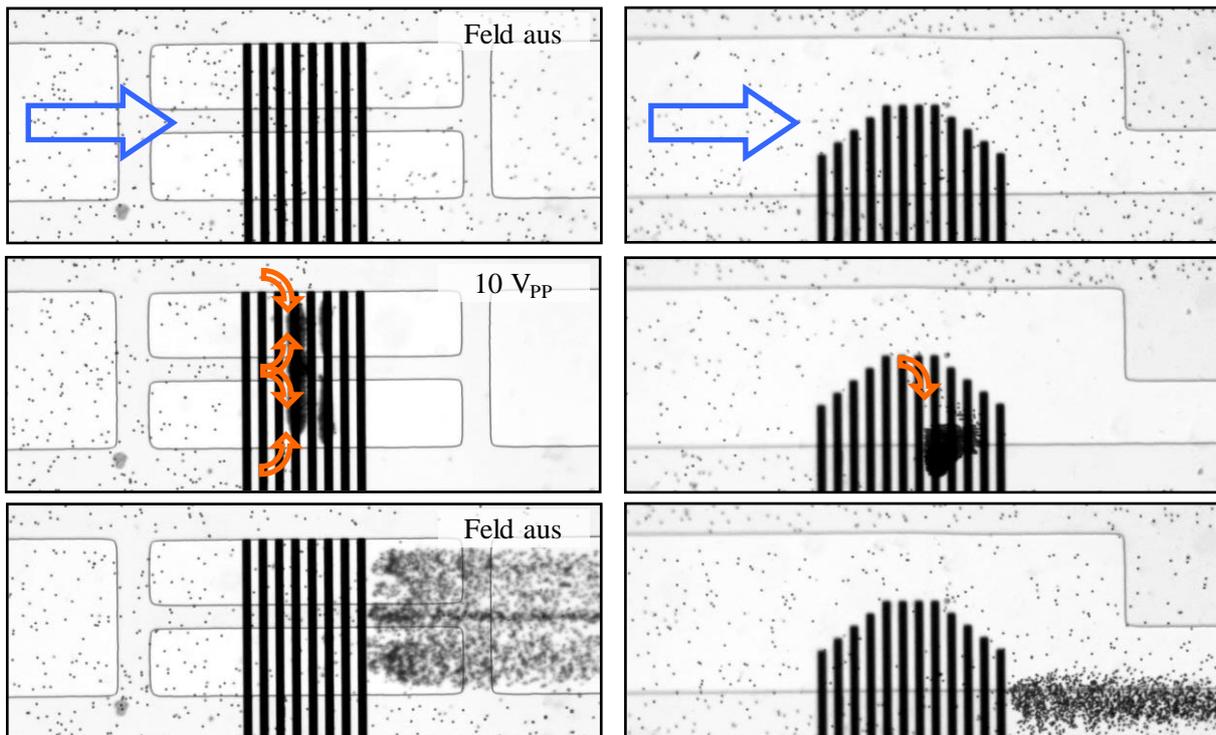


Abb. 4-12: Resultate der Anreicherung bei Elektrodenfeldvariationen. Der blaue Pfeil deutet in die Richtung der externen Strömung, die $90 \mu\text{m/s}$ betrug. Die orangefarbenen Pfeile verdeutlichen den Weg der Partikel in die Bereiche der Anreicherung (dunkle Areale über den Elektrodenzwischenräumen). Dargestellt ist für beide Varianten jeweils das Bild ohne elektrisches Feld, mit einer Feldfrequenz von $1,25 \text{ MHz}$ und 10 V_{PP} Versorgungsspannung sowie kurz nach dem Abschalten des Feldes. Die Elektroden haben eine Breite von $10 \mu\text{m}$ und einen identischen Abstand. Bei beiden Versuchen wurde mit einer 4 Phasen-Ansteuerung gearbeitet.

In beiden Bildserien wurden statt der bislang verwendeten vier Einzelelektroden alle Elektroden mit einem Signal beaufschlagt. Es bildeten sich dennoch pro Elektrodenfeld jeweils nur zwei EHD-Wirbel. Die Passivierung auf der linken Seite wirkt als existierten zwei Elektrodenfelder. Mit den vier Wirbeln bildeten sich zunächst getrennt voneinander zwei Pakete (nicht gezeigt). Diese verbanden sich beim kontinuierlichen Partikelzustrom zu einem Aggregat (links Abb. 4-12, mittleres Bild). Die Variation der Länge der Einzelelektroden innerhalb eines Feldes hatte kein verändertes Anreicherungsverhalten zur Folge (Bildserie rechts). Die Partikel wurden bis zur Abschaltung in einem Paket gefangen. Es ist erkennbar, dass die Elektroden den Kanal nicht vollständig überspannen müssen (linke Serie), um alle Partikel aus dem Strom an zu reichern.

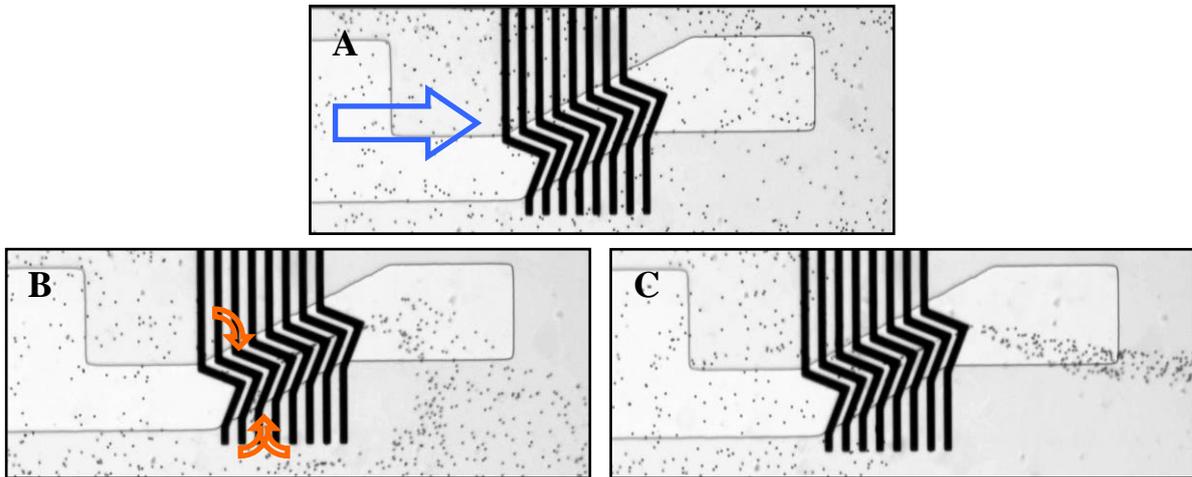


Abb. 4-13: Darstellung der Wirkung eines gepfeilten Elektrodenfeldes auf das Akkumulationsresultat. A) Ohne elektrisches Feld, B) mit Feldwirkung und $150 \mu\text{m/s}$ Strömungsgeschwindigkeit und C) mit elektrischem Feld und $770 \mu\text{m/s}$ Geschwindigkeit. Die Breite beträgt bei diesen Elektrodenelementen $10 \mu\text{m}$. Es kamen vier Phasen zum Einsatz. In hellgrauen Kanalbereichen befindet sich keine Passivierung auf den Elektroden.

Bei den Elektroden in Abbildung 4-13 wurden die $2 \mu\text{m}$ Partikel zunächst seitlich mit Hilfe der EHD-Strömungen über das Elektrodenfeld geleitet und in Richtung der Spitzen beschleunigt und auf einen kleinen Teilbereich des Kanals fokussiert (Abb. 4-13 C). Die Fokussierung der Partikel auf 16% der zuvor belegten Kanalbreite kann effektiv für das Umlenken genutzt werden. Bei nanometergroßen Partikeln mit Durchmessern von 200 nm war dieser Effekt deutlich schwächer, vielmehr bewegten sie sich auf den von der EHD-Strömung ausgebildeten Bahnen (nicht gezeigt). Dieses unterschiedliche Verhalten verschieden großer Partikel lässt sich über die partikuläre *Re*-Zahl (2.1) deuten. Je kleiner das Partikel, desto weniger weicht es von der Strömung ab und folgt ihr. In ihrer partikulären *Re*-Zahl unterscheiden sich 200 nm große Partikel um eine Größenordnung von $2 \mu\text{m}$ großen Partikeln. Die obigen Aufnahmen verdeutlichen, dass die mikrometergroßen Partikel bei parallel orientierten Elektroden zwischen den EHD-Wirbeln angereichert werden. Ist der Feldgradient durch die Geometrie der Elektroden beeinflusst, wie an den Spitzen des gepfeilten Elektrodenfeldes, wirkt sich dies unmittelbar auf die Wirbel aus und verändert so die EHD-Strömungen. Da die Stärke des Feldgradienten die Anreicherung der Partikel bestimmt, ist letztere indirekt auch von der Elektrodenform abhängig.

Zum Vergleich mit den planaren Elektroden werden im folgenden Abschnitt 3D-Elektroden untersucht.

3D-Mikroelektroden

Motiviert war die Entwicklung von 3D-Elektroden für EHD- und DEP-Manipulationen durch 1) ihre größere Elektrodenoberfläche, 2) die ausgedehnte Wirkreichweite in die Flüssigkeit, 3) die Reduzierung durch die Kanalwände hervorgerufener Randeffekte und 4) eine Erhöhung des Durchsatzes, bei Verwendung größerer Kanalquerschnitte.

Zur DEP- und EHD-Manipulation nanometer- und mikrometergroßer artifizierlicher Partikel wurden 3D-Elektroden benutzt. Diese wurden von unserem Partner dem Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie mittels laserbasierter Abscheidung aus einer aluminiumhaltigen Dampfphase hergestellt [Stuke 2005, Stuke 2007]. Erstmals wurden hier derartige 3D-Elektroden in ein Kanalsystem integriert. Dazu wurden die Kanalhöhe und Breite des oben beschriebenen Kanalsystems auf jeweils 500 μm erweitert. Auch bei diesen angepassten Dimensionen ist die Strömung noch vollständig laminar. Somit treten auch hier keine gravitationsgetriebenen Konvektionen auf. Der Durchmesser der seriell gefertigten Elektroden (Abb. 4-14 B & C) beträgt 10 μm . An den Füßen der Strukturen wurde zur mechanischen Stabilisierung gegenüber externen Strömungen ein um bis zu 10 μm bis 20 μm dickerer Durchmesser gewählt. In Vorversuchen hatten sich dort strukturelle Schwächen an den Kontaktflächen der 3D-Elektroden und den planaren Zuleitungen gezeigt.

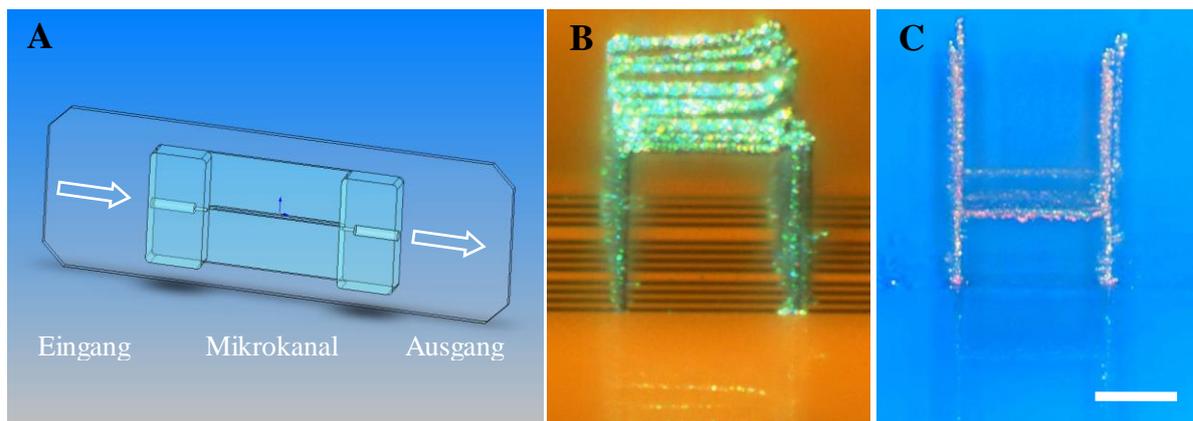


Abb. 4-14: A) Zeichnung des PDMS-Kanals auf einem Objektträger. B) & C) Aufnahmen 100 μm breiter und etwa 200 μm hoher, freistehender Aluminiumelektroden (hergestellt am MPI für biophysikalische Chemie Göttingen). Der weiße Balken misst 50 μm . Der Schreibprozess ermöglicht definierte Elektroden in nahezu beliebigen Formen (3.1).

Die verwendeten 3D-Aluminiumstrukturen wurden auf planaren und linear angeordneten Elektroden aufgebaut. Untersucht wurde anschließend, wie sich 200 nm und 2 μm große PS-Partikel in Mikrokanälen mit den 3D-Elektroden verhielten.

Für die Versuche wurden verschiedene Elektrodenvarianten erzeugt: Wie die Abbildungen zeigen, lassen sich neben geschlossenen Strukturen, wie Ringen und Toren, mit dieser Methode auch offene Elemente, wie H- oder Y-Elektroden, erzeugen. Durch den seriellen Schreibprozess ergaben sich mitunter einzelne fehlerhafte Elektroden. Deren Wirkweise wurde jedoch nicht negativ beeinflusst (Abb. 4-15). Die 3D-Elektrodenfelder auf den 500 μm dicken Elektrodengläsern wurden in die Kanäle integriert und fixiert. Für die Aufnahmen wurde ein Aufrechtmikroskop verwendet, wobei die 3D-Elektroden an der Kanaldecke befestigt waren. Als Elektrodenstrukturen kamen Doppeltorelektroden zum Einsatz (Abb. 3-4). Die elektrische Leitfähigkeit des Umgebungsmediums entsprach bei den Versuchen der von vollentsalztem Wasser (veH_2O , $5 \mu\text{S} / \text{m}$). Bei den Versuchen kamen zwei verschiedene Arten der Elektrodenansteuerung zum Einsatz. So wurde zwischen direkt benachbarten Elektroden eine Phasenverschiebung von 180° (2 Phasenbetrieb) oder 90° (4 Phasenbetrieb) realisiert. Für die Dauer der Versuche wurde zunächst keine externe Strömung verwendet, so dass die Partikel lediglich im Nahbereich der Elektroden angereichert wurden. Es wurden jeweils vier Elektroden eingesetzt.

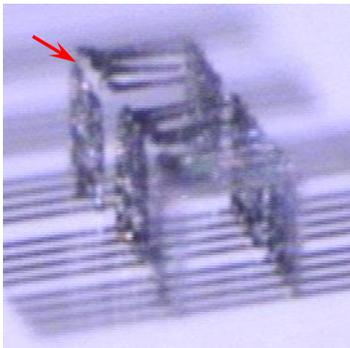


Abb. 4-15: Fehlerhafte 3D-Elektrodenstruktur. Unvollständig geschlossene Bögen der Elektroden (roter Pfeil).

Die in den folgenden Abbildungen dargestellten Resultate zeigen die Akkumulation fluoreszierender 200 nm großer Partikel an den Elektrodenoberflächen. In der Abbildung sind drei der vier verwendeten Elektroden zu sehen. Eine weitere findet sich jeweils auf der rechten Seite außerhalb des Bildfeldes. Im Vergleich der 2 Phasen-Ansteuerung zu einer 4 Phasen-Ansteuerung wurde bei erster eine deutlichere Anreicherung an allen Elektroden beobachtet. Die Fluoreszenzintensität steigt mit zwei phasenverschobenen Signalen bei den Außenelektroden nur an deren Innenseiten an (Abb. 4-16 A, blaue Pfeile). Bei vier Phasen wird das Intensitätssignal an einer der Elektroden deutlich verstärkt. Die einseitige Anreicherung hat ihre Ursache in der EHD-Strömung die entlang der Elektroden in Richtung der letzten Elektrode verläuft (hellroter Pfeil, Abb. 4-16 B). Die Phasenverschiebung von 90° führt zu einer Flüssigkeitsnettbewegung, während bei einer 2 Phasen-Ansteuerung keine Orientierung der Bewegung existiert. Bei den vier Phasen führte eine Umorientierung der Phasenlage zu einer Verschiebung des Anreiche-

rungsmaximums zur entgegengesetzten Außenelektrode. Die Richtung der Nettoströmung verläuft bei diesen niedrigen elektrischen Leitfähigkeiten und der Signalfrequenz von 1,25 MHz antiparallel zum wandernden elektrischen Feld.

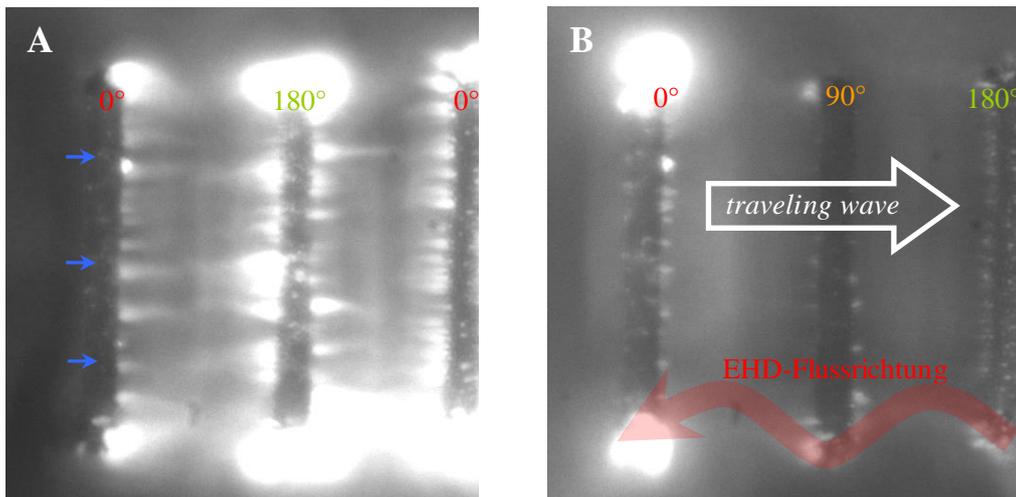


Abb. 4-16: Anreicherung von 200 nm großen fluoreszierenden Partikeln an den 3D-Torelektroden aus einer Suspension ($5 \mu\text{S} / \text{m}$) A) im 2 Phasenbetrieb und B) im 4 Phasenbetrieb. Die Richtung der elektrischen Wanderwelle (weiß) und die antiparallele Orientierung der EHD-Strömung (rot) sind in Bild B dargestellt. Der weiße Balken misst $25 \mu\text{m}$ (Strukturen hergestellt am MPI für biophysikalische Chemie in Göttingen).

In der Abbildung ist zu erkennen, dass sich die 200 nm Partikel an den äußersten Ecken der freistehenden Aluminiumelektroden und an deren rauen Oberflächen anreichern. Ferner konnten Mikrowirbel unmittelbar an der Elektrodenoberfläche beobachtet werden, in denen Partikel angereichert werden (Abb. 4-16 & Abb. 4-17).

Der Flüssigkeitstransport basiert auf dem EHD-Prinzip und speziell auf dem des dielektrischen Regimes. Dies lässt sich aus den Beobachtungen zur Orientierung der resultierenden Nettoströmungen beim EHD-Pumpen ableiten [Felten 2006]. Das dielektrische Regime wurde bereits im Kapitel 2.2 eingehender beschrieben. Der Intensitätsanstieg an den Elektrodenoberflächen und die niedrige Leitfähigkeit der Suspension deuten für die 200 nm großen Partikel auf pDEP hin. Die Abhängigkeit der DEP-Kraft vom Gradienten des elektrischen Feldes erklärt die deutliche Anreicherung der 200 nm großen Partikel an den Eckpunkten und der rauen Elektrodenoberfläche durch die ausgeprägt inhomogene Feldverteilung. Die Rauigkeit weist Strukturdimensionen von unter $1 \mu\text{m}$ auf (Abb. 4-17 A). Diese Anreicherung ist bei beiden Ansteuerungen ähnlich. Beim 4-Phasenbetrieb kommt zur pDEP eine deutlich zu einer Seite hin ausgerichtete EHD-Strömung hinzu.

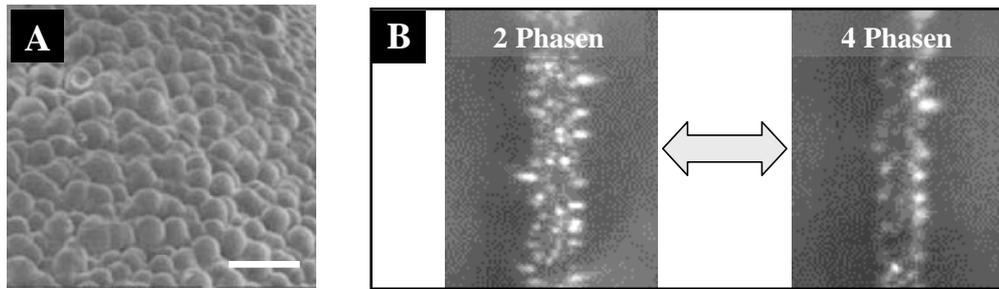


Abb. 4-17: A) Rasterelektronenmikroskopische (REM) Aufnahme der Elektrodenoberfläche [Stuke 2005]. Der weiße Balken ist 1 μm groß. B) Anreicherung von 200 nm Partikeln an Elektrodenoberflächen. Links im 2 Phasenbetrieb (180°) und rechts im 4 Phasenbetrieb (90°). Die Elektroden haben eine Breite von 10 μm (Strukturen MPI für biophysikalische Chemie).

Ein anderes Bild ergibt sich für die Akkumulation 2 μm großer Partikel, die über eine externe Pumpe gegen das elektrische Feld gedrückt werden: Die Partikel sammeln sich in Aggregaten vor dem Eingang zur ersten aktiven Torelektrode und verharren dort bis zum Abschalten des Feldes. Begrenzt wird die Anzahl der Partikel unter anderem durch die Dimension der Elektrodenstruktur. In Abbildung 4-18 ist diese Akkumulation von Mikropartikeln zu sehen. Größere Partikel sammeln sich erwartungsgemäß durch nDEP in den ausgebildeten Feldminima, die in diesem Fall vor und zwischen den Elektroden liegen. Eine Suspension aus 2 μm PS-Partikeln wird beim Einschalten des elektrischen Feldes in diskrete Aggregate geteilt, die durch nDEP und EHD auch gegenüber großen Strömungen lokal stabilisiert werden. Im Vergleich mit gängigen DEP-Manipulationswerkzeugen können hier deutlich höhere Strömungsgeschwindigkeiten verwendet werden als üblich. Alle Partikel, die auf den elektrischen Filter treffen, wenn dessen Kapazität erschöpft ist, werden an diesem vorbeitransportiert.

