

Height / mm



## 3D-Hochgeschwindigkeits-Vermessung von Tropfengeometrien an mikrofluidischen Funktionsstrukturen

Thomas Henkel, Institut für Photonische Technologien e.V.

Workshop „Messung und Dosierung kleiner Volumenströme in der Medizintechnik“ der Arbeitsgruppe „Medizinische Sensor- und Gerätetechnik“, Lübeck, 15. Juni 2011

### Gliederungsübersicht

Thesen:

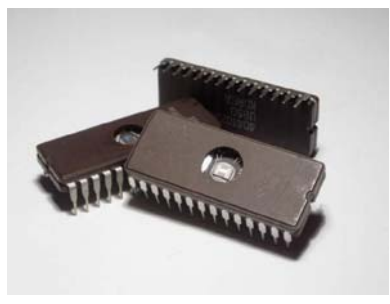
Absorbance Imaging ist ein leistungsfähiges densitometrisches Messverfahren für die tropfenbasierte Mikrofluidik und Lab-on-a-Chip-Technologie.

Aus einem einzigen Messbild lassen sich komplexe dreidimensionale Szenen rekonstruieren und vermessen.

- Tropfenbasierte Mikrofluidik und Lab-on-a-Chip Technologie
- Messverfahren und Messgrößen
- Absorbance Imaging und Messbeispiele

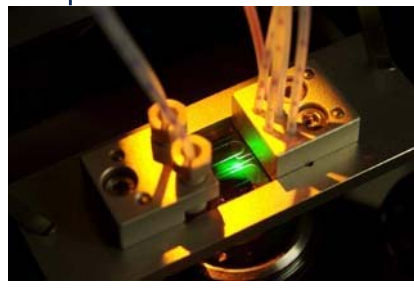
# Standortbestimmung Chiptechnologien

## Mikroelektronik IC



Integriertes Chipsystem  
 Implementiert Verfahren der Datenverarbeitung  
 Netzwerk von elektronischen Funktionselementen

## Tropfenbasiertes Lab-on-a-Chip



Integriertes Chipsystem  
 Implementiert Verfahren der Probenverarbeitung  
 Netzwerk von fluidischen Funktionselementen

**Vollständige Verfahrensabläufe werden miniaturisiert und automatisiert und können dadurch in (mobile) Gerätelösungen integriert werden.**

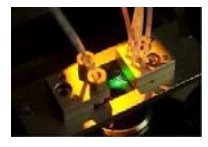
~ 1960: Small scale integration (SSI)  
 derzeit: Ultra-large scale and ultra-high speed integration

~2000: Tropfenbasierte Mikrofluidik wird Forschungsgegenstand  
 derzeit: Small scale integration

Die Ausgangssituation ist vergleichbar.  
 Wie kann die LOC-Technologie die Entwicklungseffizienz der Mikroelektronik erreichen?

## Tropfenbasierte Mikrofluidik

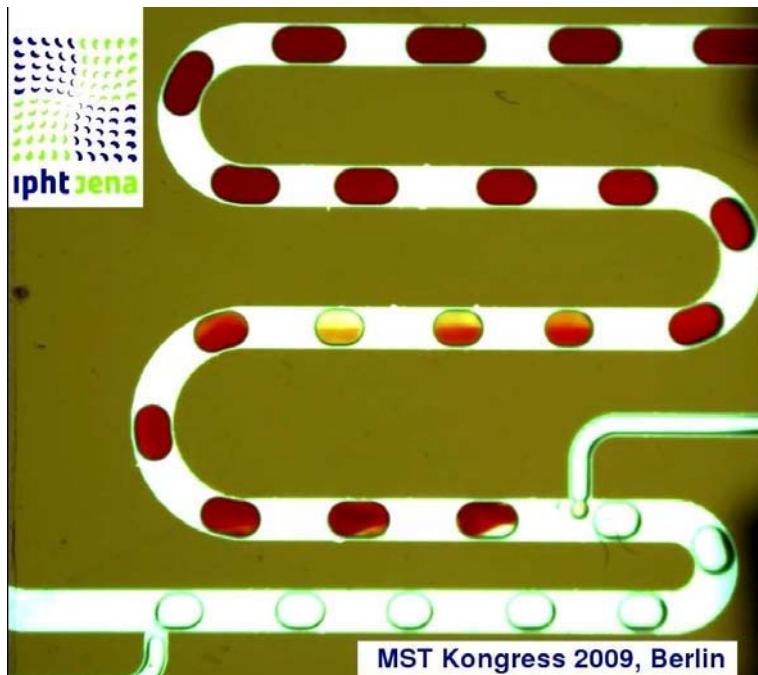
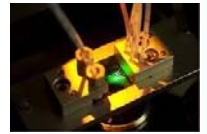
Forschungsgegenstand: Zusammenspiel von hydrodynamischen- und Grenzflächenkräften an Mikrostrukturen.  
 Motivation: Entwicklung skalierbarer und kombinierbarer Funktionselemente (Operation Units) für die Tropfenbasierte Mikrofluidik



Erzeugung von Tropfensequenzen	Dosieroperationen	Tropfenmanipulation
<p>Uniforme Größe und Komposition</p> <p>Uniforme Größe, variable Komposition</p> <p>Alternierende Größe und Komposition</p>	<p>variable Menge</p> <p>variable Komposition und Menge</p>	<p>Vereinigen</p> <p>Aliquotieren</p> <p>Sortieren</p> <p>Abstandskontrolle</p> <p>Phasenseparation</p> <p>Verschachteln von Tropfenfolgen</p>

Alle Funktionen sind für tensidfreie und tensidstabilisierte Zweiphasensysteme verfügbar

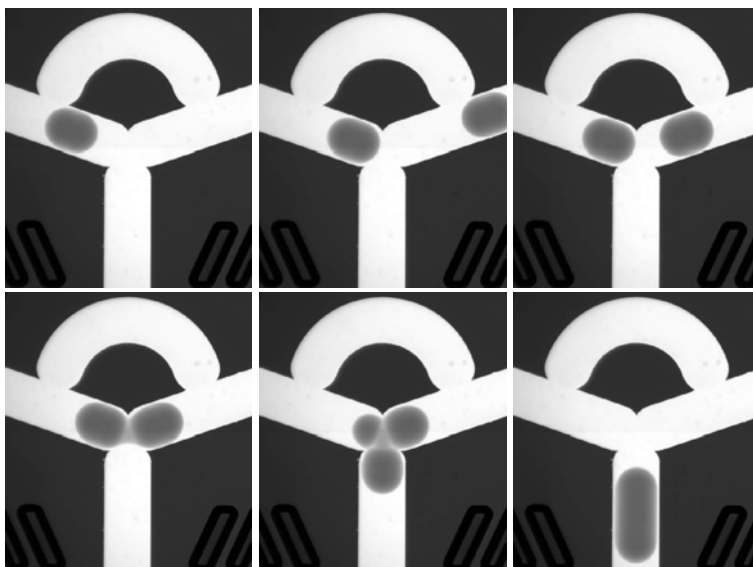
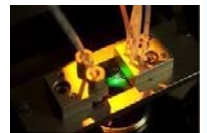
## Operation Units für Tropfenerzeugung und Zudosieren mit Sägezahngradienten



Tropfenerzeugung und Zudosieren mit variabler Flussrate (Sägezahngradient)  
Zu erkennen sind die systematische Volumenzu- und Abnahme sowie der untere Umschlagpunkt des Gradienten.