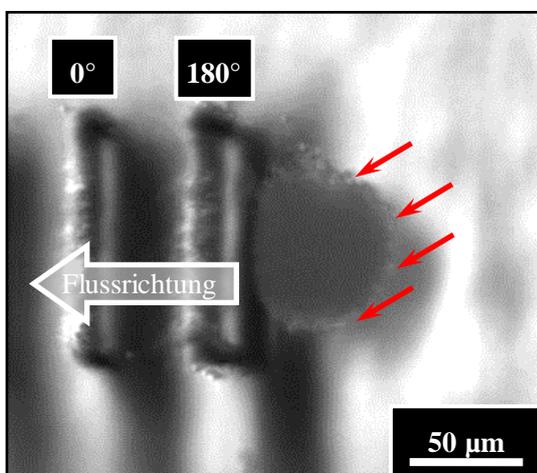


Abb. 4-18: Im Bild ist die Anreicherung von Partikeln mit 2 μm Durchmesser mit einer externen Strömung (5 $\mu\text{l}/\text{min}$ bis 15 $\mu\text{l}/\text{min}$) dargestellt. Die durch nDEP etwa 50 μm über dem Kanalboden angereicherten Partikel sind als Wolke zu erkennen (rote Pfeile).

Die Strömungen um die 3D-Elektroden im Kanal ergeben ein komplexes EHD-Profil. Eine numerische Simulation dieses Profils ist in Abbildung 4-19 zu sehen.

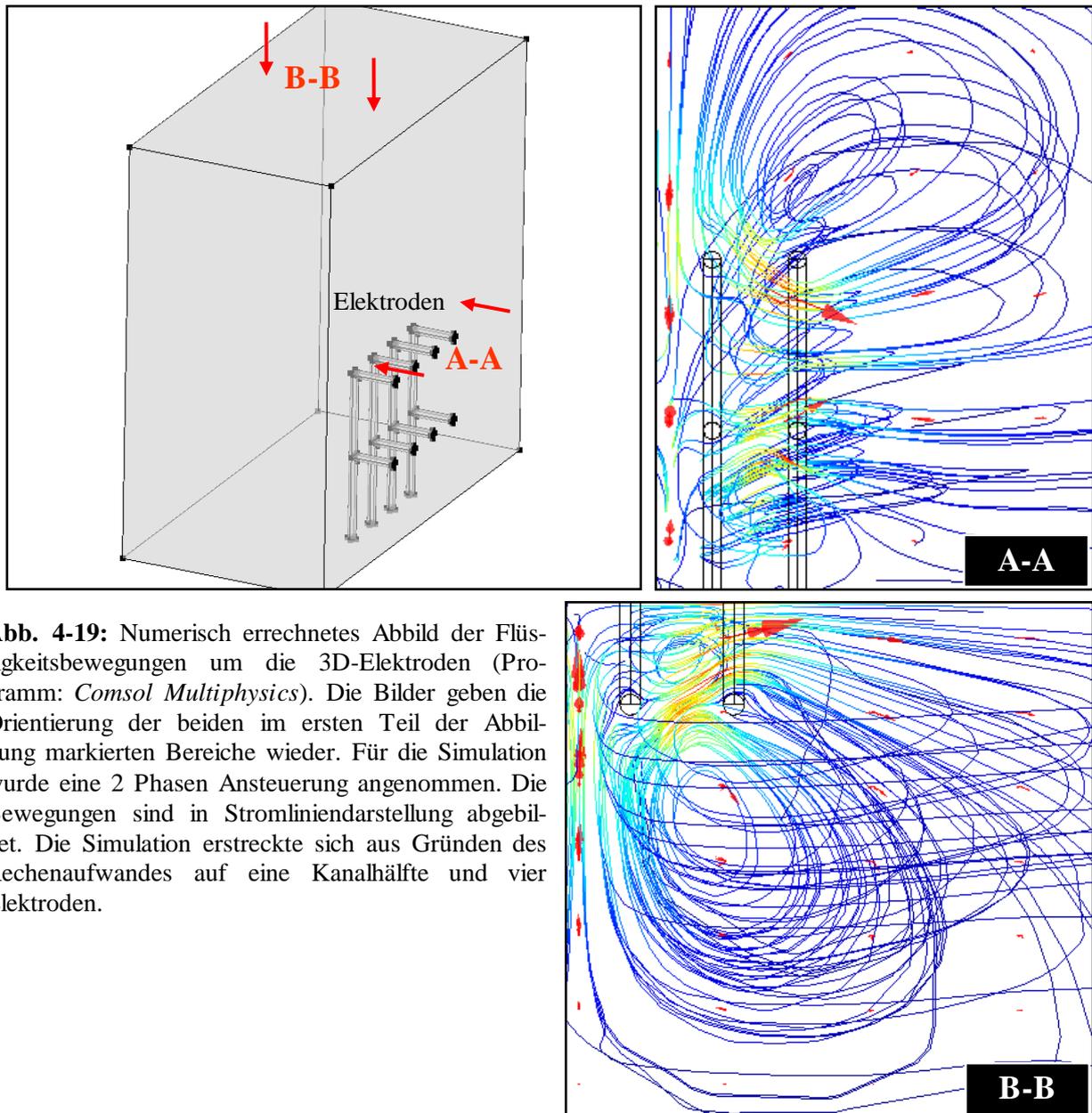


Abb. 4-19: Numerisch errechnetes Abbild der Flüssigkeitsbewegungen um die 3D-Elektroden (Programm: *Comsol Multiphysics*). Die Bilder geben die Orientierung der beiden im ersten Teil der Abbildung markierten Bereiche wieder. Für die Simulation wurde eine 2 Phasen Ansteuerung angenommen. Die Bewegungen sind in Stromliniendarstellung abgebildet. Die Simulation erstreckte sich aus Gründen des Rechenaufwandes auf eine Kanalhälfte und vier Elektroden.

Zu sehen sind hier zwei halbierte Elektrodenelemente. Das erste Bild in der oberen linken Ecke gibt das der Lösung zugrundeliegende strukturelle Modell wieder. Die roten Pfeile der Abbildung deuten in die Blickrichtung der beiden folgenden Bilder. In beiden Bildern sind über die Stromliniendarstellung die Bewegungsbahnen von Flüssigkeitsteilchen aufgrund der EHD-Manipulationen kenntlich gemacht. Das Resultat entspricht den beobachteten Bewegungen 200 nm großer Partikel (nicht gezeigt), die aufgrund ihrer geringen Größe den elektrohydrodynamischen Bewegungsbahnen von DEP-Kräften weitgehend unbeeinflusst folgen. Solche Partikel mit partikulären Re -Zahlen von $Re_p < 0,5$ (Formel 2-9) zeigten auch in anderen Experimenten ein eng an den Strömungsverlauf gekoppeltes Verhalten. Das bei den Versuchen mit den 200 nm großen fluoreszierenden Partikeln beobachtete Strömungsbild bestätigt die numerischen Simulationen der EHD-Strömung.

Die 3D-Elektroden eignen sich im Zusammenwirken mit den verwendeten Kanaldimensionen nur bedingt für eine Anreicherung nanometergroßer Partikel: Diese wurden hier nicht in den erzeugten EHD-Wirbeln, sondern an der Elektrodenoberfläche über den Effekt der pDEP akkumuliert. Offenkundig ist die Reibung der Wirbel an den Kanalwänden ein wichtiger Parameter für die Anreicherung nanometergroßer Partikel. Eine Filtration ließe sich erzielen, wenn die Kanalwände näher an den Elektroden und damit in der Nähe der Wirbel platziert wären und dadurch die Reibung der Wirbel an den Flüssigkeitsschichten am Rand vergrößert würde. Das sich bei den Versuchen ergebende Bild ist in Abbildung 4-20 zusammenfassend dargestellt. Bei Partikeln mit größeren Durchmessern zeigte sich die erwartete negativ dielektrophoretische Wirkung. Mikrometergroße Bakterien können demnach mit diesen 3D-Elektroden gefangen werden. Wie sich im Verlauf der Experimente zeigte, war eine Passivierung der planaren Zuleitungen zwingend erforderlich, um das Resultat nicht durch diese zu beeinflussen. Dies galt sowohl für die DEP- als auch die EHD-Manipulation.



Abb. 4-20: Skizze zur Lage und Orientierung der EHD-Wirbel (hellrot) an 3D-Elektroden (grau).

In dieser Arbeit wurden erstmals 3D-Elektroden für die EHD- und DEP-Manipulation eingesetzt. Die früheren Arbeiten zur Verwendung von 3D-Mikroelektroden beschränkten sich auf die Manipulation von Zellen mittels DEP [Fuhr 1999, Voldman 2003, Stuke 2005, Stuke 2007], die Herstellung von Spitzen für die scanning probe microscopy (SPM) [Kassing 2003] und die Erzeugung von Mikrostrukturen zur artifiziellen Induzierung photonischer Bandlücken [Wanke 1997]. 3D-Elektrodenstrukturen sind sowohl für DEP- als auch EHD-Manipulationen einsetzbar. Es muss jedoch aufgrund des erhöhten Herstellungsaufwands von Anwendung zu Anwendung abgewogen werden, ob der Einsatz solcher Elektroden nicht alternativ über planare Strukturen realisiert werden kann.

Diese Untersuchungen verdeutlichen die Abhängigkeit der Anreicherung bzw. Filtration von der

Geometrie des elektrischen Feldes und damit indirekt von der Elektrodenform. Die lokale Anreicherung endet unmittelbar mit dem Abschalten des elektrischen Feldes. Im Anschluss verteilen sich die Partikel diffusiv. Die lokal geringere Anreicherung nanometer-großer Partikel bei den Versuchen mit den 3D-Mikroelektroden deutet auf einen durch die Reibung der Flüssigkeit an der Kanalwand entstehenden Effekt. Dieser wird als Teetassenphänomen bezeichnet (4.2). Die durch die Reibung der Wirbel an den Kanalwänden entstehenden Sekundärströmungen, führen zu einer Anreicherung von Partikeln in den Wirbeln. Ansonsten müssten sich die Nanometerpartikel, deren Dichte sich häufig nur geringfügig von der des Trägermediums unterscheidet ($\rho_m/\rho_p \sim 0,95$), aus den Wirbeln heraus bewegen [Maxey 1983, Martin 1994, Lazaro 1992 a-b, Felten 2006]. Dieser Effekt ist geeignet die Diskrepanz zwischen der beobachteten Anreicherung von Viren/ nanometergroßen Partikeln und der Theorie zu erklären. Zudem lassen sich damit die Partikelbahnen in der Skizze der Abbildung 4-6 erklären.

Nach der Betrachtung des Einflusses struktureller Parameter der Elektroden auf die Filtration werden nun fluidische Parameter untersucht.

4.4 Variation fluidischer Parameter

Bei den folgenden Versuchen wurden Suspensionen 200 nm großer Modellpartikel aus PS in einer EHD-Filtereinheit untersucht. Dabei wurden die verwendeten Transportgeschwindigkeiten und die Partikeldichten (von $3 \cdot 10^{10}$ p / ml bis $3 \cdot 10^7$ p / ml) variiert und beobachtet, wie sich das Filterresultat veränderte.

Transportgeschwindigkeit

Der Einfluss der Transportgeschwindigkeit auf die Filtration wird am Beispiel einer Partikelsuspension mit einer Konzentration von $3 \cdot 10^8$ p / ml in einer NaCl-Lösung mit einer elektrischen Leitfähigkeit von 300 mS / m bei einer Spannung von $10 V_{pp}$ verdeutlicht. In der Grafik 4-21 ist das Filtrationsverhalten der EHD-Einheit bei Geschwindigkeiten von $10 \mu\text{m} / \text{s}$ bis $60 \mu\text{m} / \text{s}$ dargestellt. Der Volumenstrom bewegt sich somit zwischen $0,3 \mu\text{l} / \text{h}$ und $2 \mu\text{l} / \text{h}$.

Dem Verhalten des Messsignals lassen sich mehrere Ursachen zuordnen: Zunächst werden die Partikel am Detektionsfenster vorbeigeführt, nach dem Einschalten des elektrischen Feldes fällt

die Partikelzahl auf einen Minimalwert. Beim Abschalten erfolgt ein kurzer Anstieg, gefolgt von einem Abfall zurück auf den Ausgangswert. Eine grundlegende Tendenz ist die mit zunehmender Transportgeschwindigkeit verringerte Filtration. Die Partikel werden bei kleinen Transportgeschwindigkeiten von $10 \mu\text{m/s}$ effektiv zurückgehalten. Bei einer Geschwindigkeit von $60 \mu\text{m/s}$ und darüber kann auch mit einem Spannungswert von $10 V_{pp}$ kein vollständiger Rückhalt gewährleistet werden. Die Zahl der Partikel, die das Detektionsfenster passieren, steigt. Je höher die Geschwindigkeit ist, desto eher setzt die Filteraktivität aus (roter Pfeil, Abb. 4-21 D), d.h. die Zahl detektierter Partikel steigt, obwohl das elektrische Feld weiterhin aktiv ist. Die Partikelmenge pro Zeiteinheit steigt bei hohen Strömungsgeschwindigkeiten bis auf den Ausgangswert. Dies entspricht dem bereits in Kapitel 3.4 dargestellten *Überlaufen* der Filtereinheit. Ein Abtransport thermischer Energie durch die größeren Transportgeschwindigkeiten kann diese Beobachtungen nicht erklären. Zwar schwächt dieser Abtransport von thermischer Energie den EHD-Mechanismus, so wird etwa die Ausbildung des Temperaturgradienten und damit die Etablierung der Wirbel gestört, allerdings wird ein konvektiver Wärmetransport erst bei Werten von $120 \mu\text{m/s}$ erkennbar (4.6). Und erst ab $500 \mu\text{m/s}$ trägt er in einem mit der Wärmeleitung vergleichbaren Maß zum Wärmetransport bei (2.1). Vielmehr führt eine starke externe Strömung zu einer Verzerrung bis hin zur Ablösung der Wirbel vom Elektrodenfeld und stört damit die Rotation.

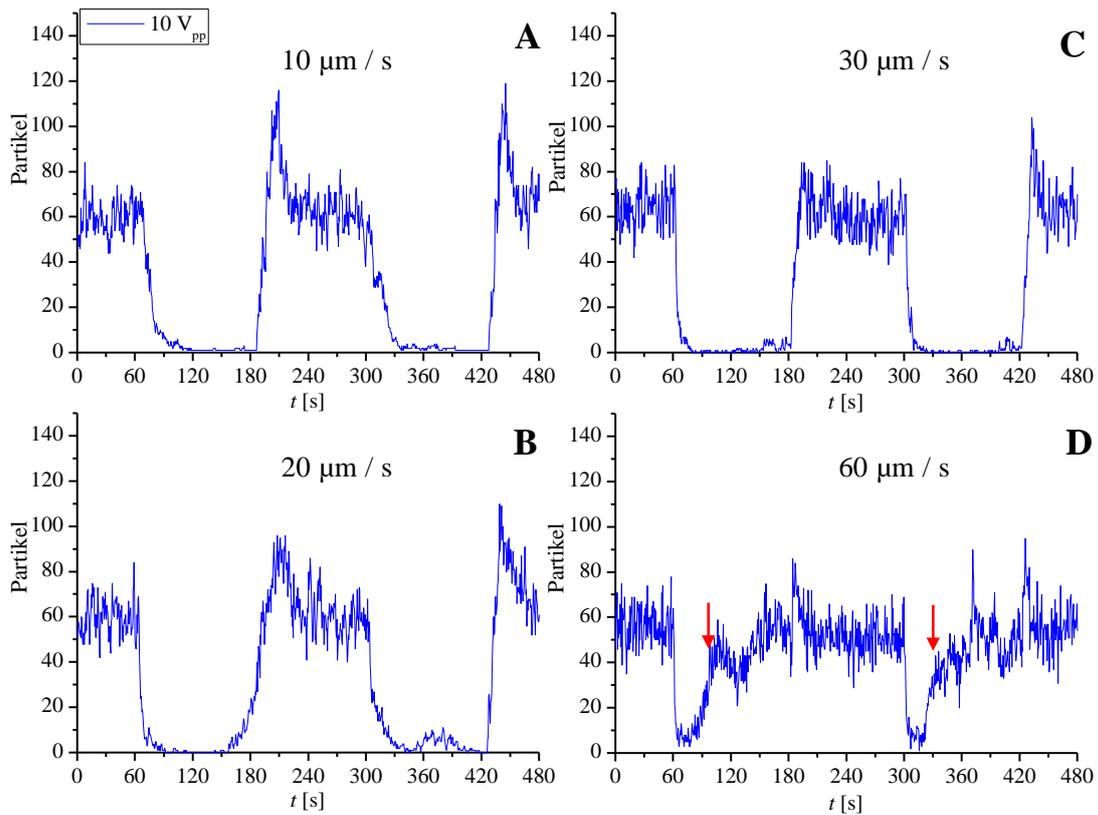


Abb. 4-21: Grafik zur Filtration bzw. Akkumulation bei $10 V_{pp}$ Spannung und verschiedenen Transportgeschwindigkeiten. Die Partikeldichte beträgt $3 \cdot 10^8$ p / ml. Die elektrische Leitfähigkeit wurde auf einen Wert von 300 mS / m eingestellt. Rote Pfeile: *Überlaufen* des Filters.

Transportgeschwindigkeiten von $60 \mu\text{m/s}$ führen daneben zu einer schnelleren Zufuhr von Partikeln, die die Kapazität der Filtereinheit schneller erschöpft. Die Kapazität der Filtereinheit ist durch die Größe der beiden Wirbel festgelegt. Dadurch ist sowohl für hohe externe Transportgeschwindigkeiten als auch für Suspensionen mit hohen Partikeldichten (siehe nächster Abschnitt) mit einer sinkenden Filtrationseffizienz zu rechnen.

Konzentration der Partikel

Die Wirksamkeit des Filtermechanismus wird, neben Parametern wie der Elektrodenform oder der Transportgeschwindigkeit, durch die Ausgangskonzentration der zu filtrierenden Suspension beeinflusst. Durch den Verzicht auf eine mechanische Barriere in unserem System ist bei hohen Konzentrationen eine Erschöpfung der Filterkapazität durch den ständigen Zustrom von Partikeln möglich. Das Resultat ist das *Überlaufen* der Filter. Anders als bei herkömmlichen Filtersystemen ist damit ein Verstopfen unmöglich.

Hier wurden Partikelsuspensionen von $3 \cdot 10^{10}$ p / ml bis hinunter zu $3 \cdot 10^7$ p / ml mit dem Filtersystem gehandhabt. Um einen unmittelbaren Vergleich der Filterresultate verschiedener Ausgangskonzentrationen zu ermöglichen, wurde die Darstellungsweise verändert und statt der bisher abgebildeten zeitlichen Entwicklung der Zahl der Partikel die errechnete Filtereffizienz aufgetragen.

Der Wert der Filtrationseffizienz η definiert sich wie folgt (Formel 4-1):

$$\eta = \frac{\eta_{in} - \eta_{out}}{\eta_{in}} \quad 4-1$$

Die Filtrationseffizienz ergibt sich aus dem Quotienten der Differenz der Partikel, die in den EHD-Filterbereich eintreten (η_{in}) und den Partikeln, die den Filter ungehindert passieren (η_{out}), sowie η_{in} .

Bei den Werten in Abbildung 4-22 handelt es sich um die nach dem Einschalten des Filters bestimmten Werte für η , die als Funktion der Spannung dargestellt wurden. Eine 100%-ige Filtereffizienz bedeutet, dass keine Partikel das Detektionsfenster passieren. Bei einer geringen Filtereffizienz bzw. ohne Filter passieren Partikel in Höhe der Ausgangskonzentration das Fenster, und es findet keine Anreicherung statt.

Wie in den Graphen zu sehen, ist bei geringeren Partikelkonzentrationen eine kleinere Spannung notwendig, um ein vergleichsweise hohes Filterresultat zu erreichen. Die Ursache hierfür liegt im durch die Wirbel vorgegebenen Fangvolumen. In einem begrenzten Volumen kann nur eine limitierte Anzahl Partikel gesammelt werden. Die Filter gelangen also weniger schnell an ihre Kapazitätsgrenze, und es zeigt sich eine hohe Filtereffizienz bereits bei kleinen Spannungen. Die Filtereffizienz ist auch bei geringen Ausgangskonzentrationen und hohen Transportgeschwindigkeiten von $60 \mu\text{m/s}$ deutlich größer. Ursache ist erneut die höhere Filterkapazität. Denn bei hohen Transportgeschwindigkeiten und hohen Konzentrationen wird diese neben der Zahl der Partikel vor allem durch den schnelleren Zustrom neuer Partikel erschöpft.

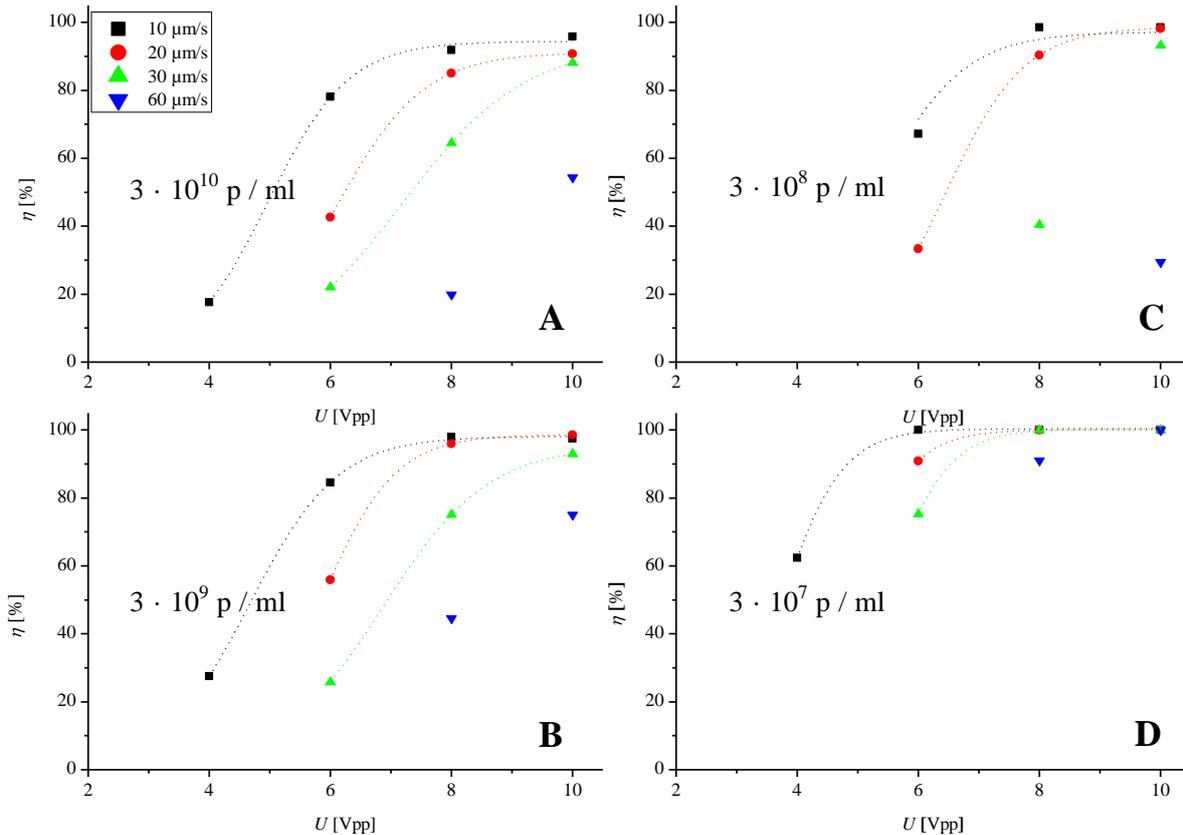


Abb. 4-22: Gegenüberstellung der Effizienz der Filtration bei verschiedenen Partikelkonzentrationen und Transportgeschwindigkeiten.