Erzeugung diverser Probenkollektionen, Zudosieren von Reagenzien zu Tropfen

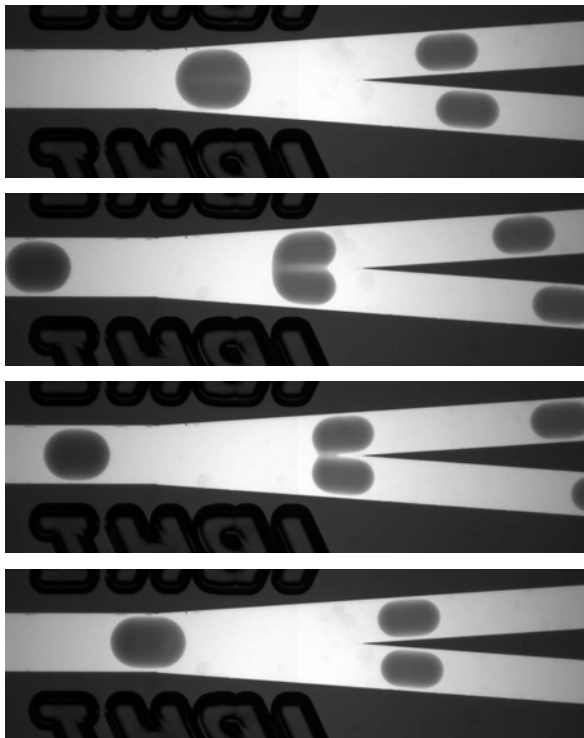
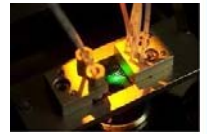
## Operation Unit für selbstregelndes Vereinen von Tropfen aus unterschiedlichen Subsystemen



Der zuerst eintreffende Tropfen stoppt an der Vereinigungsstelle. Nachgefördertes Separationsfluid wird über den Bypass umgeleitet bis der Fusionspartner eintrifft. Danach erfolgt die Vereinigung und das Austreiben des vereinigten Tropfens.

Zusammenführung von Tropfenkollektionen aus unterschiedlichen "Lagerbereichen"  
Implementiert geschlossenen Regelkreis.

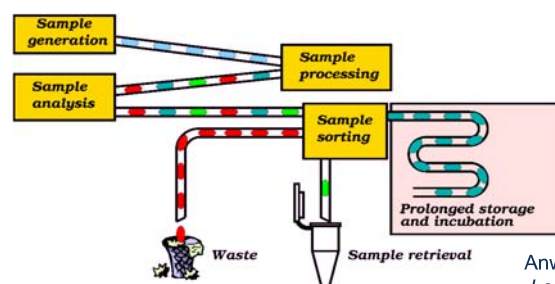
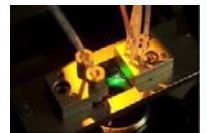
## Operation Unit für das Aliquotieren von Tropfen an einer im Kanal integrierten Schneide



Ein Tropfen wird über eine Schneide geführt und dort in zwei Aliquots geteilt.

Teilen eines Tropfens in Probe und Referenz

## Lab-on-a-Chip-Technologie

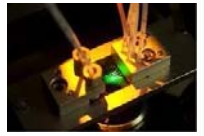


Anwendungsbeispiel: Martin, K.; et al (2003), *Lab. Chip.* 3(3), 202--207.

- Forschungsgegenstand: Übertragung konventioneller Laborabläufe auf die Chipplattform.
- Motivation: Integration von Laborverfahren in (mobile) Gerätesysteme
- Ansatz: Skalierbare mikrofluidische Funktionselemente (Operation Units) werden entsprechend Protokollvorgabe miteinander verschaltet.

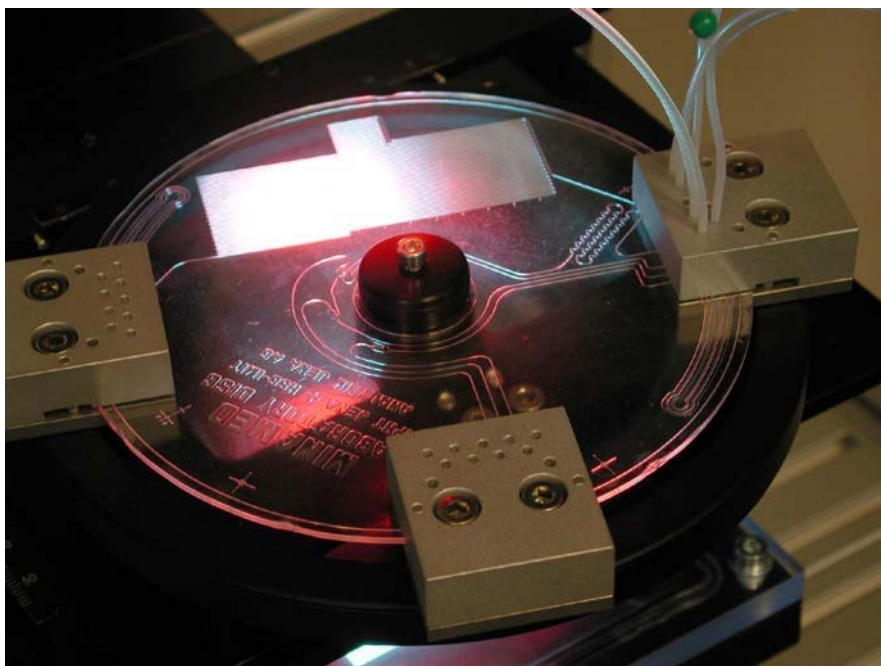
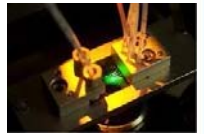


## Anwendungsfelder und Arbeitsgebiete



- Prozessüberwachung (Wasser, Abwasser, technische Fluide)
- Klinische Chemie
  - Quantifizierung von Metaboliten und Metabolitenprofilen
  - Enzymassays für Tests Medikamentenverträglichkeit
  - on-Chip PCR
    - Einzelzell (real-time, one-step-RT)
    - High Resolution Melting Curve Analysis
    - Durchfluss PCR (real-time)
- Zellbasierte Reporter Assays (Ionenkanäle, GFP-Reportersysteme)
- Durchfluss-Mikroskopie & Spektral Imaging
- Integrierte optisch auslesbare, nanopartikelbasierte Sensorik
- Genombasierte Wirkstoffsuche
- Einzelzellmanipulation und Einzelzell-Diagnostik

## Entwicklungsbeispiel: Mikrofluidic Laboratory Disk für die Überwachung von Fermentationsverfahren



Integration von:

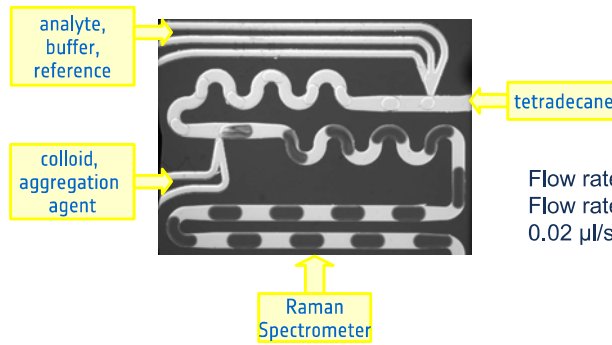
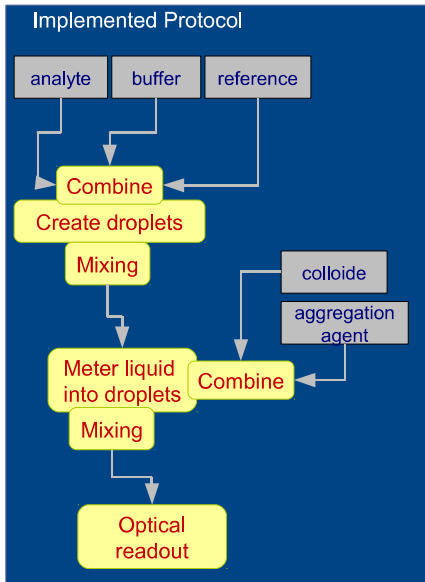
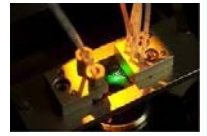
- DNA Mikroextraktion (IMTEK/HSG-IMIT)
- Durchfluss-PCR (IPHT)
- Real-time-PCR-Detektion (Analytik Jena)