Wie zu erwarten, erhöhen kleinere Partikelkonzentrationen die Dauer der Einsatzbereitschaft der elektrischen Filter auch bei kleinen Spannungen. Ferner machen die vorliegenden Daten die gute Wirkung der EHD-Filter über einem breiten Konzentrationsbereich von vier Größenordnungen deutlich. Auch kleinere Konzentrationen als die hier getesteten sind, soweit absehbar, mit dem System handhabbar. Diese erfordern jedoch integrierende Detektionsmechanismen, denn bereits bei der Verwendung einer Konzentration von $3 \cdot 10^6$ p/ml passiert bei den verwendeten Kanal-dimensionen im Mittel weniger als ein Partikel pro Sekunde das Detektionsfenster.

Nach der Betrachtung des Einflusses zunächst geometrischer und fluidischer Parameter auf unsere Filter befasst sich der folgende Abschnitt mit den elektrischen Parametern Spannung, Frequenz und Phasenlage.

4.5 Variation elektrischer Parameter

Zu den elektrischen Größen mit Einfluss auf die Filtration von Nanometerpartikeln zählen von

außen steuerbare Parameter (Phasenverschiebung zwischen benachbarten Mikroelektroden, Spannung) und intrinsische Größen der Flüssigkeit (elektrische Leitfähigkeit, elektrische Permittivität). Der Einfluss der Permittivität auf die EHD-Bewegungen ist durch ihre geringe Temperaturabhängigkeit von -0,46% gegenüber dem der Leitfähigkeit vernachlässigbar.

Spannungsabhängigkeit

Vergleicht man die Filtrationswirkung in Abhängigkeit von der Spannung (Abb. 4-23), wird die Abhängigkeit der EHD-Kraft (Formel 2-20) von der Spannung deutlich, die für eine raschere Bewegung der beiden Wirbel verantwortlich ist. Die Abhängigkeit ergibt sich zum einen durch die Proportionalität der lokalen Temperaturänderung zum Quadrat der Feldstärke (Formel 2-17) und zum anderen durch die Proportionalität der EHD-Kraft zum Quadrat der Feldstärke sowie zum entstandenen Temperaturgradienten. Das Ergebnis ist eine mit steigender Spannung stärkere Filterwirkung. Die Abbildung zeigt experimentelle Ergebnisse zu diesen Überlegungen: Das Einsetzen der Filterwirkung ist ab Signalspannungen von $6 V_{pp}$ (rote Kurve) beim Einschalten des Feldes (60 s und 300 s) an einem Sinken der Partikelzahlen zu erkennen. Deutlich ausgeprägter ist das Filterergebnis bei Werten von $8 V_{pp}$ und $10 V_{pp}$.

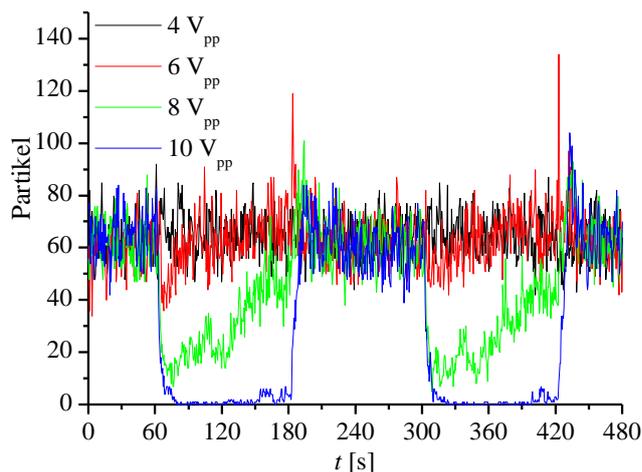


Abb. 4-23: Partikelmenge pro Zeiteinheit für verschiedene Spannungen bei einer Transportgeschwindigkeit von $30 \mu\text{m/s}$ und einer Partikelkonzentration von $3 \cdot 10^8 \text{ p/ml}$.

Nicht nur beim EHD-Filter, sondern auch bei EHD-Pumpen hat die Spannung starke Auswirkungen auf die lokale Geschwindigkeit [Felten 2006], da sie mit der vierten Potenz in diese eingeht [Castellanos 2003]. Die Rotationsgeschwindigkeit der Wirbel sollte damit bei höheren Spannungswerten deutlich größer sein. Die mit dieser quadratisch steigende Zentrifugalkraft sollte die Partikel aus den Wirbeln heraustreiben. Dem ist nicht so (Abb. 4-23). Die Erklärung liefert das bereits unter 4.3 vorgestellte Schichtenmodell: Mit höherer Wirbelgeschwindigkeit nimmt auch der resultierende Geschwindigkeitsgradient zwischen der Wirbelschicht und den

laminaren Wandbereichen zu. Die in Richtung der Wirbelachse gerichtete Druckkraft sorgt für eine stärkere Sekundärströmung und wirkt so dem Verlassen der Wirbel entgegen. Die Zahl der Partikel, die mit steigenden Spannungen angereichert werden können, wird dadurch erhöht.

Als weitere elektrische Parameter untersuchen wir nun unterschiedliche Leitfähigkeiten der Medien sowie verschiedene Signalfrequenzen.

Elektrische Leitfähigkeiten und Signalfrequenzen

Wie eingangs beschrieben, bestehen die Zielanwendungen der hier entwickelten Filter für Bakterien und Viren in verbesserten diagnostischen Geräten. Die darin zu verarbeitenden physiologischen Proben weisen eine vergleichsweise hohe elektrische Leitfähigkeit auf. Die Frequenz spielt demnach bei der Akkumulation von Partikeln eine untergeordnete Rolle (2.2). Es zeigt sich in den folgenden Ergebnissen, dass die elektrische Leitfähigkeit oder die Phasenlage einen größeren Einfluss auf das Filtrationsresultat haben.

In den folgenden Grafiken wurde die Anreicherung der Partikel entlang des Kanals (x) aufgetragen, gemessen als Grauwertdifferenz zwischen den Zuständen ohne bzw. mit Feld. Die Grauwertänderungen entsprechen den Intensitätsverschiebungen in Folge der lokalen An- bzw. Abreicherung fluoreszierender, 200 nm großer Partikel. Damit werden Anreicherungen lokal zuordenbar. Alle Versuche wurden ohne externe Strömung über einem Elektrodenfeld aus zwölf Elementen durchgeführt. Die Orientierung der bei der 4 Phasen-Ansteuerung wandernden, elektrischen Welle ist in allen Versuchen identisch und wird durch den hellblauen Pfeil in der ersten Grafik in Abbildung 4-24 verdeutlicht. Bis auf Medien mit geringen elektrischen Leitfähigkeiten von 10 mS / m sind die Orte der Akkumulation von Partikeln damit bei allen höher leitfähigen Medien nahezu identisch, und zwar unabhängig von den verwendeten Frequenzen (vgl. Abb. 4-24 für 300 mS / m bis 900 mS / m).

Bei kleiner elektrischer Leitfähigkeit von 10 mS / m und einer 4 Phasen-Ansteuerung (erste Grafik) ruft eine Frequenz von 18 MHz eine deutliche Partikelumverteilung hervor. Die Partikel sammeln sich links vor der Außenkante des Elektrodenfelds. Bei einer Frequenz von 780 kHz lagern sich die Partikel an den Elektrodenkanten an (schwarze Kurve erste Grafik und rote Pfeile). Hier zeigt die Kurve deutliche Grauwertzunahmen in Abständen von 10 μ m, was den Elekt-

rodenkanten entspricht, und eine ebenso deutliche Abnahme in den Arealen dazwischen (rote und blaue Pfeile). Diese Anlagerungen sind deutliche Hinweise auf pDEP.

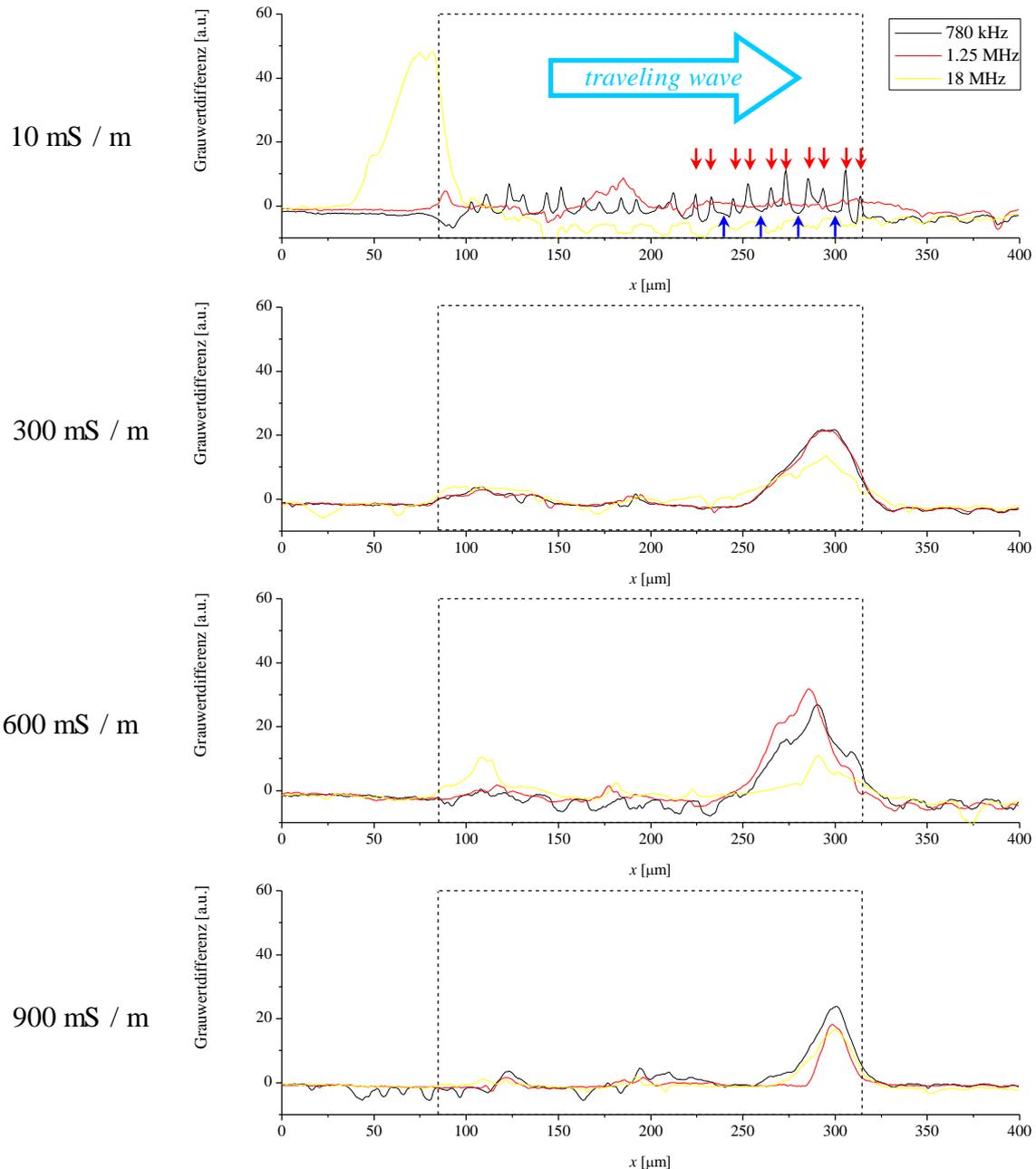


Abb. 4-24: Anreicherung 200 nm großer fluoreszierender Partikel über einem Feld aus zwölf Elektroden (Länge des Elektrodenfelds \sim gestrichelter Kasten) bei verschiedenen elektrischen Leitfähigkeiten. Die Phasenverschiebung betrug 90° und als Spannung wurden $8 V_{pp}$ verwendet.

Bei Versuchen mit Medien höherer elektrischer Leitfähigkeit, wie sie bei biologischen Proben auftreten, wurden nur geringfügige Unterschiede hinsichtlich der Anreicherung von Partikeln bei unterschiedlichen Frequenzen deutlich. Bei allen ist eine Positionierung zu erkennen, die auf die parallel zur wandernden elektrischen Welle (hellblauer Pfeil) orientierte Nettobewegung der

Flüssigkeit zurückzuführen ist. Somit sind die Positionen der lokalen Anreicherung gerade bei der 4 Phasen-Ansteuerung auch ein Resultat der EHD-Flüssigkeitsnettbewegung (siehe 4.3). Infolgedessen werden die Partikel vorrangig in einem begrenzten Areal angereichert. Dessen Position entspricht der Position eines der beiden Wirbel. Sie ist bei allen höher leitfähigen Medien identisch und befindet sich zwischen zwei Mikroelektroden (Grafik zwei, drei und vier). Weitere, schwächere Anreicherungspunkte liegen zwischen den Wirbeln und am anderen Ende des Elektrodenfeldes.

Das zweite Areal der Anreicherung ist bei der 2 Phasen-Ansteuerung deutlicher zu erkennen (Abb. 4-25). Der Grauwertunterschied an der (in Feldrichtung) ersten Elektrode ist kleiner als an der letzten. Beide Bereiche stimmen mit der Position der Wirbel überein. Anscheinend existiert auch bei dieser Ansteuerung eine leichte Nettobewegung der Flüssigkeit.

Wie in Kapitel 2.2 verdeutlicht, ist die Stärke der Wirbel nicht über den gesamten Frequenzbereich hinweg gleichmäßig verteilt. Die qualitative Aussage dieser und der folgenden Abbildung ist, dass Flüssigkeiten mit höherer elektrischer Leitfähigkeit bei 4 Phasen-Ansteuerung nur einen Bereich verstärkter Anreicherung haben. Bei der 2 Phasen-Ansteuerung bilden sich deutlich zwei Anreicherungsareale mit einem weiteren kleinerem in der Feldmitte aus (Abb. 4-25, violette Pfeile). Die Partikel befinden sich zum überwiegenden Anteil innerhalb der Wirbel. Im Vergleich der Anreicherung beider Ansteuerungsmodi ergibt sich durch den zweiten Anreicherungspunkt bei letzterer eine größere Zahl Partikel. Bei der 2 Phasen-Ansteuerung sind Anreicherungsareale erkennbar schmaler. Die Partikel wurden demnach auf kleinerem Raum als bei der 4 Phasen-Ansteuerung angereichert. Daraus ist zu schließen, dass die verantwortlichen Kräfte größer sind. Mit der Abhängigkeit der Zentrifugal- und Druckkräfte von der Rotationsgeschwindigkeit sind folglich auch die lokalen Geschwindigkeiten bei einer 2 Phasen-Ansteuerung größer.

Elektrische Leitfähigkeiten von 900 mS / m wurden für die 2 Phasen-Ansteuerung untersucht, konnten jedoch nicht ausgewertet werden. Aufgrund des erhöhten Wärmeeintrags wurden sowohl die verwendeten Polyesteren-Partikel als auch die Elektroden beschädigt.

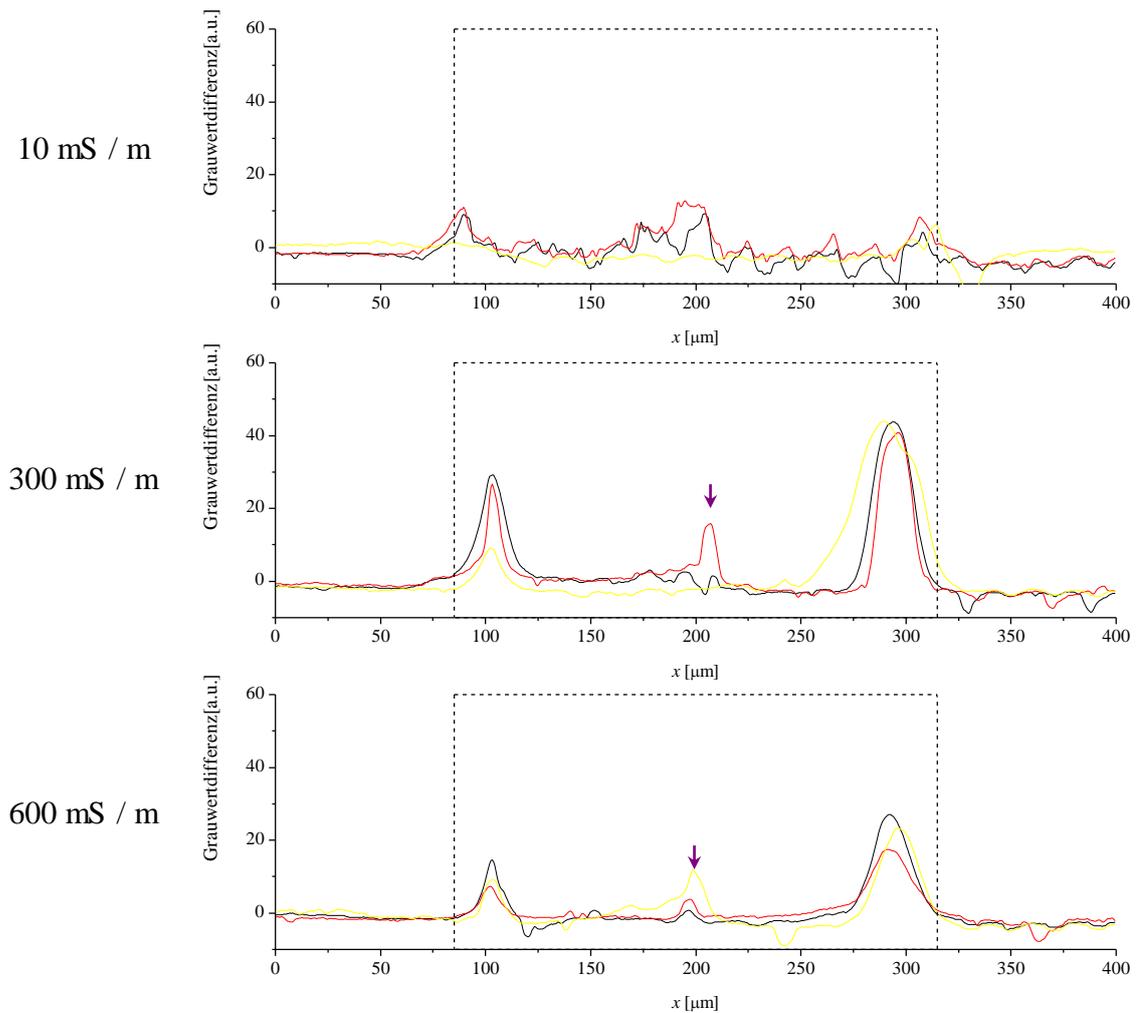


Abb. 4-25: Akkumulation bei einer Phasenverschiebung von 180° und elektrischen Leitfähigkeiten von 10 mS / m bis 600 mS / m . Ansonsten entsprechen die Parametersätze denen der Abbildung 4-24. Der violette Pfeil hebt ein weiteres kleines Akkumulationsareal hervor.

Die beiden Abbildungen verdeutlichen experimentell das numerisch vorhergesagte Auftreten von Wirbeln jeweils an den Enden eines Elektrodenfeldes [Stein 2008]. Es werden demnach auch bei der dreifachen Menge an Elektrodenelementen nur zwei Wirbel ausgebildet. Die Anreicherung 200 nm großer Partikel in diesen Versuchen widerspricht in Teilen dem von Felten vorgeschlagenem Modell, wie bereits die Versuche mit den biologischen Proben im Kapitel 4.2 zeigten [Felten 2006]. Dieses Modell besagt, dass die Anreicherung durch die DEP- und EHD-getriebenen Bewegungen zwischen den Wirbeln nahe der Kanaldecke stattfindet. Die 200 nm großen fluoreszierenden Partikel wurden jedoch in den beiden Wirbeln angereichert. Anderenfalls wären die Grauwertdifferenzen deutlich höher gewesen. Zwar treten vereinzelt Partikel zwi-

schen den EHD-Wirbeln auf, der größere Anteil jedoch wird bei höheren Leitfähigkeiten in den Wirbeln gefangen. Die elektrischen Leitfähigkeiten physiologischer Medien befinden sich im Regime der konduktiven EHD-Bewegungen, und es bilden sich zwei Wirbel über dem Elektrodenfeld. Dies kann mit der EHD-Kennzahl M (Kapitel 2.2) quantifiziert werden [Castellanos 2003, Koklu 2010].

Als letzte elektrische Einflußgröße der Filtration betrachten wir nun abschließend die Phase der Feldansteuerung.

Phasenlage und gerichteter Transport

Den Einfluß der Phasenlage auf die Verteilung der Partikel hatten wir oben bereits dargestellt. Hat sie einen darüber hinausgehenden Effekt auf die elektrische Filtration?

Zunächst bedeutet eine Phasenverschiebung von 180° (entspricht zwei Phasen) gegenüber einer Verschiebung von 90° (respektive vier Phasen) einen höheren Energieeintrag in das System, was im nächsten Abschnitt experimentell und numerisch ermittelter Temperaturverläufe noch genauer erörtert wird. Der Grund sind die doppelt so hohen Feldstärken. Dadurch ist mit höheren lokalen Geschwindigkeiten v zu rechnen, denn das Verhältnis von $v \sim U_{rms}^4$ gilt für sowohl das konduktive als auch das dielektrische Bewegungsregime [Castellanos 2003]. Die resultierenden Geschwindigkeiten sind beim letzten Regime jedoch um über die Hälfte kleiner. Bei physiologischen Medien tritt dies ohnehin erst bei Frequenzen im GHz-Bereich auf (Abb. 2-4). Die resultierenden Bewegungen sind bei einer 3 Phasen-Ansteuerung im Vergleich zu der mit vier Phasen nur schwach orientiert (vgl. vorheriger Abschnitt). Nur durch eine asymmetrische Gestaltung von Kanälen bzw. Elektrodenfeldern wird eine Nettoströmung mit dieser Ansteuerung möglich [Holtappels 2009, Chen 2007]. In Kombination mit den Resultaten des vorangegangenen Abschnitts ist bei zusätzlicher Verwendung einer externen Strömung bei einer 2 Phasen-Ansteuerung von einer größeren Filterwirkung auszugehen als bei vier Phasen.

In den vorangegangenen Abschnitten wurde die elektrische Filtereinheit experimentell charakterisiert, nämlich unter Variation struktureller, fluidischer und elektrischer Parameter. Im nächsten Kapitel erfolgt nun ihre numerische Untersuchung, und das Ergebnis wird den Messungen gegenübergestellt.