Entwicklungspartner:

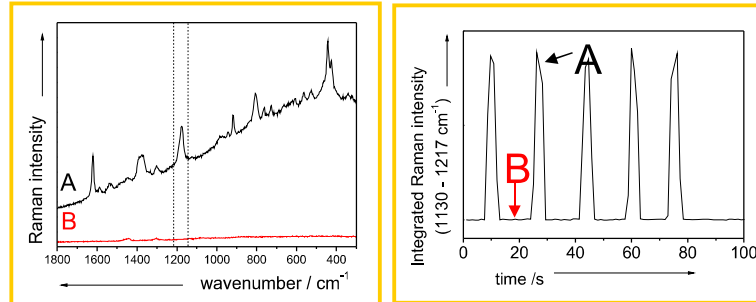
- AJ Group
- HNP Mikrosysteme
- Impfstoffwerke Dessau
- BBI Biotech
- HSG-IMIT Freiburg
- IPHT

MinaMed-Disk, montiert in Messplatz für Inbetriebnahmeuntersuchungen

# Entwicklungsbeispiel: Tropfenbasiertes Lab-on-a-Chip-System für die oberflächenverstärkte Raman-Spektroskopie (SERS)



Flow rate tetradecane: 0.1  $\mu\text{l/s}$   
Flow rate analyte and colloid: 0.02  $\mu\text{l/s}$

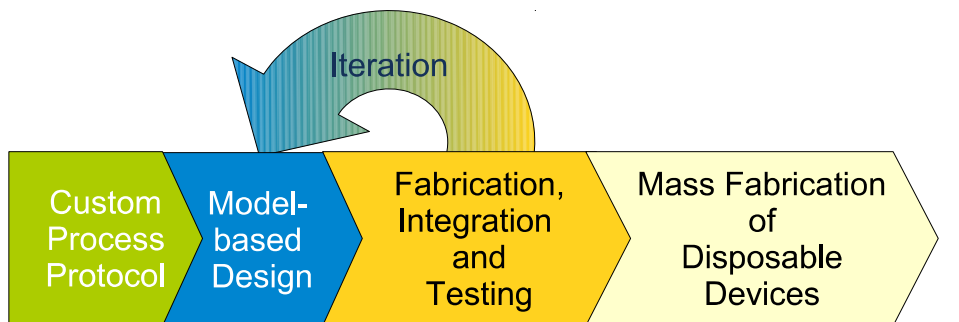
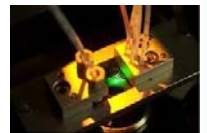


Spectrum B is measured in the separation fluid tetradecane and spectrum A in the aqueous droplet

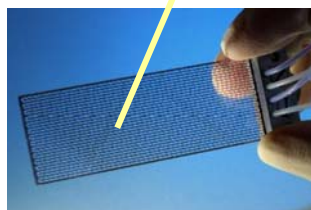
Alternating peaks, showing the integrated Raman intensity in the selected wavenumber region. No memory effect could be observed

K. Strehle, D. Cialla, P. Rösch, T. Henkel, M. Köhler, J. Popp, *Anal. Chem.* 2007, 79 (4), 1542-1547.

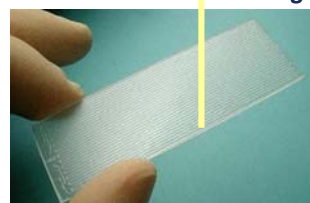
## Lab-on-a-Chip-Entwicklung



Microsystems technologies



Replikation technologies

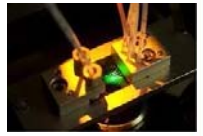


Reichert et al. (2008), *J. Bionic Engineering*, 5, 291-298

Effiziente Entwicklung = Vermeidung zusätzlicher Entwicklungszyklen

erfordert Detailwissen zu Funktionsstrukturen und Skalierungsregeln

**MESSEN ist der Schlüssel zum VERSTÄNDNIS!!**



## Ermittlung von Kennlinien und Skalierungsregeln

### Wie wird gemessen?

- a) Messgrößen in ihrem lokalen und zeitlichen Kontext.
- b) instationäre Szenen → kurze Expositionszeiten, hohe Abtastrate

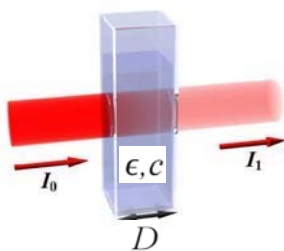
### Warum wird gemessen? / Gibt es Alternativen?