4.6 Numerische Charakterisierung der Filtereinheit

Die numerische Charakterisierung der EHD-Einheit erfolgt in zwei Teilen: Der erste befasst sich mit der Berechnung der Filtration. In Zusammenarbeit mit dem Fraunhofer-Institut für Techno – und Wirtschaftsmathematik (ITWM), Kaiserslautern, wurden die experimentelle und theoretische Filtrationseffizienz verglichen. Hierfür wurde eine Simulationssoftware des ITWM verwendet, die über die Einbeziehung partikulärer Wechselwirkungen in das Modell eine Quantifizierung ermöglichte und so den Vergleich mit den experimentellen Ergebnissen zuließ.

Der zweite Teil dieses Kapitels beschäftigt sich mit der thermischen Charakterisierung eines mikrofluidischen EHD-Filters aus vier Elektroden. Die Etablierung eines Temperaturgradienten ist ein grundlegender Bestandteil des für die Filtration verwendeten Mechanismus. Zur vergleichenden experimentellen Erfassung der Temperatur wurde hier aufgrund ihrer hohen Ortsauflösung die Fluorothermometrie eingesetzt. Die Messwerte aus diesen Versuchen wurden anschließend mit den in einem numerischen Modell ermittelten verglichen.

Numerische Bestimmung des Wirkungsgrades

Mit dem Programm des Fraunhofer-ITWM wurden sowohl die elektrischen Felder, das resultierende thermische Verhalten als auch die induzierten Bewegungen berechnet. Um die experimentellen Ergebnisse nachvollziehen zu können, wurde das Modell um einen Partikeleinstrom erweitert. Sämtliche Kenndaten unseres Systems einschließlich aller Randbedingungen wurden in das numerische Modellsystem übertragen. Auch die Art und Weise der Auswertung wurde für das numerische Modell übernommen: So wurde, wie bei den Experimenten, ein Detektionsfenster $140\ \mu\text{m}$ hinter dem Mikroelektrodenfeld platziert und anschließend die Fangeffizienz ermittelt.

In der Abbildung 4-26 sind exemplarisch drei Schritte der numerischen Simulation dargestellt: In der Grafik A) ist der Verlauf des Potentials in Grauwertdarstellung für eine 2 Phasen-Ansteuerung wiedergegeben. Die perspektivische Verzerrung erfüllt hierbei den Zweck eines besseren Überblicks. Zusätzlich ist die Flüssigkeitsbewegung als xy-Schnitt des Kanals unter den Elektroden in einer normierten vektoriellen Darstellung eingefügt. Abbildung B) verdeutlicht die Strömung in einer dreidimensionalen Stromliniendarstellung.

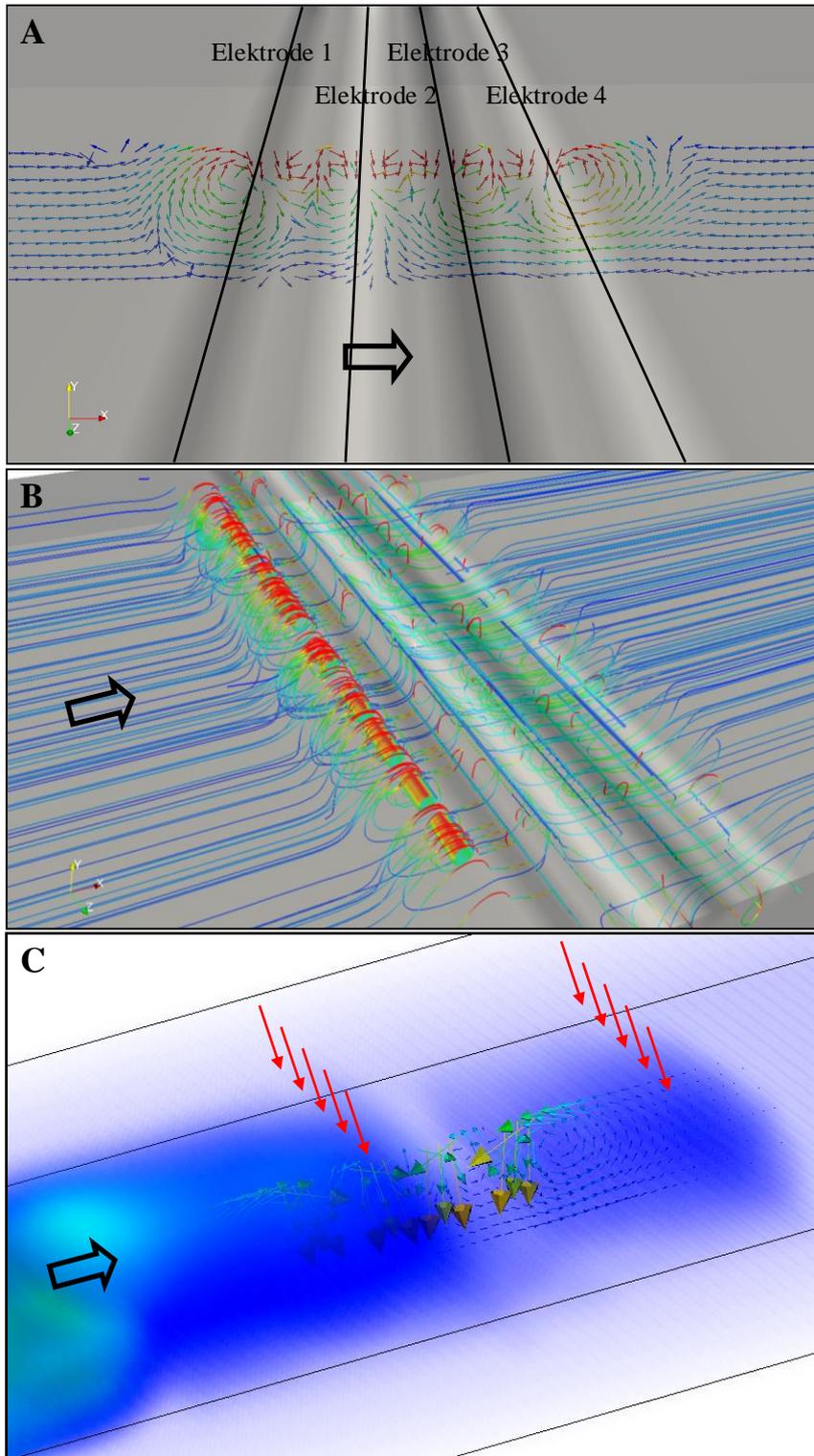


Abb. 4-26: Simulation A) In grau ist perspektivisch der Potentialverlauf über vier planaren und parallel orientierten Mikroelektroden (schwarze Linien) zu sehen. Ein 2D-Schnitt aus der xy-Ebene gibt mit Pfeilen die Flüssigkeitsbewegung im Kanal wieder. In Bild B) ist das 3D-Geschwindigkeitsfeld in Stromliniendarstellung abgebildet. Die Grafik C) zeigt die von links unten in den Kanal einströmenden Partikel als blaue Wolke, wobei die intensivere Einfärbung einer höheren lokalen Konzentration entspricht. Es ist zu erkennen, dass sich in der Simulation zwei Akkumulationspunkte für die Partikel ergeben (rote Pfeile). Für die Simulationen wurde von $10 \mu\text{m/s}$ Transportgeschwindigkeit mit einer Partikeldichte von $3 \cdot 10^8 \text{ p/ml}$ und 8 V_{pp} bei einer 2 Phasen-Ansteuerung ausgegangen. Die schwarzen Pfeile in den Bildern deuten die Richtung der externen Strömung an. Die Simulationen wurden mit der Software *ChoRheos* des Fraunhofer-ITWM erstellt. Mit freundlicher Genehmigung des Fraunhofer-ITWM.

Das Bild C) gibt einen Überblick über das Verhalten von Submikrometerpartikeln in einem elektrohydrodynamisch induzierten Geschwindigkeitsfeld. Die Partikel werden in den dunkleren Arealen in der Kanalmitte (rote Pfeile) lokal angereichert.

Die Abbildung 4-27 bestätigt diesen qualitativen Befund durch quantitative Gegenüberstellung

mit experimentellen Resultaten (Partikeldichte $3 \cdot 10^9$ p / ml). Aufgetragen wurde hier die spannungsabhängige Filtereffizienz für Transportgeschwindigkeiten von $10 \mu\text{m} / \text{s}$ bis $60 \mu\text{m} / \text{s}$.

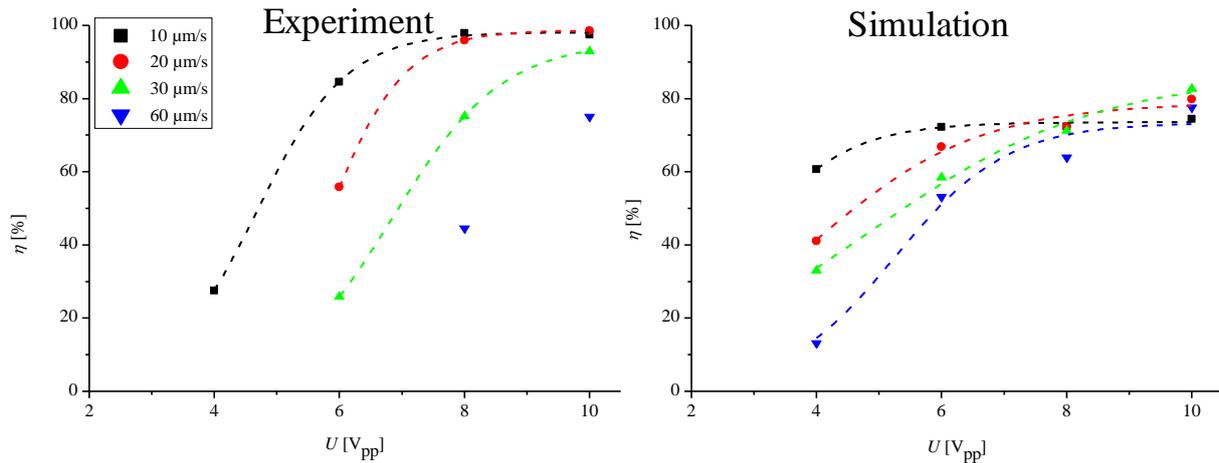


Abb. 4-27: Vergleich der Akkumulationsresultate zwischen Experimenten mit $3 \cdot 10^9$ p / ml und der Simulation. Es wurde eine Spannung von $8 V_{pp}$ und eine 2 Phasen-Ansteuerung verwendet.

Den Resultaten aus den Versuchen (links) stehen die aus der Simulation gewonnen (rechts) gegenüber. Im Vergleich der Grafiken ist eine Abweichung für alle Fließgeschwindigkeiten bei der Filtrationseffizienz erkennbar. Der Unterschied beträgt etwa 15% bis 25%. Diese Diskrepanz ist für den Plateauwert der Filtereffizienz η bei den beiden niedrigen Flussraten deutlich ausgeprägter. Das Modell erfasst die Realität nur begrenzt. Ihm fehlt offenkundig ein Detail zur korrekten Berechnung. Es könnte sich um die Vernachlässigung von Dichteunterschieden innerhalb der Flüssigkeit handeln, wie sie aus der Formel 2-10 für inkompressible Flüssigkeiten hervorgehen. Wie den beiden ersten Bildern der Abbildung 4-26 zu entnehmen ist, trifft dieser Unterschied bereits für die Form der Wirbel zu: Anders als in der Grafik B zu sehen, bilden sich in Abhängigkeit von der Leitfähigkeit und der Frequenz optisch detektierbar nur zwei Wirbel aus. Ferner liegen die Wirbel nicht vor dem Elektrodenfeld (Abb. 4-26 B), sondern unmittelbar darüber. Lediglich bei niedrig leitfähigen Medien und hohen Signalfrequenzen (> 5 MHz) wurde ein solches Strömungsverhalten beobachtet. Die Rotationsachsen der gegenläufig rotierenden Wirbel bei einem Elektrodenfeld aus vier Elektroden sind etwa mittig zwischen der ersten und zweiten sowie der dritten und vierten Elektrode lokalisiert.

Neben der mathematischen Beschreibung der Filtration dienen numerische Simulationen im speziellen zur Untersuchung der Temperatur über dem Elektrodenfeld. Dem widmet sich der folgende Abschnitt. Auch in diesem Fall wurden beobachtete Werte und Simulationen miteinander verglichen. Zur experimentellen Messung der lokalen Temperaturen über den Elektroden

kam hierbei die Fluorothermometrie zum Einsatz.

Numerische und experimentelle thermische Charakterisierung

Ein elementarer Grundbaustein des EHD-Flüssigkeitsantriebs besteht unter anderem in der Etablierung eines Temperaturgradienten [Melcher 1981, Felten 2006, Stubbe 2009, Holtappels 2009]. Sowohl die Position als auch die Stärke des Gradienten sind von Bedeutung.

Aus der Proportionalität des Energieeintrags zur elektrischen Leitfähigkeit des Mediums und zum Quadrat der elektrischen Feldstärke lässt sich erkennen, dass dieser bei Mikroelektrodensystemen auch bei kleinen Spannungen von wenigen Volt sehr ausgeprägt ist [Ramos 1998]. So ergeben sich etwa $50 \cdot 10^9 \text{ W} / \text{m}^3$ bei 10 V_{pp} über einen Elektrodenabstand von $10 \mu\text{m}$ hinweg (mittlere Feldstärke $4 \cdot 10^5 \text{ V} / \text{m}$), wenn die elektrische Leitfähigkeit $300 \text{ mS} / \text{m}$ beträgt. Bei einem Volumen über dem Elektrodenfeld von $6 \cdot 10^{-10} \text{ m}^3$ ergibt sich daraus eine lokale Heizleistung von 30 W . Diese wird durch die Flüssigkeit im Kanal, das Glas an der Kanaldecke sowie das Dünnglas am Kanalboden effektiv abgeleitet (Abbildung unten). Der Wärmeeintrag ist bei zwei um 180° in ihrer Phase verschobenen Signalen größer als bei vier phasenverschobenen Signalen, wie die folgenden numerischen Simulationen zeigen (Abb. 4-28). In der Abbildung ist auf der linken Seite das Resultat einer 4 Phasen- und auf der rechten Seite das einer 2 Phasen-Ansteuerung zu sehen. Ein wesentlicher Unterschied zwischen beiden ist die Lage der Temperaturmaxima in z -Richtung: So liegt der Extremwert bei einer 4 Phasen-Ansteuerung etwa bei $10 \mu\text{m}$ und damit in Höhe des Geschwindigkeitsmaximums [Felten 2006]. Die maximale Temperatur bei einer 2 Phasen-Ansteuerung liegt $5 \mu\text{m}$ über dem Elektrodenfeld (Position Maximalwerte, Abb. 4-28).

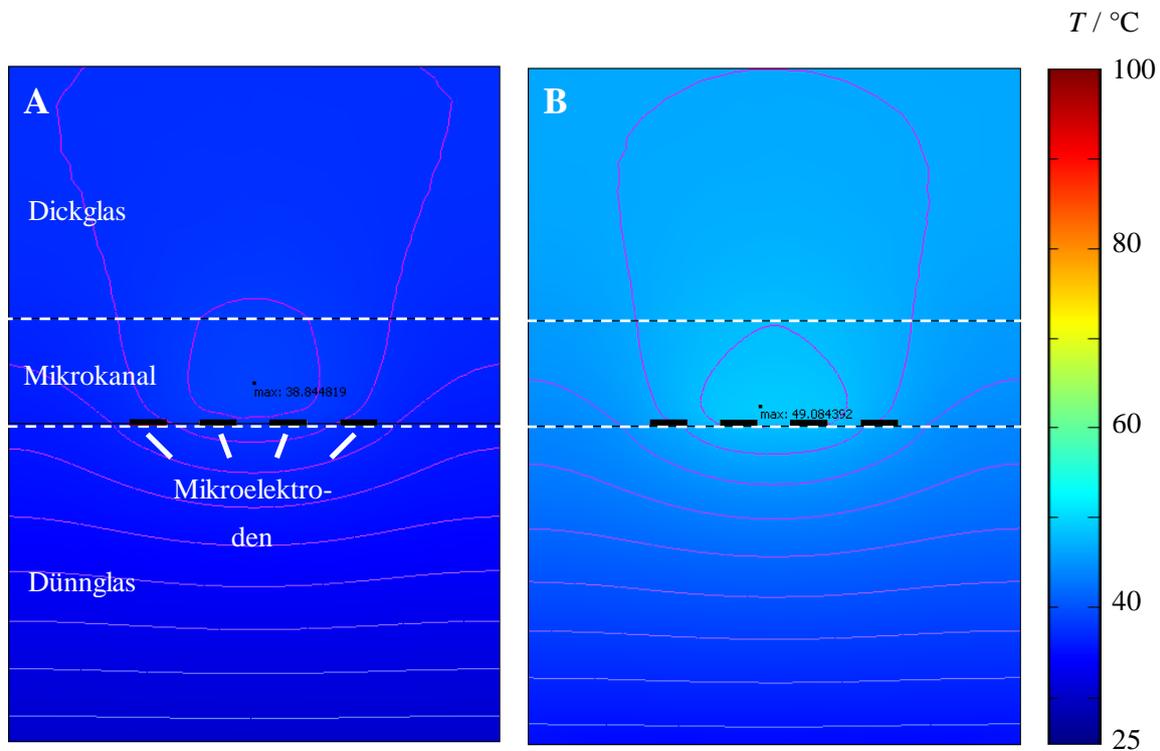


Abb. 4-28: Numerische Simulation der Temperaturfelder mit *Comsol Multiphysics*. Temperatur im Kanalausschnitt bei Applikation einer Spannung in einem Medium mit 300 mS / m. A) vier Phasen 1 MHz und 10 V_{pp} und B) zwei phasenverschobene Signale.

Eine Verschiebung um wenige Mikrometer in Richtung der Kanaldecke ergibt sich bei Verwendung von PDMS als Deckenmaterial durch die im Vergleich zum Glas veränderten thermischen Kennwerte des Materials (hier nicht gezeigt). So ist die thermische Leitfähigkeit von Glas 8-mal größer, wohingegen seine Wärmekapazität etwa halb so groß ist (3.7).

Für die Simulationen wurde an den jeweiligen Außenkanten der Gläser von einer konstanten Temperatur von 25 °C ausgegangen. An der Unterseite der Kanäle, die aus einem 170 µm starken Dünnglas besteht, wird bei beiden Systemen die Temperatur effektiv abgeleitet. Das zeigt die bereits wenige Mikrometer unterhalb des Kanals verlaufende dunkelblaue Färbung, die annähernd der Umgebungstemperatur entspricht. An der Oberseite wird die Temperatur durch die Dicke des Materials weniger gut abgeleitet. Auf diese Weise wird der entstehende Temperaturgradient lokal stabilisiert. Bei den Simulationen wurde der konvektive Wärmetransport vernachlässigt. Dies ist gerechtfertigt, weil die thermischen Zeitkonstanten für die Wärmeleitung jene für konvektive Mechanismen deutlich unterschreiten [Ramos 1998]. Die Zeitkonstante für die Wärmeleitung kann ausgedrückt werden durch die thermischen Parameter für Wasser: der thermischen Leitfähigkeit $\lambda = 0,598 \text{ W / K} \cdot \text{m}$, der spezifischen Wärmekapazität $c_p = 4184 \text{ J / kg} \cdot \text{K}$,

der Dichte $\rho = 998 \text{ kg/m}^3$ und der charakteristischen Länge $L = 300 \cdot 10^{-6} \text{ m}$, die der Breite unseres Elektrodenfeldes entspricht (y-Richtung).

$$\tau = \frac{\rho c_p L^2}{\lambda} \quad 4-2$$

Für unser System beträgt die charakteristische Zeit $\tau \approx 0,6 \text{ s}$ (Formel 4-2). Das bedeutet, bereits 600 ms nach dem Einschalten des elektrischen Feldes ist durch die auf diesen Skalen effektive Wärmeleitung der induzierte Temperaturgradient stabil. Für die experimentellen Untersuchungen wurden, wie in Kapitel 3 beschrieben, vier parallele und planare Elektrodenelemente an der Decke eines Glas-Verbund-Kanals (TW-Chip) verwendet (Abb. 4-29). In der Abbildung sind die Einzelelektroden mittig am oberen Bildrand erkennbar. Bei den Versuchen wurden die beiden Steuerungsmodi vier Phasen bzw. zwei Phasen verwendet. Die hellblauen Areale stehen für im Vergleich zu den Ausgangswerten wärmere Bereiche in der Flüssigkeit. Diese treten im Bereich unmittelbar unter den Elektroden auf. Erwartungsgemäß fällt die Änderung bei höheren Spannungen höher aus (Abb. 4-30). Auch zwischen den Ansteuerungsmodi sind Unterschiede zu erkennen, besonders deutlich in den Linienprofilen in Abbildung 4-30.

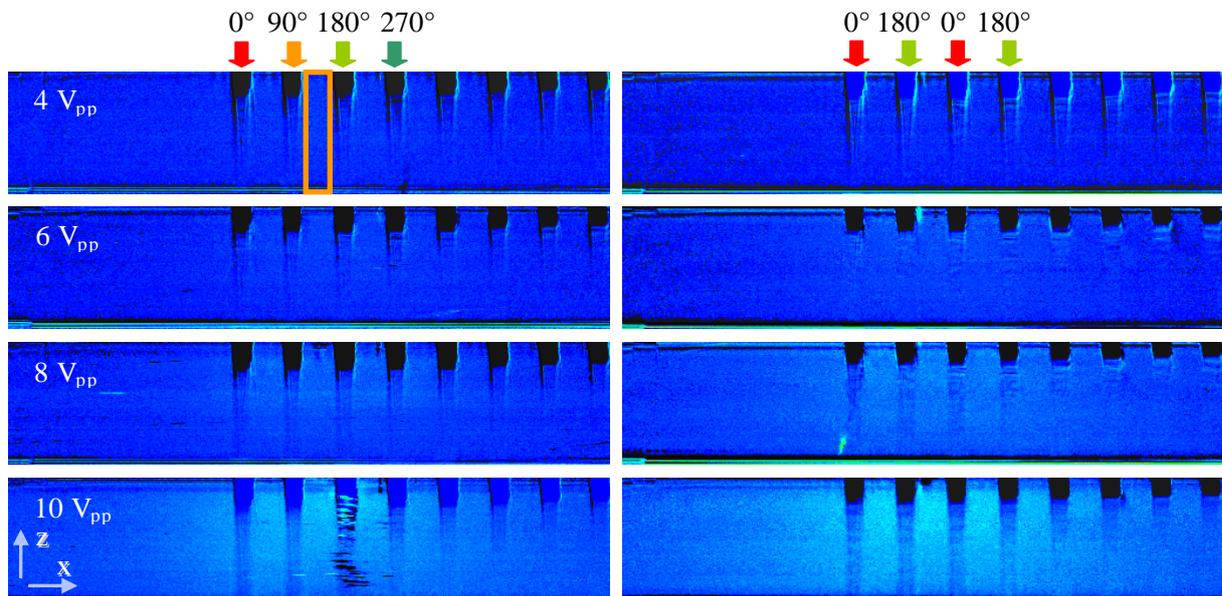


Abb. 4-29: Fluorothermometrie für eine 4 Phasen- (links) und 2 Phasen-Ansteuerung (rechts). Farblich kodiert ist die Änderung der Temperatur als Folge der Einwirkung des elektrischen Feldes. Tiefblaue Areale stehen für keine erfassbare Änderung und blau-grüne Areale deuten auf eine Erwärmung hin. Für einen Vergleich wurden alle Bilder mit einer Farbtabelle kodiert. Die Höhe der Abbildungen entspricht der Kanalhöhe von $30 \mu\text{m}$. Die Elektroden haben eine Breite von $10 \mu\text{m}$ und einen identischen Abstand. Die Pfeile deuten auf die verwendeten Elektroden. Die Mittelwerte der Intensitäten aus dem orangefarbenen Fenster wurden für die Linienprofile in den beiden folgenden Grafiken verwendet.

Die Grafiken in Abbildung 4-30 zeigen die Mittelwerte der Datenpunkte in x-Richtung aus den

orangefarbenen Fenstern in der Abbildung 4-29. Die rechte Seite der abgebildeten Kurven entspricht dem Bereich unmittelbar an den Elektroden und die linke Seite der Änderung der Temperatur dem den Elektroden gegenüberliegenden Kanalboden. Der deutliche Abfall der Änderung der Temperatur in der Nähe des Bodens ist das Resultat des Temperatursprunges im Übergangsbereich von der Flüssigkeit zum Glas. Die Unterschiede in der Höhe der Temperaturänderung werden bei höheren Spannungen von $8 V_{pp}$ und $10 V_{pp}$ deutlicher.

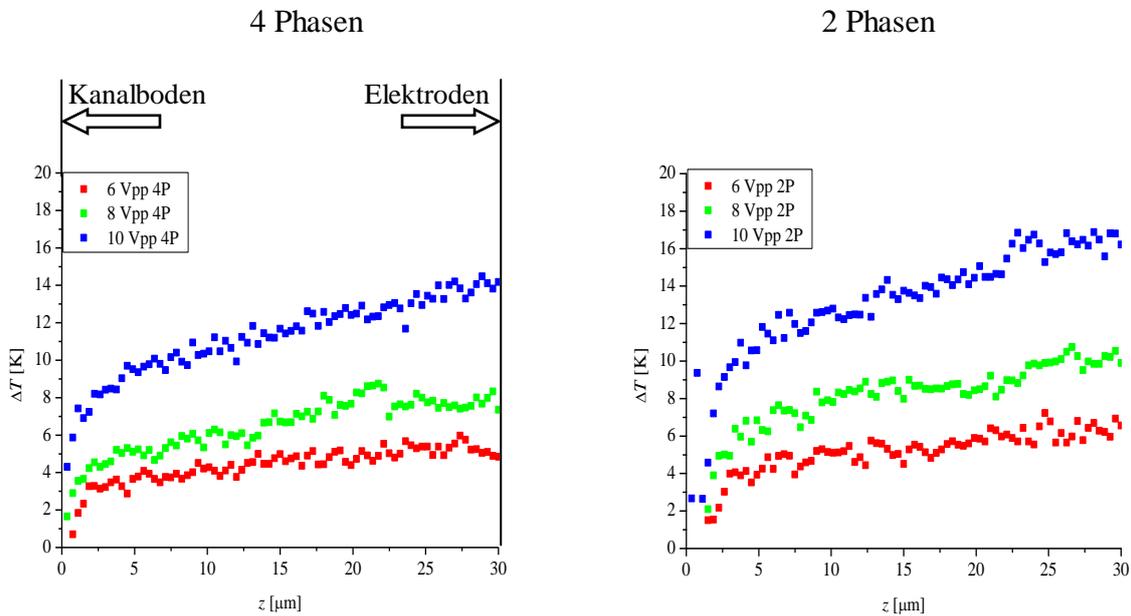


Abb. 4-30: Resultate der Fluorothermometrie. Die Kurven wurden aus Linienprofilen entlang der Kanalhöhe gewonnen. Für jeden Punkt wurde der Mittelwert aus Punkten in der entsprechenden Höhe z gebildet. Dazu wurden die Bildpunkte des in Abbildung 4-29 orange hervorgehobenen Fensters verwendet.

Damit ergeben sich aus der Messung für die Kanalmitte folgende Werte für die lokalen Änderungen der Temperatur bei einer Frequenz von 1,25 MHz und diversen Spannungen:

Tab. 4-1: Änderung der Temperatur bei verschiedenen Phasen-Ansteuerungen. Werte 10 μm über den Mikroelektroden.

| | $\Delta T / \text{K}$ | |
|-------------------------------|-----------------------|----------|
| | 4 Phasen | 2 Phasen |
| 10 V_{pp} | 11,4 | 13,6 |
| 8 V_{pp} | 6,6 | 8,3 |
| 6 V_{pp} | 4,5 | 5,3 |

Es ergeben sich für die Änderung der Temperatur bei den beiden Ansteuerungen Unterschiede von bis zu 20%. Diese beobachteten Temperaturverschiebungen passen gut zu den in numerischen Simulationen errechneten Werten von 14,95 K für eine Spannung von $10 V_{pp}$, eine Frequenz von 1,25 MHz und eine Phasenverschiebung von 180° [Boettcher 2011].

Die nachfolgende Abbildung 4-31 verdeutlicht, wie sich die Änderung der Temperatur bei zunehmender externer Strömungsgeschwindigkeit verhält. Dargestellt sind die Temperaturänderungen ohne zusätzliche Strömung, bei $60 \mu\text{m/s}$ und $120 \mu\text{m/s}$. Für die Versuche wurde eine 2 Phasen-Ansteuerung und eine Spannung von $10 V_{pp}$ bei $1,25 \text{ MHz}$ Signalfrequenz verwendet.

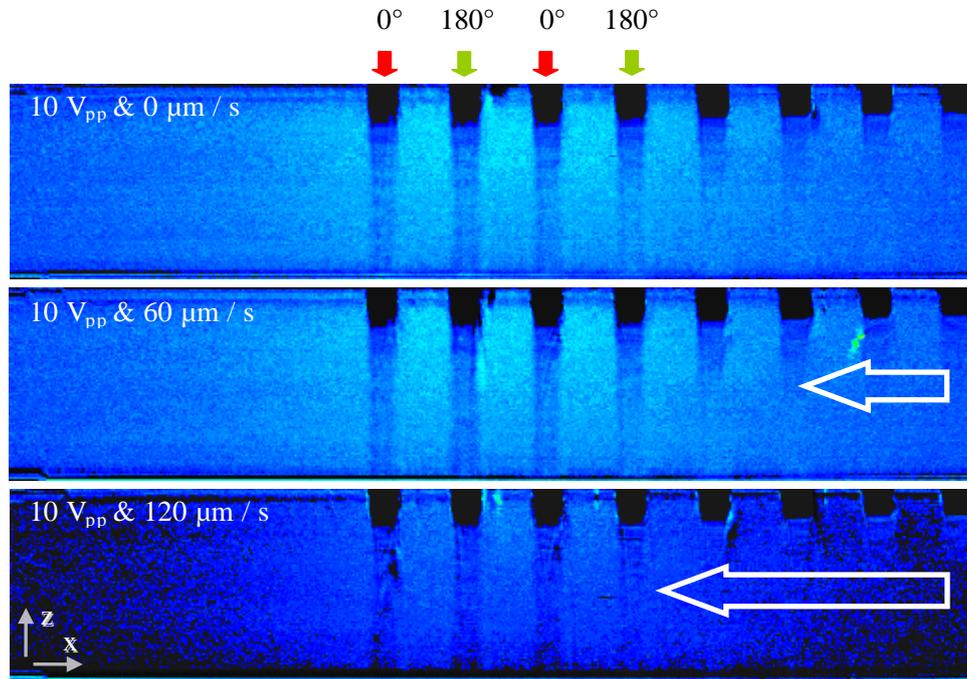


Abb. 4-31: Resultate der Fluorothermometrie bei zusätzlicher externer Strömung mit Geschwindigkeiten von $60 \mu\text{m/s}$ und $120 \mu\text{m/s}$. Die weißen Pfeile deuten die Richtung der externen Strömung an. Die Pfeile am oberen Rand heben die aktiven Elektroden mit ihren Phasenlagen hervor. Die Kanalhöhe beträgt $30 \mu\text{m}$ und die Breite der Elektroden $10 \mu\text{m}$.

Die externe Strömung resultiert bei einer Geschwindigkeit von $120 \mu\text{m/s}$ in einem signifikanten Abfall der Fluoreszenzintensität. Diese Verdopplung der Strömungsgeschwindigkeit reduziert die Temperaturänderung im gleichen Maße wie eine um 40% reduzierte Spannung.

Die Abbildung 4-32 zeigt die Entwicklung der lokalen Intensitäten bei unterschiedlich schnellen externen Flüssigkeitsströmungen als Linienprofile.

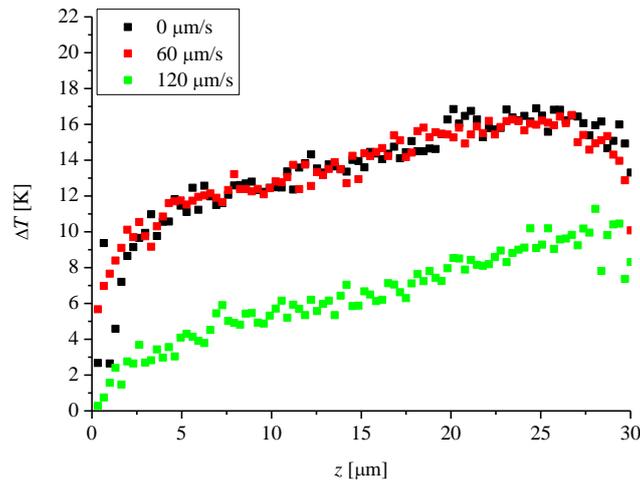


Abb. 4-32: Wirkung einer externen Strömung auf den Temperaturgradienten in der Mikrofluidik.

Jede Steigerung der Flussrate führt neben der Wärmeleitung zu einer konvektiven Dissipation von Wärme, was die EHD-Kraft reduziert, die auf dem Temperaturgradienten aufbaut. Wir hatten bereits zu Beginn dieses Abschnittes die kurzen Zeitskalen, die das System für eine Dissipation per Wärmeleitung benötigt, rechnerisch abgeschätzt. Erst ab Strömungsgeschwindigkeiten von über $500 \mu\text{m/s}$ herrscht, in einem derartigen System ein Gleichgewicht zwischen konvektiver und konduktiver Dissipation [Jaeger 2005]. Erst wenn die externe Strömung diese Geschwindigkeit übersteigt, übertrifft der Abtransport von Wärme per Strömung denjenigen per Wärmeleitung. Die hier verwendeten Strömungsgeschwindigkeiten reduzieren die Temperaturänderung, jedoch bildet sich weiterhin ein stabiler Gradient aus.

Hiermit beenden wir die Untersuchungen zur systematischen Beeinflussung der EHD-Filtration. In den folgenden, letzten Abschnitten wenden wir uns alternativen Anwendungskonzepten für den Einsatz elektrohydrodynamischer und dielektrophoretischer Prinzipien neben dem Filterbetrieb zu.

4.7 Mischen mit EHD-Wirbeln

Das Prinzip der elektrohydrodynamisch induzierten Strömung von Flüssigkeiten wurde ursprünglich zum Pumpen ohne bewegliche Teile entwickelt. Dazu ist es weniger geeignet, da – insbesondere bei physiologischen, höheren Leitfähigkeiten – in Elektrodennähe Wirbel auftreten, die die Effizienz des Nettoflusses mindern. Diese Wirbel sind, wie hier gezeigt, von großem Nutzen zur Filtration von Bakterien und Viren sowie zu deren lokaler Anreicherung zum Zwecke

einer empfindlicheren Diagnostik. Dieses Kapitel beschreibt eine weitere Anwendung: das Mischen zweier laminarer Flüssigkeitsströme.

Unter laminaren Strömungsbedingungen, also kleinen *Re*-Zahlen, vermischen sich Flüssigkeiten ausschließlich durch Diffusion, da Turbulenzen fehlen. Die Diffusion ist aufgrund ihrer quadratischen Abnahme mit der zu überwindenden Strecke nur auf kurze Entfernungen effektiv. Das Mischen zweier Flüssigkeiten ist daher in Mikrosystemen häufig überraschend schwierig.

Zu den publizierten Lösungsansätzen gehören Fischgrätenmischer, die durch geeignete Auslegung der Kanäle die Flüssigkeitsschichten aufteilen und versetzt wieder zusammenführen (vergleichbar Damaszenerstahl) [Stroock 2002], und *Dean-Flow*-Mischer, die die Beschleunigung in gekrümmten Kanälen nutzen [Mouza 2008]. Beide verwenden von der Kanalstruktur induzierte sekundäre Flüssigkeitsbewegungen und haben den gleichen Nachteil; der großen Kanallänge und dem somit benötigten Probenvolumen. Sonderformen von Mikromischern stellen aktive Systeme dar, bei denen die Durchmischung über in einem variierenden Kraftfeld bewegliche Teile erzielt wird. Beispiele sind der Dipmischer [Jaeger 2005] oder der Zilienmischer [Baltussen 2009].

Der Einsatz des EHD-Prinzips erlaubt das Mischen ohne bewegliche Teile auf einer kurzen Kanallänge. Ein *TW*-Chip wurde eingesetzt durch den parallel zueinander zwei Ströme gepumpt wurden. Für das Mischen wurden vier Mikroelektroden eingesetzt, die nach demselben Prinzip wie die Filterelemente betrieben wurden. Solange die Elektroden in Betrieb waren, fand eine Durchmischung statt.

In der folgenden Abbildung sind die Resultate von Mischversuchen dieser zwei laminaren Ströme bei einer 2 Phasen- und bei einer 4 Phasen-Ansteuerung zu sehen. Die Abbildung 4-33 zeigt die Durchmischung für die beiden Ansteuerungsmethoden.

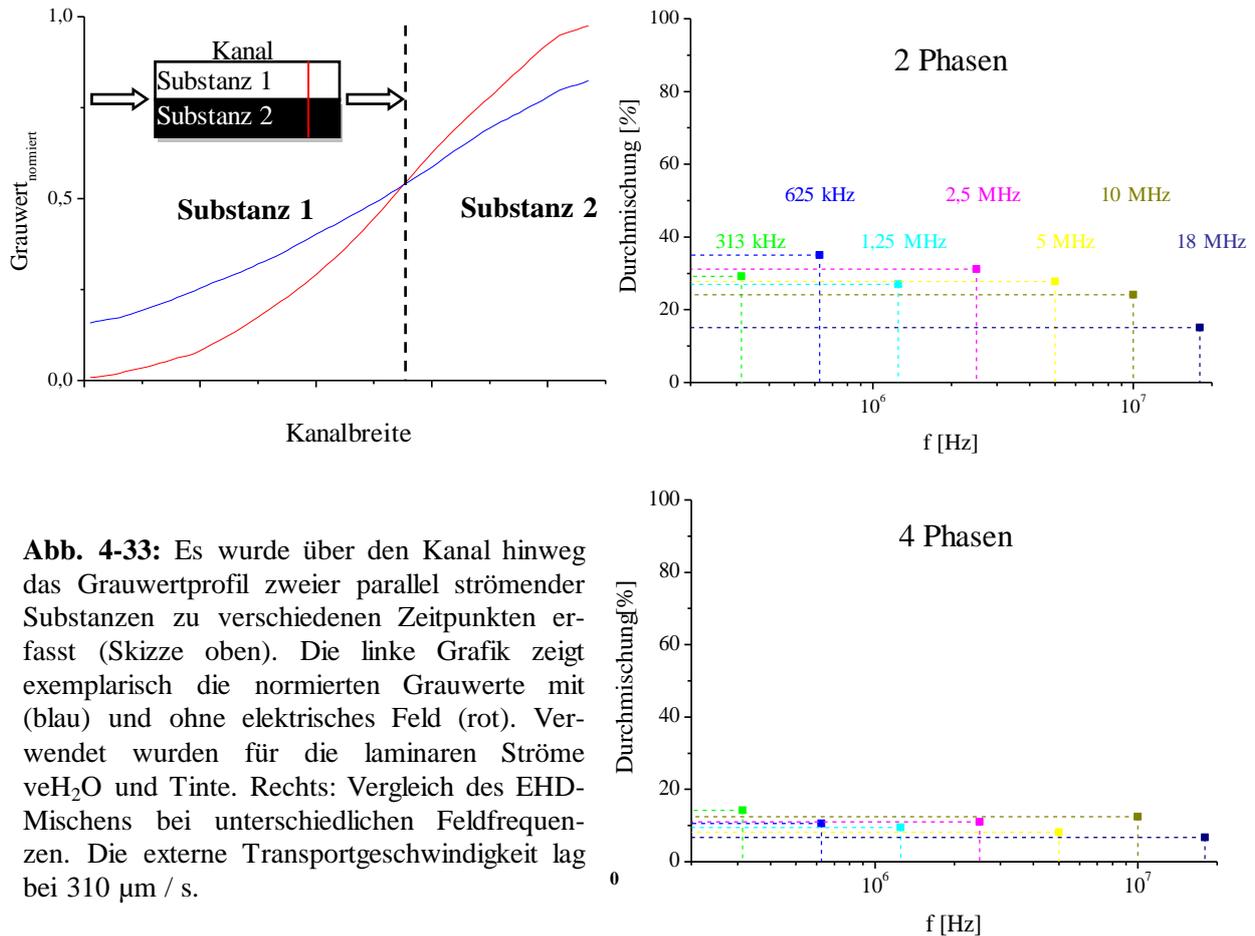


Abb. 4-33: Es wurde über den Kanal hinweg das Grauwertprofil zweier parallel strömender Substanzen zu verschiedenen Zeitpunkten erfasst (Skizze oben). Die linke Grafik zeigt exemplarisch die normierten Grauwerte mit (blau) und ohne elektrisches Feld (rot). Verwendet wurden für die laminaren Ströme veH_2O und Tinte. Rechts: Vergleich des EHD-Mischens bei unterschiedlichen Feldfrequenzen. Die externe Transportgeschwindigkeit lag bei $310 \mu\text{m} / \text{s}$.

$$\text{Durchmischung} = \frac{SD_{\text{ohneFeld}} - SD_{\text{mitFeld}}}{SD_{\text{ohneFeld}}} 100\% \quad 4-3$$

Erfasst wurden die Grauwertlinienprofile in einem Bereich $140 \mu\text{m}$ hinter dem Elektrodenfeld bei verschiedenen Feldfrequenzen. Hierfür wurde jeweils die Standardabweichung eines Profils bei einer Frequenz (SD_{mitFeld}) ermittelt und zu derjenigen ohne Feldeinwirkung (SD_{ohneFeld}) ins Verhältnis gesetzt (Formel 4-3). Letztere ist bei zwei laminaren, ungemischten Strömen maximal und beträgt 0,5. Mit zunehmender Durchmischung bei aktivem elektrischem Feld sinkt der Wert von SD_{mitFeld} . Bei einem optimalen Kontrast zwischen den parallelen Strömen und wenn das elektrische Feld nicht aktiv ist, liegen die Werte für die Durchmischung nach der Formel 4-3 bei 0%. Je näher man der vollständigen Durchmischung kommt, desto größer der Wert. Bei den Versuchen wurden 12 V_{pp} Spannung und verschiedene Feldfrequenzen eingesetzt. Die Ansteuerung mit zwei phasenverschobenen Signalen ergibt eine deutlich effektivere Durchmischung als mit vier Phasen. In beiden Ansteuerungsmodi werden die Ströme bei 18 MHz wenig durchmischt: Hier liegt die Durchmischung bei einer 4 Phasen-Ansteuerung bei 6%, während sie bei einer 2 Phasen-Ansteuerung einen doppelt so hohen Wert erreicht. Das beste Ergebnis wird bei einer 2 Phasen-Ansteuerung und einer Signalfrequenz von 625 kHz erzielt.

Vergleicht man die Resultate mit Literaturwerten wie dem Fischgrätenmischer [Stroock 2002], zeigt sich, dass unser EHD-System bereits auf kurzen Strecken eine deutlich bessere Wirkung aufweist: So wird im EHD-Mischer bereits nach 70 μm (Elektrodenfeld mit vier Elementen) eine Durchmischung von 35% erreicht. Der Fischgrätenmischer erreicht diesen Wert erst nach der 34fachen Wegstrecke ($\sim 2,4$ mm) [Stroock 2002]. Eine vollständige Durchmischung zweier laminarer Ströme könnte im EHD-Mischer theoretisch bereits nach 210 μm erreicht werden. Drei Punkte stehen dieser einfachen Exploration entgegen: 1) Die Durchmischung erfolgt aufgrund der Wirbel an den Rändern der Elektrodenfelder. Eine Verlängerung des Elektrodenfeldes wäre demnach nicht zielführend. Es müssten stattdessen mehr als ein Elektrodenfeld verwendet werden. 2) Durch die produzierte Wärme würden beim Anordnen dreier EHD-Mischer in einem Kanal möglicherweise schädliche Temperaturen entstehen. 3) Durch die Temperaturentwicklung ist diese Mischmethode für thermosensitive Substanzen bedingt geeignet. Die letzten beiden Punkte betreffen vor allem elektrisch höher leitfähige Flüssigkeiten. Alternativ wären für ein EHD-Mischersystem eine externe Kühlung über Peltierelemente und die Verwendung von Materialien mit höherer thermischer Leitfähigkeit und auf die Wärmeableitung hin optimierten Abmessungen sinnvoll.

4.8 Dislokalisierung der DEP-Feldminima

Die Bewegung kleiner Aggregate aus Mikro- bzw. Nanopartikeln kann über Mechanismen der DEP realisiert werden. Der *Stokes*-Reibung der Partikel wird hierzu eine identisch große DEP-Kraft entgegengesetzt. Mit Hilfe einer lokalen Erhöhung bzw. Senkung der Spannung und damit der Feldstärke zwischen einzelnen Elektrodenpaaren können Partikel oder -aggregate gezielt zwischen den Elektroden verschoben werden. Die Ansteuerung der Elektroden wird über ein Skript realisiert, das dem Generator Schaltzyklen und Spannungswerte für die einzelnen Elektroden vorgibt. Die resultierende Verlagerung oder Dislokalisierung der Feldminima wurde ursprünglich für die wesentlich aufwendigeren und daher weniger anwendungsnahen Feldkäfige beschrieben [Jaeger 2005].

Wir nutzten in dieser Arbeit ein Elektrodenfeld aus freistehenden dreidimensionalen Mikroelektroden [Stuke 2005, Stuke 2007]. Die Elektroden bestanden aus zwei übereinander stehenden Toren. Bei den Versuchen wurden zunächst Aggregate aus 2 μm großen Partikeln akkumuliert.

Diese wurden auf einer Ebene lateral bewegt, indem die Betriebsspannung einer Elektrode reduziert und diese Spannungsreduktion von einer Elektrode zur jeweils benachbarten weitergeschaltet wurde.

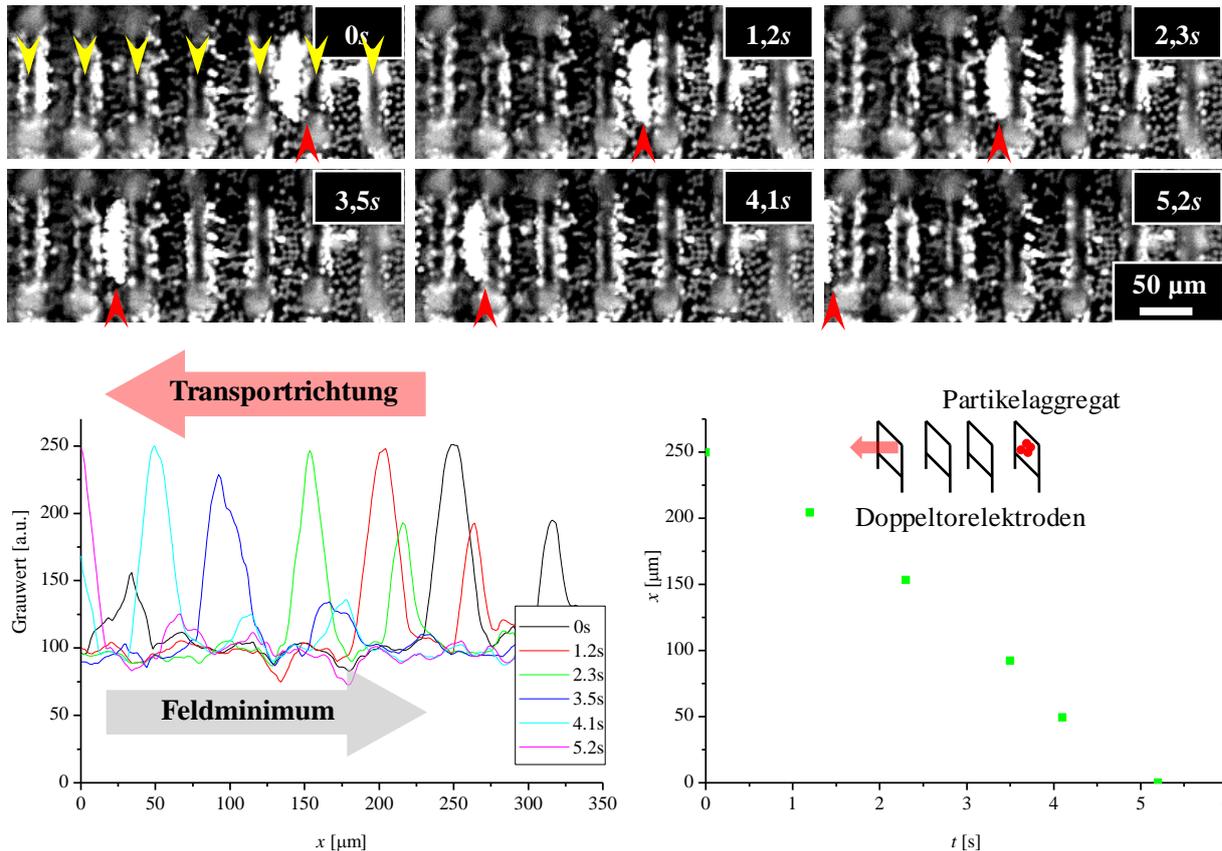


Abb. 4-34: Transport eines Partikelaggregates (rote Spitze) durch die Öffnungen von Doppeltorelektroden (gelbe Pfeile) (Elektroden MPI für biophysikalische Chemie). Die aus der Verschiebung resultierende Transportgeschwindigkeit hat einen Wert von $48 \mu\text{m/s}$. Während sich das Feldminimum von links nach rechts bewegt, wird das Aggregat von rechts nach links verschoben. Das Paket eilt bei jedem Durchgang dem Feldminimum einen Schritt entgegen.

In der Bildersequenz der Abbildung 4-34 ist die Aggregatposition (rote Spitze) innerhalb eines Elektrodenfeldes aus sieben Doppeltorelementen (gelbe Pfeile, erstes Bild) in der Aufsicht dargestellt. Das Partikelaggregat wird von rechts nach links durch das Elektrodenfeld transportiert. Die Spannung einer Elektrode wurde dazu für die Dauer von 200 ms von $15 V_{pp}$ auf $1 V_{pp}$ gesenkt. Das Aggregat weicht aufgrund negativer DEP vom Ort der hohen zum Ort der niedrigeren Feldstärke aus. Die Partikel folgen der Verschiebung des Feldminimums nicht komplett und werden bei jedem Durchgang des Feldminimums von links nach rechts in entgegengesetzter Richtung um eine Elektrode verschoben. Bei kürzeren Schaltzeiten verharrte das Aggregat bis auf eine Pendelbewegung an seinem Platz. Anders als bei früheren Versuchen zur Dislokalisierung in Feldkäfigen [Jaeger 2005] endet die Verschiebung, wenn die Aggregate die Außenelektro-

den des linearen Elektrodenfeldes erreichen.

4.9 Thermosensitivität von PDMS

Aufgrund der Temperaturentwicklung in dem elektrisch angetriebenen Mikrosystem ergaben sich strukturelle Veränderungen im verwendeten Polymer PDMS. Es wurden Kavitäten in der PDMS-Wand erkennbar, die sich ausdehnten, solange die Elektroden aktiv waren (Abb. 4-35). Das Resultat war ein lokales Anschwellen des Polymers. Der volumetrische Dehnungskoeffizient des PDMS liefert keine ausreichende Erklärung für dieses Verhalten und lässt lediglich Materialdehnungen von 2% bis 5% erwarten. Die Anwendung eines elektrischen Feldes ohne ein leitfähiges Medium oder die lokale Erwärmung auf dem PDMS, führten nicht zu vergleichbaren Resultaten. In der Literatur ist dieses Verhalten von PDMS bislang nicht beschrieben. In der Abbildung sind die Veränderungen über einem Elektrodenfeld bei unterschiedlichen Spannungswerten dargestellt. Durch die Kavitäten veränderten sich die optischen Eigenschaften des PDMS und damit der Grauwert. Der Mittelwert dieses Grauwertes über den Elektroden war damit ein Maß für den Grad der Veränderung.

Es ist zu erkennen, dass größere Spannungen eine ausgeprägtere Veränderung hervorriefen. Anhand der Beobachtungen lässt sich konstatieren, dass es sich nicht um homogene Veränderungen, sondern um kleine Bereiche innerhalb des PDMS handelt. Vor der elektrischen Aktivität sind diese nicht als Einzelobjekte zu erkennen. Die Dehnung ist reversibel. Eine unzureichende Polymerisierung des PDMS als Erklärung ist aufgrund einer Vernetzungszeit von deutlich über 5 h bei 60 °C unwahrscheinlich. Zum Vergleich: Gängige Prozeduren nutzen nur 2 h Vernetzungszeit. Die Veränderung ist nach unseren Beobachtungen am ehesten auf die Ausdehnung nanometergroßer gasgefüllter Hohlräume zurückzuführen, da nur Gase eine solche Dehnung verursachen können.

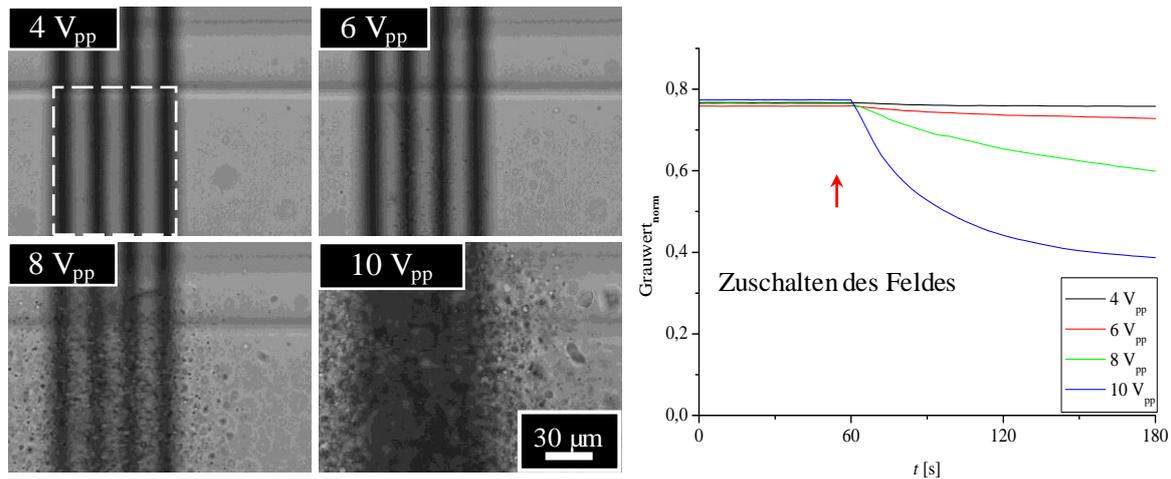


Abb. 4-35: Veränderung des PDMS über vier aktiven Mikroelektroden. Der Rahmen im ersten Bild steht für den ausgewerteten Bereich im Diagramm rechts. Das Diagramm steht für die Veränderung der Grauwerte.

Im Vergleich zu Glas besitzt PDMS eine etwa halb so große Wärmekapazität und deutlich schlechtere Wärmeleiteigenschaften, was lokal zu gesteigerten Temperaturen im Material führt. Zusammen mit der mehrfach belegten Durchgängigkeit von Wasserdampf durch PDMS kann dies die Ausdehnung der Kavitäten im PDMS erklären [Berthier 2012].

Die Verformungen im PDMS können ferner eine Erklärung für die Diskrepanz zwischen den durch die Simulation ermittelten Werten in Kapitel 4.6 und den Beobachtungen aus 4.4 und 4.5 sein: Eine Verengung des Kanals kommt somit als eine weitere Ursache für den stärkeren Rückhalt bei größeren Spannungen in Betracht.

5 Schlußfolgerungen

Die Grundlage der EHD-Filtration ist die Verknüpfung verschiedener Mechanismen, die auftreten wenn hochfrequente elektrische Wechselfelder auf Flüssigkeiten und suspendierte Partikel wirken. Dazu zählen elektrische Mechanismen, wie der EHD-Mechanismus und die DEP, thermische, wie die Ausbildung von Temperaturfeldern und damit einhergehend verstärkter diffusiver Transport, die Erzeugung von Raumladungen, sowie hydrodynamische Prozesse.

Für die untersuchte EHD-Filtration wurde ein offenes System verwendet. Um eine Vorstellung von dem Verhältnis eines EHD-Filters im Vergleich zu einem Virus zu erhalten, folgt eine Analogie: Ginge man davon aus der Kanalquerschnitt hätte die Abmessungen eines Fußballtores könnte man mit einem EHD-Mechanismus - ohne Netz - Objekte in der Größe von millimetergroßen Samenkörnern zurückhalten. Im Gegensatz dazu hätte die Filtermembran oder das Netz eines herkömmlichen Filtersystems eine Porengröße / Maschenweite von wenigen Millimetern (Abb. 5-1).

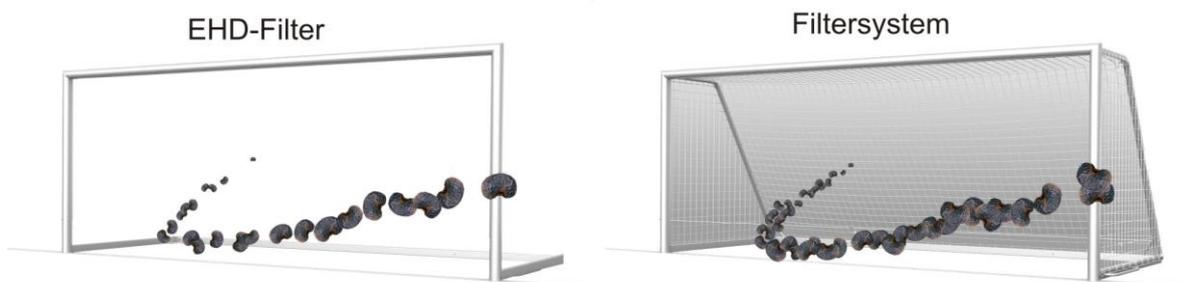


Abb. 5-1: Zwei Fußballtore. Eines verkörpert das entwickelte EHD-System das andere mit Netz steht für ein herkömmliches Filtersystem. Die Samenkörner (Viren) sind mehrere hundert- bis einige tausendmal kleiner als der Kanal.

Wie in dieser Arbeit deutlich wurde, kann man mit Hilfe des EHD-Mechanismus Erregerpartikel, wie Bakterien und Viren, aus physiologischen Lösungen anreichern. Erstmals gelang somit die technische Realisierung eines elektrischen Filters, der mit elektrisch hoch leitfähigen Lösungen ($300 \text{ mS} / \text{m}$ bis $1600 \text{ mS} / \text{m}$) kompatibel war. Nach dem Abschalten des elektromagnetischen Feldes konnten die Partikel in konzentrierter Form ausgespült werden. Damit ist es möglich, sie ohne zusätzliche Verarbeitungsschritte einem Diagnoseverfahren zu zuführen. Die entwickelten Mikrosysteme zeichnen sich gegenüber herkömmlichen Verfahren zur Anreicherung,

wie der Ultrafiltration und der Ultrazentrifugation, durch eine einfachere Handhabbarkeit und um Größenordnungen kürzere Prozessierungsdauern aus. Zudem gestattet es die hohe Integrationsdichte, das System unmittelbar auf dem LOC mit einem Diagnoseverfahren zu koppeln. Eine nicht unwesentliche Schwäche von Mikrosystemen ist der mangelnde Probendurchsatz, dessen Bedeutung mit einer parallelisierten Verarbeitung in mehreren Kanälen jedoch deutlich reduziert werden kann. Neben einer Anreicherung ist aufgrund der, je nach Spannung, hohen Leistungsdichte eine gezielte thermische Inaktivierung von Erregern möglich (siehe Ausblick).

In unseren Experimenten verliefen die Achsen, um die die Wirbel der EHD-Strömungen rotierten, orthogonal zu externen Strömungen. Beobachtungen deuten darauf hin, dass die hohen lokalen Geschwindigkeiten von bis zu 1,5 mm/s [Felten 2008, Grom 2006] und die Geschwindigkeitsgradienten in Wandnähe zu Sekundärströmungen führen. Ohne diese würden mikro- und vor allem nanometergroße Partikel die Wirbel aufgrund von Zentrifugalkräften verlassen. Allein mit Hilfe solcher Strömungen lassen sich Erregerpartikel, wie *Influenza A-Viren*, lokal anreichern. Auf größere Partikel, wie *Staphylococcus warneri* und *Bacillus thuringiensis*, wirkt neben den Bewegungen der Flüssigkeit im Nahbereich der Elektroden die Dielektrophorese, die die Partikel zusätzlich lokal anreichert.

Durch die lokale Erwärmung wirken der Anreicherung eine verstärkte Diffusion und, speziell bei hohem Partikelgehalt, die Thermodiffusion entgegen. Komplexe dreidimensionale Strömungsmuster wurden bereits in früheren Arbeiten beschrieben, aber bislang als Möglichkeit zur Partikelanreicherung weitgehend vernachlässigt [Müller 1993, Müller 1996 b, Grom 2006, Felten 2008]. Die Ursachen der Anreicherung wurden bislang nicht eingehender untersucht bzw. wie bei Müller *et al.* und Felten einer Kombination aus hydrodynamischen und dielektrophoretischen Kräften zugeschrieben [Müller 1996 b, Felten 2006], wobei man von einer dominierenden DEP-Wirkung ausging. Diese Arbeit legt nahe, dass in Medien mit annähernd physiologischer elektrischer Leitfähigkeit und nanometergroßen Partikeln der EHD-Strömung die größere Bedeutung bei deren Anreicherung zukommt.

In den Versuchen mit Modellpartikeln wurde gezeigt, dass man mit linearen Elektroden eine hohe Anreicherungseffizienz erzielt. Diese sinkt mit steigender externer Strömungsgeschwindigkeit. Der Grund ist, dass die Erhöhung der externen Geschwindigkeit z.B. von 10 $\mu\text{m/s}$ auf 60 $\mu\text{m/s}$ die Ausbildung stationärer Wirbel erschwert. Die EHD-Filter arbeiten, wie hier nachgewiesen, robust bei Partikelkonzentrationen von $3 \cdot 10^{10}$ p/ml bis $3 \cdot 10^7$ p/ml, selbst Kon-

zentrationen von deutlich unter $3 \cdot 10^6$ p / ml sind handhabbar, da die Anreicherung vollständig auf der EHD induzierten Flüssigkeitsbewegung und der DEP beruht. Kleinere Konzentrationen, im Bereich von einigen hundert Partikeln pro Milliliter, erfordern einen angepassten Detektionsmechanismus und könnten durch den unterstützenden Einsatz von Fängerpartikeln verarbeitet werden (siehe Ausblick). Ein Verstopfen der EHD-Filter ist nicht möglich, weil bei zu hohen lokalen Partikelzahlen der Filter schlicht *überläuft*.

Aus den Beobachtungen und Messungen ergeben sich u.a. folgende Alleinstellungsmerkmale des EHD-Filtersystems:

- i. Die Filtration lässt sich von außen jederzeit über das elektrische Feld in ihrer Dauer und Stärke steuern.
- ii. Der EHD-Filter kann durch *Überlaufen* nicht Verstopfen (Abb. 5-1).
- iii. Ein EHD-Filter kann ein breites Spektrum unterschiedlicher Partikel filtern.
- iv. Das Totvolumen ist nahe Null, da die Probenflüssigkeit selbst bewegt wird.
- v. Für die Manipulationen sind nur geringe Spannungen nötig ($4 V_{pp}$ bis $10 V_{pp}$), die mit kleineren Elektroden dimensionen und –abständen noch geringer ausfallen. Dies erlaubt eine Versorgung z.B. mit Batterien.
- vi. Aufgrund des kontinuierlichen Zustroms ist die Anreicherung nicht auf den Nahbereich der Elektroden limitiert, wie in früheren Ansätzen der Fall.
- vii. Das Retentat kann nach dem Abschalten des elektrischen Feldes annähernd vollständig ausgespült werden.

Diese Erkenntnisse als Grundlage ermöglichen Empfehlungen für weitere Optimierungen der EHD-Filter:

Zukünftige Filter sollten aus mehreren parallelen Elektrodenfeldern mit jeweils zwei Mikroelektroden bestehen. Da die Wirbel nicht aus einer gerichteten Bewegung hervorgehen, sind nur zwei Elektroden erforderlich. Eine Anordnung der Elektrodenfelder dicht hintereinander im Kanal [Stein 2008] wäre thermisch ungünstig und könnte rasch zu elektrolytischen Spaltprozessen führen. Stattdessen sollten die in parallelen Kanälen angeordneten Felder thermisch voneinander entkoppelt werden. Eine externe Kühlung, optimierte thermische Eigenschaften (höhere Wärmeleitfähigkeit) oder eine Vergrößerung der Oberfläche der Kanalwände würden die Wärme besser abführen und den Prozess weiter stabilisieren. Eine derartige parallele Anordnung würde darüber hinaus den erreichbaren Durchsatz steigern.

Die Versuche mit den dreidimensionalen Mikroelektroden im Kapitel 4.3 zeigten die Bedeutung des Abstands der Wirbel zur Kanalwand für die Stärke der Anreicherung. Eine Ursache ist, dass die Wirbel nicht mit den Kanaldimensionen skalieren, sondern mit dem elektrischen Feld. Die Wirbel werden sowohl durch die viskose Dämpfung der Bewegung als auch durch das elektrische Feld limitiert. Erstere stiege in kleineren Kanälen durch die Haftreibung an den Wänden an, was höhere Feldstärken erforderte.

Planare Mikroelektroden sind für die EHD-Filtration bestens geeignet; dreidimensionale zeigten in der verwendeten Konfiguration keine besseren Ergebnisse. Auch eine Teilung des Elektrodenfeldes oder spitz zulaufende Elektrodenfelder erhöhten die Filtrationsleistung nicht. Um 90° zur Kanalachse gedrehte Elektroden wie in Abbildung 5-2 oder andere Kanalformen könnten die Anreicherung steigern. Die Kanalverbreiterung beispielsweise würde lokal die Fließgeschwindigkeit gegenüber der EHD-Strömung herabsetzen und die Drehung des Elektrodenfeldes würde den ohnehin seitlichen Zustrom von Partikeln begünstigen.

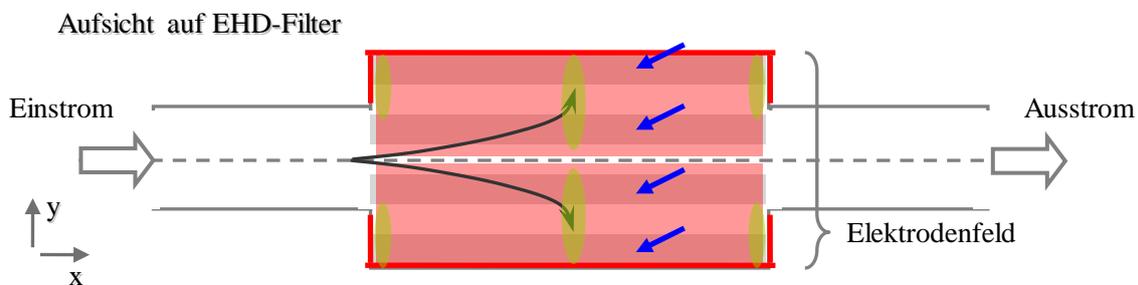


Abb. 5-2: Schematische Darstellung eines alternativen EHD-Filters. Die blauen Pfeile deuten auf die Elektroden. Die roten Linien stehen für die zur Entstehung der Sekundärströmung relevanten Flächen.

Für die Partikelanreicherung werden zwei gegenläufig rotierende Wirbel benötigt. Um die Übergangsfrequenz f_{trans} zwischen konduktivem und dielektrischem Bereich findet sich beim *traveling wave*-Pumpen die maximale Nettoströmung; da ihre Ursache jedoch ein einzelner Wirbel ist, ist dieser Frequenzbereich für die Anreicherung nicht interessant (Abb. 2-3). Das ACEO-Regime, speziell das untere Frequenzband (> 100 kHz), sollte ebenfalls nicht verwendet werden, weil in Flüssigkeiten mit physiologischen elektrischen Leitfähigkeiten die Gefahr der Elektrolyse den Vorteil größerer Kräfte überwiegt. In Abhängigkeit von der Leitfähigkeit sollte eine Frequenz des konduktiven Regimes gewählt werden (Abb. 2-4). Die Phasensteuerung sollte aus zwei 180° zueinander verschobenen Signalen bestehen. Die notwendigen Feldstärken von > 70 kV/m sind durch entsprechende Spannungen oder kleine Elektrodenabstände zu realisieren.

ren. Für die Etablierung der Wirbel waren bei 10 μm Elektrodenabstand Spannungen von mehr als $2 V_{pp}$ notwendig. Bei niedrigeren Spannungen wurden die Partikel über dem Elektrodenfeld nur angehoben und sammelten sich nicht in Wirbeln. Bei Feldkäfigen mit 2 μm Elektrodenabstand und um zwei Größenordnungen kleinerer elektrischer Leitfähigkeit setzten beispielsweise erst ab Spannungen von $6 V_{pp}$ unvollständige Wirbel ein [Müller 1996 b], bei denen bis zu dieser Spannung die DEP dominierte. Für eine Anreicherung ist die Levitation nicht ausreichend, wie die Versuche aus Kapitel 4.5 zeigen. Die Wahl der Spannung erfordert, speziell bei thermosensitiven Substanzen, einen Kompromiss aus der für die Wirbel notwendigen Feldstärke und der resultierenden Temperatur. Bei unseren Versuchen wurden Spannungen von $10 V_{pp}$ und damit lokale Temperaturerhöhungen von 14 K nicht überschritten.

Neben diesen experimentellen Parametern für das Konzept eines optimalen EHD-Filters ermöglicht das entwickelte numerische Model zukünftig eine unterstützende Beurteilung neuer elektrischer Filtereinheiten hinsichtlich ihrer Effizienz.

6 Ausblick

Aus den vorangegangenen Betrachtungen ergeben sich neben der hier diskutierten Anwendung weitere Einsatzmöglichkeiten für die EHD- und DEP-Manipulation auch mit Hilfe dreidimensionaler Mikroelektroden. So ist neben dem Pumpen, der Anreicherung bzw. Filtration und dem Mixen auch der Einsatz dieser Methode zur thermischen Inaktivierung von Viren, als Testbeschleuniger bzw. zur Steigerung der Sensitivität vorhandener Verfahren (*Assaybooster*) denkbar.

Die Verarbeitung hochinfektiösen Probenmaterials in Laboren erfordert kostenintensive Maßnahmen zur Sicherung von Mitarbeitern und Umwelt. Mit dem Einsatz von Mikrosystemen und speziell EHD-Systemen könnten die Restrisiken und Kosten notwendiger Sicherungsvorkehrungen reduziert werden. In Mikrosystemen sind für Untersuchungen Probenmengen im Mikroliter- bis Nanoliterbereich ausreichend. Ferner könnten die Betriebskosten für sehr aufwendige bauliche Sicherungsmaßnahmen unter anderem durch den Einsatz von Einweg-Mikrosystemen deutlich verringert werden. Weil sie (a) keiner aufwendigen Reinigung bedürfen und beispielsweise harter radioaktiver Strahlung ausgesetzt werden könnten. (b) Mikrosysteme sind durch ihre Abmessungen in kleineren Isolations- / Sicherungssystemen benutzbar. (c) Durch die kleinen Abmessungen der Elektrodenfelder speziell in den EHD-Baugruppen genügen im Betrieb wenige Volt Spannung, um die Probe lokal so zu heizen, dass mit der kontrollierten Erhöhung der Spannung nach der Anreicherung eine thermische Inaktivierung von Viren zu erreichen ist. Schritte wie die Kultivierung, Aufreinigung, Detektion, Identifikation und Inaktivierung, von Viren mit hoher Letalität, könnten vollständig in ihrem Inneren ablaufen.

Bei Proben mit unbekanntem und potentiell gefährlichen Erregern im stationären wie mobilen Einsatz könnten solche EHD-Systeme zum Einsatz kommen. Der Ablauf würde wie folgt aussehen: Die Probe würde in ein Isolationssystem in der Größe einer Laminar-Flow-Box verbracht und dort in einem LOC-System mit EHD-Einheiten verarbeitet (Abb. 6-1). Nach dem Gebrauch würde das gesamte Mikrosystem entsorgt. Dadurch könnte etwa die Zeit, zur Herstellung von Totimpfstoffen aus unbekanntem Erregern, verkürzt werden. Bislang sind neben der Kultivierung diverse Filtermethoden zur Anreicherung und separate Schritte zur thermischen, chemischen und / oder UV-Inaktivierung erforderlich.

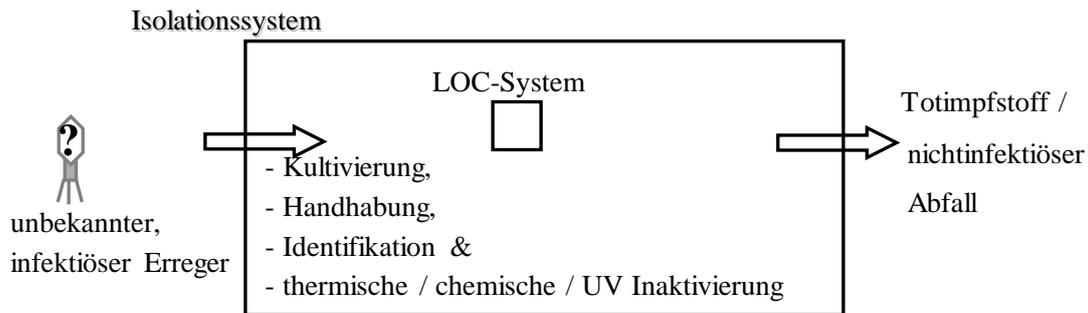


Abb. 6-1: Schematische Darstellung zur Isolation und Verarbeitung infektiösen Materials unbekannter Herkunft und/oder Zusammensetzung.

Denkbar wäre auch eine einem mikrofluidischen Bioreaktor nachgeschaltete Kaskade von EHD-Baugruppen zur *Ernte* und simultanen Inaktivierung von Viren und deren Proteinen.

Mikrosysteme kommen mittlerweile bei biotechnologischen Assays und bei zahlreichen label-freien Verfahren zum Einsatz (Microarrays, labelfreie Interaktionsanalysensysteme „Biacore“). Ihre Überlegenheit gegenüber herkömmlichen Systemen besteht in ihrem reduzierten Materialeinsatz - für die häufig teuren Sensorsubstanzen (Antikörper) -, deutlich schnelleren Analysenzeiten und der einfachen Realisierbarkeit von Multiparametertests. Bei der mit der Integration von Assays in Mikrofluidiken einhergehenden Herabskalierung der Sensorfelder wird der Massentransport in Richtung der Sensorfelder jedoch zu einem Problem [Sheehan 2005]: Die nur noch diffusive Bewegung und das laminare Strömungsverhalten verzögern das Erreichen der Detektionsgrenzen innerhalb praktikabler Zeiten. Je kleiner die Sensorfläche und je geringer die Analytkonzentration, desto länger dauert die Erfassung einer detektierbaren Menge Analytenmoleküle. Eine Lösungsmöglichkeit sind Verengungen des Kanals nahe der Sensoroberfläche, um die Diffusionszeit zu verkürzen [Kim 2008]. Die Nachteile, wie leichteres Verstopfen, sind jedoch offenkundig. Besser ist die Verwendung von EHD-Elementen, um die Analyten in der Flüssigkeit auf die Sensorflächen zu leiten [Sigurdson 2005]. Gegenüber dem Fall ohne EHD-Bewegungen sind Steigerungen des Transports von bis zu einem Faktor acht möglich [Feldman 2007], was auch die Sensitivität der Sensorfelder deutlich steigern könnte. Basierend auf diesen Arbeiten und den hier beschriebenen EHD-Systemen könnte man einen Multiplexassay mit einem EHD-*Booster* für den schnelleren Transport des Antigens an das Antikörperfeld, beispielsweise an der Kanaldecke, entwickeln. (Abb. 6-2). Auch die umgekehrte Variante ist denkbar, da der EHD-Transport nicht gravitationsabhängig ist.

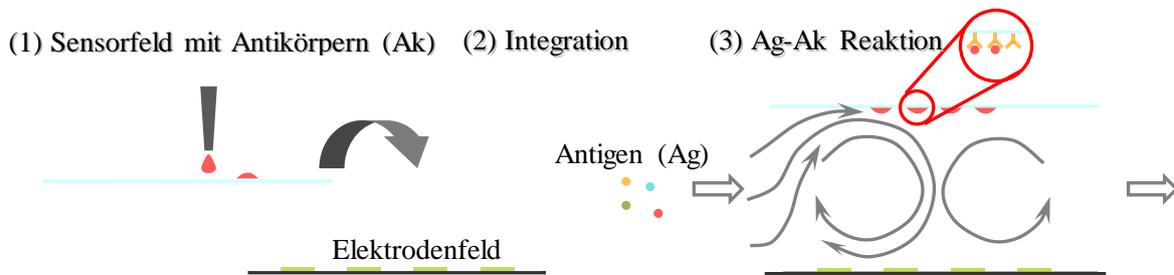


Abb. 6-2: Schematische Darstellung zum Aufbau und der Verwendung eines EHD-Boosters.

Vorteile gegenüber herkömmlichen Systemen sind (a) die deutliche Verkürzung der Ansprechzeit, (b) die Sensorfeldgröße kann reduziert werden und (c) bei Integration eines solchen *Boosters* ist eine Sensitivitätssteigerung auch existierender Assays und Verfahren zu erwarten. Die thermische Belastung des Sensormaterials und der Probe könnte im Vergleich zu früheren Arbeiten [Sigurdson 2005, Feldman 2007] verringert werden, durch die Platzierung des Sensorfeldes gegenüber den Elektroden und durch die Verwendung eines thermisch gut leitfähigen Materials als Untergrund des Sensorfeldes. Mit der Platzierung gegenüber den Elektroden wäre das Sensorfeld zudem leicht mit gängigen Spotting- oder neuen Nanoarraytechniken vorzubereiten [Chang 2011].

3D-Mikroelektroden eröffnen interessante neue Möglichkeiten zur Verbesserung der Proben Diagnostik, beispielsweise in Kombination mit der Nanodrahttechnologie. Bisherige MACS- und FACS-Systeme, bei denen mit Antikörpern beschichtete (magnetische) Fängerpartikel den Analyten von der restlichen Probe abtrennen und ihn auf ihrer Oberfläche lokal anreichern, erfordern die Kopplung eines weiteren fluoreszenzmarkierten Antikörpers gefolgt von einer optischen Auswertung. Diese letzten Schritte könnten über die direkte Erfassung der Veränderung der Oberflächenbelegung eingespart werden. Man könnte an die Oberfläche von Nanodrähten gekoppelte Antikörper in die Proben bringen. In einem nachfolgenden Schritt würden die Nanodrähte aufgrund ihrer hohen Polarisierbarkeit dielektrophoretisch angereichert. So entfielen weitere präparative Schritte. Mit Hilfe der in einem Mikrokanal platzierten 3D-Mikroelektroden und per pDEP würden die beladenen Drähte aus der Probe gesammelt und zwischen zwei Elektroden geparkt (Abb. 6-3). Aufgrund des bei Nanodrähten hohen Verhältnisses zwischen Oberfläche und Volumen wird die Veränderung der Oberflächenbelegung in einem transistorähnlichen Aufbau über die Messung von Strom und Spannung direkt detektierbar. Die Vorteile wären, dass (a) für jeden Analyten spezifische Nanodrähte hergestellt werden könnten die mit einem einzigen System ausgelesen würden. (b) Die Oberflächenmodifikationen verändern das Mikrosystem

selbst nicht, man könnte es dadurch mehrfach einsetzen. (c) Über ein paralleles Kanalsystem könnte ein analytrefreier Nanodraht als Referenz eingesetzt werden.

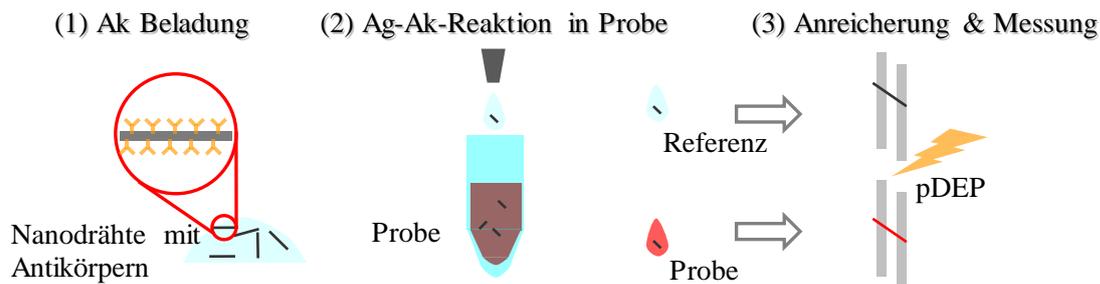


Abb. 6-3: Schematische Darstellung einer möglichen Verarbeitungsprozedur.

Im obigen Schema ist die Beladung von Nanodrähten mit den Antikörpern und die Reaktion in der Probe dargestellt. Im letzten Schritt erfolgt die Anreicherung und Detektion über die 3D-Mikroelektroden.

Herkömmliche Detektionsverfahren, wie die RT-PCR zur quantitativen Bestimmung der Viruslast, besitzen mit weniger als hundert Kopien pro ml eine hohe Sensitivität. Ihre Spezifität ist jedoch meist auf ein Ziel ausgerichtet. Neben der Quantifizierung ist es nach einer Infektion die Frage nach dem Virustyp selbst, die für die Ausarbeitung eines wirkungsvollen Therapieplans unabdingbar ist. Die hierfür notwendigen Untersuchungsmethoden besitzen bislang keine vergleichbare Sensitivität und erfordern eine Latenzzeit zwischen der Infektion und dem ersten richtig positiven Nachweis oder alternativ deutlich höhere lokale Pathogenkonzentrationen. Ein EHD-Filtersystem könnte bei der Verarbeitung solch kleiner Ausgangskonzentrationen etwa durch den Einsatz von Fängerpartikeln verwendet werden. Diese Partikel würden in den induzierten Wirbel rotieren. Die Verwendung hochfrequenter elektrischer Wechselfelder würde mit der Probenzuführung zwischen den Fängerpartikeln und vorüberstreichenden Pathogenen interpartikuläre pDEP-Kräfte induzieren, die zu einer Kopplung führen würden. Die auftretenden lokalen DEP-Kräfte wären dabei nahe der Partikeloberfläche theoretisch so groß, dass sich eine starke jedoch temporäre Bindung ausbilden würde. Enthaltene Pathogene würden aus der Probe gesammelt. Die Vorteile dieser Methode wären, (a) es werden unspezifisch nahezu alle nanometergroßen Keime erfasst und (b) nach dem Abschalten des elektrischen Feldes würden sich die pDEP-Kräfte soweit verringern bis sich die Pathogene von der Oberfläche lösen und lokal freigesetzt würden. (c) Ein weiterer Vorteil dieser Variante wäre man benötigt hierfür keine spezifischen Antikörper oder anderer Erkennungsstrukturen. Eine alternative Möglichkeit wäre eine

Antikörperbeschichtung, die jedoch die Kopplung eines markierten Sekundärantikörpers oder einen Eluierungsschritt erfordern würde [Kentsch 2003]. Hinzu käme eine nicht zu vernachlässigende thermische Belastung der auf der Oberfläche der Fängerpartikel befindlichen Strukturen und damit der Bindungseigenschaften, da diese mehrfach die warmen Bereiche in Elektrodennähe passieren würden.

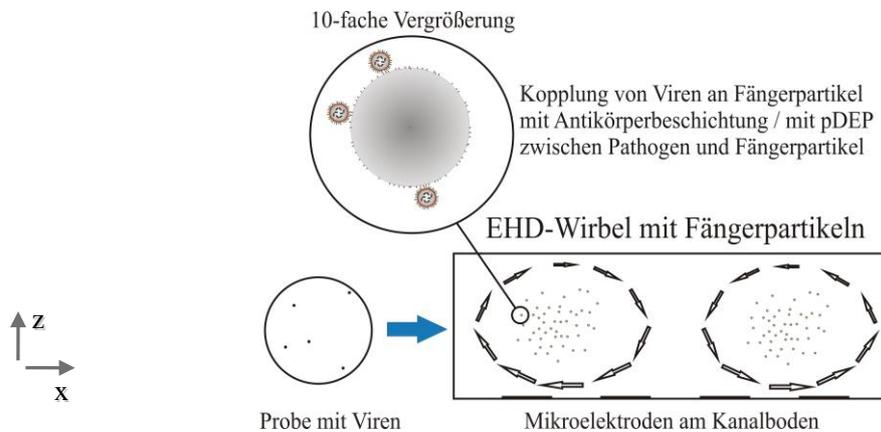


Abb. 6-4: Schematische Darstellung eines Längsschnitts durch einen EHD-Filter mit Fängerpartikeln zur lokalen Anreicherung von Pathogenen.

Die dargestellten Methoden verdeutlichen die Vielseitigkeit des EHD- und DEP-Prinzips bei der Handhabung von infektiösem Probenmaterial in Mikrosystemen.

Abkürzungen und Formelzeichen

| | |
|--------------------------------|---|
| AC | "alternating current", Wechselstrom |
| ACEO | AC Elektroosmose |
| CAD | "computer-aided design", Konstruktionssoftware |
| CCD | "charge-coupled device", Kamerasensorprinzip |
| CLSM | "confocal laser scanning microscopy", konfokales Laser-Raster-Mikroskop |
| CVD | siehe PECVD |
| DC | "direct current", Gleichstrom |
| DCEO | DC Elektroosmose |
| DEP | Dielektrophorese nDEP negative Dielektrophorese pDEP positive Dielektrophorese |
| DMEAA | Dimethylethylaminalan |
| EDL | "electrical double layer", elektrochemische Doppelschicht |
| EHD | Elektrohydrodynamik |
| 2f FCCS | 2 foci Fluoreszenz-Kreuzkorrelations-Spektroskopie |
| FEM | Finite Elemente Methode |
| veH ₂ O | vollentsalztes Wasser |
| HPLC | "high-performance liquid chromatography", Hochleistungsflüssigkeits-chromatographie |
| LOC | "lab-on-a-chip" |
| LPT | "line printing terminal", parallele Computerschnittstelle (IEEE 1284) |
| PC | Polycarbonat |
| PDMS | Polydimethylsiloxan |
| PECVD | "plasma-enhanced chemical vapor deposition", plasmaunterstützte chemische Abscheidung |
| PEEK | Polyetheretherketon |
| PMMA | Polymethylmethacrylat |
| POM | Polyoxymethylen |
| PS | Polystyrol / Polystyren |
| PVA | Polyvinylalkohol |
| Si ₃ N ₄ | Siliziumnitrid |
| SPM | "scanning probe microscopy", Rastersondenmikroskopie |
| SU-8 | Negativresist für Photolithographie |
| UV | ultraviolett |

| | | |
|-------------------|--|---------------------------|
| α | thermische Abhängigkeit der Permittivität | |
| β | thermische Abhängigkeit der elektrischen Leitfähigkeit | |
| ε | elektrische Permittivität, ε_M elektrische Permittivität des Mediums | $A \cdot s / V \cdot m$ |
| ε_0 | elektrische Feldkonstante ($8,854 \cdot 10^{-12} A \cdot s / V \cdot m$) | |
| η | dynamische Viskosität | Pa · s bzw. kg / m · s |
| η_{in} | Ausgangswert der Filtereffizienz | |
| η_{out} | Filtereffizienz nach Aktivität des elektrischen Feldes | |
| λ | spezifische Wärmeleitfähigkeit | W / m · K |
| λ_D | <i>Debye</i> -Länge | m |
| Λ | Verhältnis der Kapazitäten von <i>Stern</i> - und diffusiver Schicht [Castellanos 2003] | |
| π | Kreiszahl Pi | |
| ρ | Dichte | kg / m ³ |
| ρ_E | Raumladungsdichte | C / m ³ |
| σ | elektrische Leitfähigkeit | S / m |
| σ_D | elektrische Leitfähigkeit der EDL | S / m |
| $\sigma_{P, M}^*$ | komplexe elektrische Leitfähigkeit von P-Partikel oder M-Medium | |
| τ | charakteristische Zeit | s |
| ϕ | Volumenanteil | |
| ϖ | Kreisfrequenz | |
| Δ | <i>Laplace</i> -Operator | |
| ∇ | <i>Nabla</i> -Operator | |
| A | Querschnittsfläche | m ² |
| a | spezifische Temperaturleitfähigkeit | m ² / s |
| c | Konzentration | mol / l |
| c_P | spezifische Wärmekapazität | J / kg · K |
| D | Diffusionskonstante | m ² / s |
| D_h | hydraulischer Durchmesser | m |
| d | Partikeldurchmesser | m |
| E | elektrische Feldstärke, E_{rms} - Effektivwert der elektrischen Feldstärke, E_t - tangentialer Bestandteil der elektrischen Feldstärke | V / m |
| F | Kraft, F_{DEP} - <i>DEP</i> -Kraft, F_{EHD} - <i>EHD</i> -Kraft, F_{St} - <i>Stokes</i> -Kraft | N |

| | | |
|--------------|---|-------------------------|
| f | Frequenz, f_0 - Frequenz der maximalen Elektroosmosegeschwindigkeit (ACEO), f_{trans} - Übergangsfrequenz konduktiv zu dielektrisch bei EHD-Strömungen und Frequenz der maximalen Strömungsgeschwindigkeit, f_{krit} - kritische Frequenz bei EHD-Strömungen Strömungsgeschwindigkeit gleich Null und Umkehr der Strömungsrichtung | Hz |
| f_{CM} | <i>Clausius-Mosotti</i> -Faktor | |
| g | Erdbeschleunigung ($9,81 \text{ m / s}^2$) | |
| I_0 | Ausgangsintensität | |
| I_1 | Intensität nach Aktivität des elektrischen Feldes | |
| i | imaginäre Einheit | |
| k_B | <i>Boltzmann</i> -Konstante ($1,381 \cdot 10^{-23} \text{ J / K}$) | |
| k_T / T | <i>Soret</i> -Koeffizient | K^{-1} |
| L | charakteristische Länge | m |
| l, w, h | Länge, Breite, Höhe | m |
| m | spezifische Änderung der Intensität pro Kelvin (Fluorothermometrie) | K^{-1} |
| M | Elektro-thermo-hydrodynamische-Kennzahl | |
| U | benetzter Umfang eines Querschnitts | m |
| U_{rms} | Effektivwert der Spannung in V_{PP} Volt "peak to peak" (Spitze zu Spitze-Wert) in V_{rms} Volt "root mean square" (Effektivwert) | V_{rms} / V_{PP} |
| Pe_{Th} | thermische <i>Peclet</i> -Zahl | |
| p | Druck | bar |
| Ra | <i>Rayleigh</i> -Zahl | |
| Re | <i>Reynolds</i> -Zahl einer Strömung | |
| Re_p | <i>Reynolds</i> -Zahl eines Partikels | |
| r | Radius / Abstand zweier Elektroden | m |
| SD | Standardabweichung | |
| T | Temperatur | K |
| T_0 | Ausgangstemperatur | K |
| T_1 | Temperatur nach Aktivität des elektrischen Feldes | K |
| t | Zeit | s |
| v | Geschwindigkeit, v_p Geschwindigkeit des Partikels | m / s |
| Q | Volumenstrom | m^3 / s |
| $f(\dots)$ | Funktion von ... | |
| $\Re(\dots)$ | Realteil von ... | |

Literaturverzeichnis

1. Baaske P, Weinert FM, Duhr S, Lemke KH, Russell MJ, Braun D (2007) Extreme accumulation of nucleotides in simulated hydrothermal pore systems. *PNAS* 104 (22): 9246-9251
2. Baltussen M, Anderson P, Bos F, Toonder J (2009) Inertial flow effects in a micro-mixer based on artificial cilia. *Lab Chip* 9: 2326-2331
3. Bart SF, Tavrow LS, Mehregany M, Lang JH (1990) Microfabricated Electrohydrodynamic Pumps. *Sensors and Actuators A21-A23*: 193-197
4. Beebe DJ, Mensing GA, Walker GM (2002) Physics and applications of microfluidics in biology. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 4: 261-286
5. Berthier E, Young EWK, Beebe D (2012) Engineers are from PDMS-land, Biologists are from Polystyrenia. *Lab Chip* 12: 1224-1237
6. Boettcher M, Schmidt S, Latz A, Jaeger MS, Stuke M, Duschl C (2011) Filtration at the microfluidic level: enrichment of nanoparticles by tunable filters. *J. Phys.: Condens. Matter* 23: 324101(8)
7. Boettcher M, Jaeger MS, Riegger L, Ducree J, Zengerle R, Duschl C (2006) Combination of dielectrophoresis and centrifugation for chip-based cell separation. *Biophys. Rev. Lett.* 1 (4): 443-451
8. Boettcher M, Jaeger MS, Kirschbaum M, Müller T, Schnelle T, Duschl C (2008) Gravitation-driven stress-reduced cell handling. *Anal. Bioanal. Chem.* 390: 857-863
9. Braun D, Libchaber A (2002) Trapping of DNA by Thermophoretic Depletion and Convection. *Phys. Rev. Lett.* 89 (18): 188103(4)
10. Cahill BP (2005) AC Electro-osmotic Pumping for Microfluidic Systems. *Dissertation, ETH-Zürich*
11. Castellanos A, Ramos A, Gonzalez A, Green NG, Morgan H (2003) Electrohydrodynamics and dielectrophoresis in microsystems: scaling laws. *J. Phys. D: Appl. Phys.* 36: 2584-2597
12. Chang TY, Huang M, Yanik AA, Tsai HY, Shi P, Aksu S, Yanik MF, Altug H (2011) Large-scale plasmonic microarrays for label-free high-throughput screening. *Lab Chip* 11: DOI: 10.1039/c1lc20475k
13. Chen CL, Selvarasah S, Chao SH, Khanicheh A, Mavroidis C, Dokmeci MR (2007) An Electrohydrodynamic Micropump for On-Chip Fluid Pumping on a Flexible Parylene Substrate. *IEEE Int. Conf. on NEMS Bangkok, Jan 16-19*: 826-829
14. Chen X, Cui DF, Liu CC, Li H (2008) Microfluidic chip for blood cell separation and collection based on crossflow filtration. *Sensors and Actuators B* 130: 216-221
15. Chueh B, Huh D, Kyrtos CR, Houssin T, Futai N, Takayama S (2007) Leakage-Free Bonding of Porous Membranes into Layered Microfluidic Array Systems. *Anal. Chem.* 79: 3504-3508

16. Davis JA, Inglis DW, Morton KJ, Lawrence DA, Huang LR, Chou SY, Sturm JC, Austin RH (2006) Deterministic hydrodynamics: Taking blood apart. *PNAS* 103 (40): 14779-14784
17. De Malsche W, Clicq D, Verdoold V, Gzil P, Desmet G, Gardeniers H (2007) Integration of porous layers in ordered pillar arrays for liquid chromatography. *Lab Chip* 7: 1705-1711
18. Duhr S, Braun D (2006 a) Thermophoretic Depletion Follows Boltzmann Distribution. *Phys. Rev. Lett.* 96 (16): 168301(4)
19. Duhr S, Braun D (2006 b) Why molecules move along a temperature gradient. *PNAS* 103 (52): 19678-19682
20. Dürr M, Kentsch J, Müller T, Schnelle T, Stelzle M (2003) Microdevices for manipulation and accumulation of micro- and nanoparticles by dielectrophoresis. *Electrophoresis* 24: 722-731
21. Ehrlich RM, Melcher JR (1982) Bipolar model for travelling-wave induced nonequilibrium double-layer streaming in insulating liquids. *Phys. Fluids* 25 (10): 1785-1793
22. Einstein A (1926) Die Ursache der Mäanderbildung der Flußläufe und des sogenannten Baerschen Gesetzes. *Naturwiss.* 11: 223-224
23. Erickson D, Sinton D, Li D (2003) Joule heating and heat transfer in poly(dimethylsiloxane) microfluidic systems. *Lab Chip* 3: 141-149
24. Feldman HC, Sigurdson M, Meinhart CD (2007) AC electrothermal enhancement of heterogeneous assays in microfluidics. *Lab Chip* 7: 1553-1559
25. Felten M, Geggier P, Jäger M, Duschl C (2006 a) Controlling electrohydrodynamic pumping in microchannels through defined temperature fields. *Phys. Fluids* 18 (5): 051707(4)
26. Felten M (2006 b) Traveling electromagnetic waves at high frequencies: A versatile method for liquid transport in microfluidic systems. *Dissertation, HU-Berlin*
27. Felten M, Staroske W, Jaeger MS, Schwille P, Duschl C (2008) Accumulation and filtering of nanoparticles in microchannels using electrohydrodynamically induced vortical flows. *Electrophoresis* 29: 2987-2996
28. Fiedler S, Shirley SG, Schnelle T, Fuhr G (1998) Dielectrophoretic Sorting of Particles and Cells in a Microsystem. *Anal- Chem.* 70: 1909-1915
29. Fuhr G, Hagedron R, Müller T, Benecke W, Wagner B (1992) Microfabricated Electrohydrodynamic (EHD) Pumps for Liquids of Higher Conductivity. *J. Microelectromech. Sys.* 1 (3): 141-146
30. Fuhr G, Reichle C, Müller T, Kahlke K, Schütze K, Stuke M (1999) Processing of micro-particles by UV laser irradiation in a field cage. *Appl. Phys. A* 69: 611-616
31. Fuhr G, Shirley SG, Schnelle T (1994) Traveling wave-driven microfabricated electrohydrodynamic pumps for liquids. *J. Micromech. Microeng.* 4: 217-226
32. Gel M, Suzuki S, Kimura Y, Kurosawa O, Techaumnat B, Oana H, Washizu M (2009) Microorifice-Based High-Yield Cell Fusion on Microfluidic Chip: Electrofusion of Selected Pairs and Fusant Viability. *IEEE Transa. Nanobio.* 8 (4): 300-305
33. Glaser R (1996) Biophysik, 4. Auflage 1996; *Gustav Fischer Verlag, Jena*

34. Gradl G (2003) Method for preventing the Adhesion of particles. *Internationales Patent*, WO/2003/012077 A1
35. Graham EM, Iwai K, Uchiyama S, de Silva AP, Magennis SW, Jones AC (2010) Quantitative mapping of aqueous microfluidic temperature with sub-degree resolution using fluorescence lifetime imaging microscopy. *Lab Chip* 10: 1267-1273
36. Green NG, Morgan H, Milner JJ (1997) Manipulation and trapping of sub-micron bioparticles using dielectrophoresis. *J. Biochem. Biophys. Methods* 35: 89-102
37. Grom F, Kentsch J, Müller T, Schnelle T, Stelzle M (2006) Accumulation and trapping of hepatitis A virus particles by electrohydrodynamic flow and dielectrophoresis. *Electrophoresis* 27: 1386-1393
38. Guijt RM, Dodge A, van Dedem GWK, de Rooij NF, Verpoorte E (2003) Chemical and physical processes for integrated temperature control in microfluidic devices: *Lab Chip* 3: 1-4
39. Hamblin MN, Xuan J, Maynes D, Tolley HD, Belnap DM, Woolley AT, Lee ML, Hawkins AR (2010) Selective trapping and concentration of nanoparticles and viruses in dual-height nanofluidic channels. *Lab Chip* 10: 173-178
40. Happel J, Brenner H (1973) Low Reynolds number hydrodynamics with special applications to particulate media. *Martinus Nijhoff Publishers, Den Haag*
41. Holtappels M, Stubbe M, Gimsa J (2009) AC-field-induced fluid pumping in microsystems with asymmetric temperature gradients. *Physical Review E* 79: 026309(10)
42. Hsu CH, Di Carlo D, Chen C, Irimia D, Toner M (2008) Microvortex for focusing, guiding and sorting of particles. *Lab Chip* 8: 2128-2134
43. Hu X, Bessette PH, Qian J, Meinhart CD, Daugherty PS, Soh HT (2005) Marker-specific sorting of rare cells using dielectrophoresis. *PNAS* 102 (44): 15757-15761
44. Hughes MP, Morgan H, Rixon F, Burt JPH, Pethig R (1998) Manipulation of herpes simplex virus type 1 by dielectrophoresis. *Biochimica et Biophysica Acta* 1425: 119-126
45. Jaeger MS (2005) Über die Manipulation biogener und artifizieller Mikro- und Nanoobjekte in Mikroelektrodensystemen. *Dissertation, HU-Berlin*
46. Jaeger MS, Mueller T, Schnelle T (2007) Thermometry in dielectrophoresis chips for contact-free cell handling. *J. Phys. D: Appl. Phys.* 40: 95-105
47. Kassing R, Rangelow IW, Oesterschulze E, Stuke M (2003) Sensors for scanning probe microscopy. *Appl. Phys. A* 76: 907-911
48. Kentsch J, Dürr M, Schnelle T, Gradl G, Müller T, Jäger M, Normann A, Stelzle M (2003) Microdevices for separation, accumulation, and analysis of biological micro- and nanoparticles. *IEE Proc. Nanobiotechnol.* 150 (2): 82-89
49. Kim DR, Zheng X (2008) Numerical Characterization and Optimization of the Microfluidics for Nanowire Biosensors. *Nano Letters* 8 (10): 3233-3237
50. Koklu M, Park S, Pillai SD, Beskok A (2010) Negative dielectrophoretic capture of bacterial spores in food matrices. *Biomicrofluidics* 4: 034107(15)

51. Kressin BW, Hallauer JF (1999) Ökonomische Bedeutung der Schutzimpfung. *Deutsches Ärzteblatt* 96 (6): A342-A343
52. Landau LD, Lifschitz EM (1991) Lehrbuch der theoretischen Physik: Band VI Hydrodynamik. 1991 *Akademie Verlag, Berlin*
53. Lapizco-Encinas BH, Rito-Palomares M (2007) Dielectrophoresis for the manipulation of nanobioparticles. *Electrophoresis* 28: 4521-4538
54. Lavrik NV, Taylor LC, Sepaniak MJ (2010) Enclosed pillar arrays integrated on a fluidic platform for on-chip separations and analysis. *Lab Chip* 10: 1086-1014
55. Lazaro BJ, Lasheras JC (1992 a) Particle dispersion in the developing free shear layer. Part I. Unforced flow. *J. Fluid Mech.* 235: 143-178
56. Lazaro BJ, Lasheras JC (1992 b) Particle dispersion in the developing free shear layer. Part II. Forced flow. *J. Fluid Mech.* 235: 179-221
57. Lehmann O, Stuke M (1991) Generation of Three-Dimensional Free-Standing Metal Micro-Objects by Laser Chemical Processing. *Appl. Phys. A* 53: 343-345
58. Lehmann O, Stuke M (1995) Laser-Driven Movement of Three-Dimensional Microstructures Generated by Laser Rapid Prototyping. *Science* 270: 1644-1646
59. Lide DR (2007) CRC handbook of chemistry and physics. 2007, 87th ed., *CRC Press*
60. Lin H, Storey BD, Oddy MH, Chen CH, Santiago JG (2004) Instability of electrokinetic microchannel flows with conductivity gradients. *Phys. Fluids* 16 (6): 1922-1935
61. Lin Y (2008) Modeling of dielectrophoresis in micro and nano systems. *Dissertation, KTH-Stockholm*
62. Livermore C, Voldman J (2004) Design and Fabrication of Microelectromechanical Devices: material properties database. 21.02.2004; <http://www.mit.edu/~6.777/matprops/matprops.htm>
63. Malcherek A (2009) Hydrodynamik für Bauingenieure. *Universität der Bundeswehr München*; 11.05.2011; <http://www.uni-bw.de/rz/dokumente/fakultaeten?id=1094000&tid=fakultaeten>
64. Markx GH, Huang Y, Zhou XF, Pethig R (1994) Dielectrophoretic characterization and separation of micro-organisms. *Microbil.* 140: 585-591
65. Martin JE, Meiburg E (1994) The accumulation and dispersion of heavy particles in forced twodimensional mixing layers. I. The fundamental and subharmonic cases. *Phys. Fluids* 6 (3): 1116-1132
66. Mast CB, Braun D (2010) Thermal Trap for DNA Replication. *Phys. Rev. Let.* 104 (18): 188102(4)
67. Maxey MR, Riley JJ (1983) Equation of motion for a small rigid sphere in a nonuniform flow. *Phys. Fluids* 26 (4): 883-889
68. Melcher JR (1966) Traveling-Wave Induced Electroconvection. *Phys. Fluids* 9 (8): 1548-1555
69. Melcher JR, Firebaugh M (1967) Traveling-Wave Bulk Electroconvection Induced across a Temperature Gradient. *Phys. Fluids* 10 (6): 1178-1165
70. Melcher JR (1981) Continuum Electromechanics. *Cambridge, MA MIT Press*, 1981; ISBN:

9780262131650; 05.05.2011; <http://ocw.mit.edu>

71. Metz S, Trautmann C, Bertsch A, Renaud Ph (2004) Polyimide microfluidic devices with integrated nanoporous filtration areas manufactured by micromachining and ion track technology. *J. Micromech. Microeng.* 14: 324-331
72. Minerick AR, Zhou R, Takhistov P, Chang H (2003) Manipulation and characterization of red blood cells with alternating current fields in microdevices. *Electrophoresis* 24: 3703-3717
73. Mouza AA, Patsa CM, Schönfeld F (2008) Mixing performance of a chaotic micro-mixer. *Chem. Eng. Res. Des.* 86: 1128-1134
74. Müller T, Arnold WM, Schnelle T, Hagedorn R, Fuhr G, Zimmermann U (1993) A traveling-wave micropump for aqueous solutions: Comparison of 1g and μ g results. *Electrophoresis* 14: 764-772
75. Müller T, Fiedler S, Schnelle T, Ludwig K, Jung H, Fuhr G (1996 a) High frequency electric fields for trapping of viruses. *Biotechnol. Tech.* 10 (4): 221-226
76. Müller T, Geradino A, Schnelle T, Shirley SG, Bordoni F, Gasperis G, Leoni R, Fuhr G (1996 b) Trapping of micrometre and sub-micrometre particles by high-frequency electric fields and hydrodynamic forces. *J. Phys. D: Appl. Phys.* 29: 340-349
77. Piruska A, Nikcevic I, Lee SH, Ahn C, Heinemann WR, Limbach PA, Seliskar CJ (2005) The auto-fluorescence of plastic materials and chips measured under laser irradiation. *Lab Chip* 5: 1348-1354
78. Pethig R, Markx GH (1997) Applications of dielectrophoresis in biotechnology. *Tibtech* 15: 426-432
79. Pohl HA (1978) Dielectrophoresis: The behaviour of neutral matter in nonuniform electric fields. *Cambridge University Press, London*
80. Ramos A, Morgan H, Green NG, Castellanos A (1998) Ac electrokinetics: a review of forces in microelectrode structures. *J. Phys. D: Appl. Phys.* 31: 2338-2353
81. Raymond DE, Manz A, Widmer HM (1994) Continuous Sample Pretreatment Using a Free-Flow Electrophoresis Device Integrated onto a Silicon Chip. *Anal. Chem.* 66: 2858-2865
82. Schnelle T, Müller T, Fiedler S, Fuhr G (1999 a) The influence of higher moments on particle behaviour in dielectrophoretic field cages. *J. Electrostat.* 46: 13-18
83. Schnelle T, Müller T, Gradl G, Shirley SG, Fuhr G (1999 b) Paired microelectrode system: dielectrophoretic particle sorting and force calibration. *J. Electrostat.* 47: 121-132
84. Schnelle T, Müller T, Fuhr G (2000 a) Trapping in AC octode field cages. *J. Electrostat.* 50: 17-29
85. Schnelle T, Müller T, Gradl G, Shirley SG, Fuhr G (2000 b) Dielectrophoretic manipulation of suspended submicron particles. *Electrophoresis* 21: 66-73
86. Sheehan PE, Whitman LJ (2005) Detection Limits for Nanoscale Biosensors. *Nano Letters* 5 (4): 803-807
87. Sigurdson M, Wang D, Meinhart CD (2005) Electrothermal stirring for heterogeneous immunoassays. *Lab Chip* 5: 1366-1373
88. Stein R (2008) Mathematische Modellierung, Analysis und numerische Simulation elektrothermisch angetriebener Mikropumpen. *Diplom, HU-Berlin*

-
89. Stroock AD, Dertinger SKW, Ajdari A, Mezic I, Stone HA, Whitesides GM (2002) Chaotic Mixer for Microchannels. *Science* 295: 647-651
 90. Stubbe M, Holtappels M, Gimsa J (2009) A new working principle for ac electro-hydrodynamic onchip micro-pumps. *J. Phys. D: Appl. Phys.* 40: 6850-6856
 91. Stuke M, Mueller K, Mueller T, Hagedorn R, Jaeger M, Fuhr G (2005) Laser-direct-write creation of three-dimensional orest microcages for contact-free trapping, handling and transfer of small polarizable neutral objects in solution. *Appl. Phys A-Mater.* 81: 915-922
 92. Stuke M, Mueller K, Mueller T, Williams K, Oliver R, Ohlberg DAA, Fuhr G, Williams RS (2007) Direct-Writing of Three-Dimensional Structures Using Laser-Based Processes. *MRS Bulletin.* 32: 32-39
 93. Squires TD, Quakes SR (2005) Microfluidics: Fluid physics at the nanoliter scale. *Rev. Mod. Phy.* 77: 977-1026
 94. Velez OD, Bhatt KH (2006) On-chip micromanipulation and assembly of colloidal particles by electric fields. *Soft Matter* 2: 738-750
 95. Voldman J, Toner M, Gray ML, Schmidt MA (2003) Design and analysis of extruded quadrupolar dielectrophoretic traps. *Journal of Electrostatics* 57: 69-90
 96. Wanke MC, Lehmann O, Müller K, Wen Q, Stuke M (1997) Laser Rapid Prototyping of Photonic Band-Gap Microstructures. *Science* 275: 1284-1286
 97. Whitesides GM (2006) The origins and the future of microfluidics. *Nature* 442: 368-373
 98. Yamada M, Seki M (2005) Hydrodynamic filtration for on-chip particle concentration and classification utilizing microfluidics. *Lab Chip* 5: 1233-1239
 99. Zhou H, White LR, Tilton RD (2005) Lateral separation of colloids or cells by dielectrophoresis augmented by AC electroosmosis. *J. Coll. Interf. Sci.* 285: 179-191

Publikationsliste

Zeitschriftenbeiträge

Boettcher M, Schmidt S, Latz A, Jaeger MS, Stuke M, Duschl C: Filtration at the microfluidic level: enrichment of nanoparticles by tunable filters, *J. Phys.: Condens. Matter* 2011, 23; S. 324101(8)

Boettcher M, Jaeger MS, Kirschbaum M, Müller T, Schnelle T, Duschl C: Gravitation-driven stress-reduced cell handling, *Anal. Bioanal. Chem.* 2008, 390; S. 857-63

Boettcher M, Jaeger MS, Riegger L, Ducree J, Zengerle R, Duschl C: Combination of dielectrophoresis and centrifugation for chip-based cell separation; *Biophys. Rev. Lett.* 2006, 1 (4); S. 443-51

Fiedler S, Müller T, Zwanzig M, Jäger MS, **Boettcher M**, Csaki A, Fritzche W, Howitz S, Schmitt D, Hampp N, Scheel W, Fuhr GR, Reichl H: Touch Less Component Handling-Towards Converging Assembly Strategies; *MST/News* 2008, 3; S. 25-8

Poster und Konferenzbeiträge

Boettcher M, Jaeger MS, Stuke M, Duschl C: 3D-Mikroelektroden für die Manipulation von Partikeln in Mikrofluidikkanälen, Poster, *Mikrosystemtechnik Kongress 2011*, Darmstadt, Oktober 11-12, 2011

Boettcher M, Jaeger MS, Duschl C: Manipulation of nanoparticles by turbulent electrohydrodynamic flows, Vortrag, *DPG Konferenz*, Dresden, März 22-27, 2009

Fiedler S, Zwanzig M, **Boettcher M**, Jaeger MS, Fuhr G, Reichl H: Contactless handling of sub-micron and nanowires for microelectronic packaging applications; *NSTI Nanotech*, Boston, Juni 1-5, 2008

Jaeger MS, **Boettcher M**, Felten M, Kirschbaum M, Marschner C, Duschl C: Dielectrophoresis and microfluidics: Key methods for the manipulation of biological objects ranging from nanoparticles to cells; *IMAPS/ ACerS 4th International Conference and Exhibition on Ceramic Interconnect and Ceramic Microsystems Technologies (CICMT)*, München, April 21-28, 2008

Böttcher M: Pumpenfreier Partikeltransport in mikrofluidischen Lab-On-Chips, Vortrag, *Mikrosystemtechnik Kongress 2007*, Dresden, Oktober 15-17, 2007

Böttcher M: Gravitationsgetriebene Lab-On-Chip-Systeme, Vortrag, *41. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomedizinische Technik*, Aachen, September 26-29, 2007

Danksagung

Ich möchte mich bei Herrn Prof. Dr. Günter Fuhr für die Überlassung des sehr interessanten Themas bedanken, und für seine stete Bereitschaft mich in meinen Bestrebungen zu unterstützen. Mein besonderer Dank gilt vor allem Herrn Prof. Dr. Michael Stuke vom Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie in Göttingen, der durch seine freundliche Art und seinen ansteckenden Enthusiasmus unsere Zusammenarbeit sehr häufig beflügelte. Ferner möchte ich mich bei ihm und seinem Team für die gelungenen 3D-Elektrodensysteme bedanken, die einen wesentlichen Anteil an der erfolgreichen Umsetzung der Arbeit haben.

Desweiteren gehört mein Dank allen, mit denen ich das Vergnügen hatte zusammen arbeiten zu dürfen. Insbesondere möchte ich hier Herrn Dr. Claus Duschl und Herrn Dr. Magnus Jäger erwähnen, die mir sehr oft mit ihrem Rat hilfreich zur Seite standen, für ihre gute Betreuung und Unterstützung und ihre Hilfe bei der Korrektur der Arbeit.

Ferner danke ich allen Mitarbeitern und Kollegen des Fraunhofer Instituts für Biomedizinische Technik und ganz besonders Christine Mißler, Katja Uhlig, Christian Marschner, Maika Felten, Isabella Guido, Michael Kirschbaum, Frau Beate Morgenstern, Narayanan Madaboosi und Richard Stein für die wirklich sehr angenehme Zusammenarbeit.

Bedanken möchte ich mich auch bei meiner Familie für ihre stete moralische Unterstützung und ihre Geduld.