- c) Parameterstudien mit CFD-Verfahren sind zeitaufwändig (Monate) und erfordern eine Validierung auf Grundlage von Messdaten
- d) Der Kunde fordert den Nachweis der korrekten Funktion des entwickelten Bauelementes als Voraussetzung zur Zulassung des Systems z. B. für klinische Tests.
- e) Die gemessenen Kennlinien bilden die Grundlage der Designoptimierung.

Messverfahren	Messgröße	Abtastrate:
Druck/Durchsatz-Sensorik	Druck / Flussrate an ausgewählten Messpositionen	< kHz
Particle Imaging Velocimetry	Phaseninterne Strömungsmuster (2D)	< kHz
<b>Absorbance Imaging</b>	<b>Tropfenvolumen (3D)</b> <b>Geometrie der Phasengrenze (3D)</b> <b>exakte Geometrie der Funktionsstruktur (3D)</b>	<b>&lt; kHz</b>

## Das densitometrische Messverfahren "Absorbance Imaging"

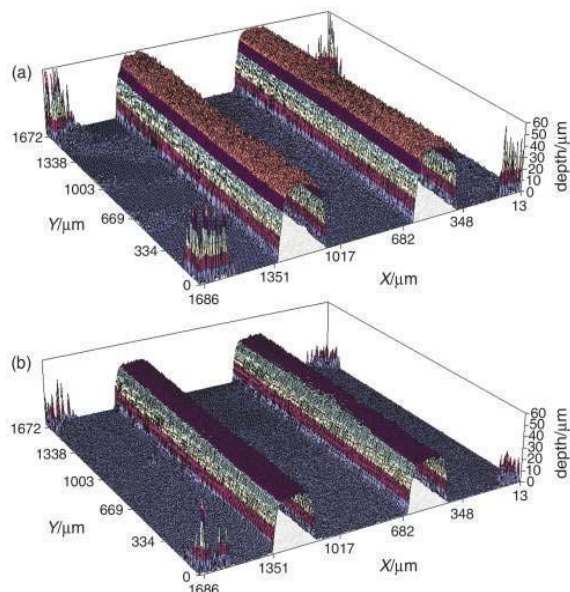
Grundlage:  
Das Lambert Beersche Gesetz



$$A = -\log \frac{I}{I_{Null}} = \epsilon * c * D$$

$$A \propto D$$

Anwendungsfall:  
Geometrievermessung an Mikrokanälen

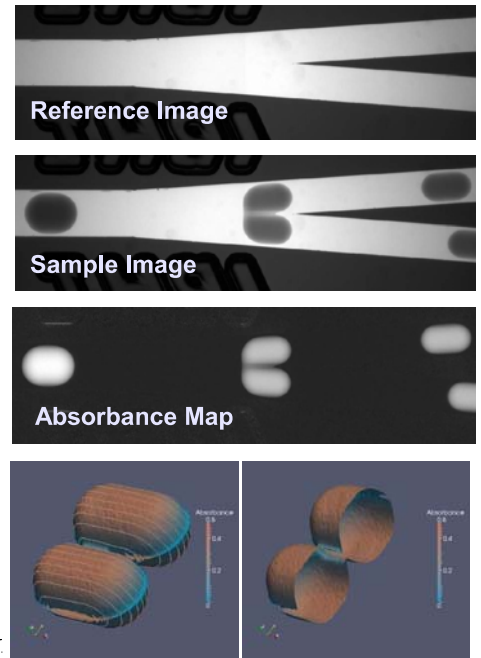
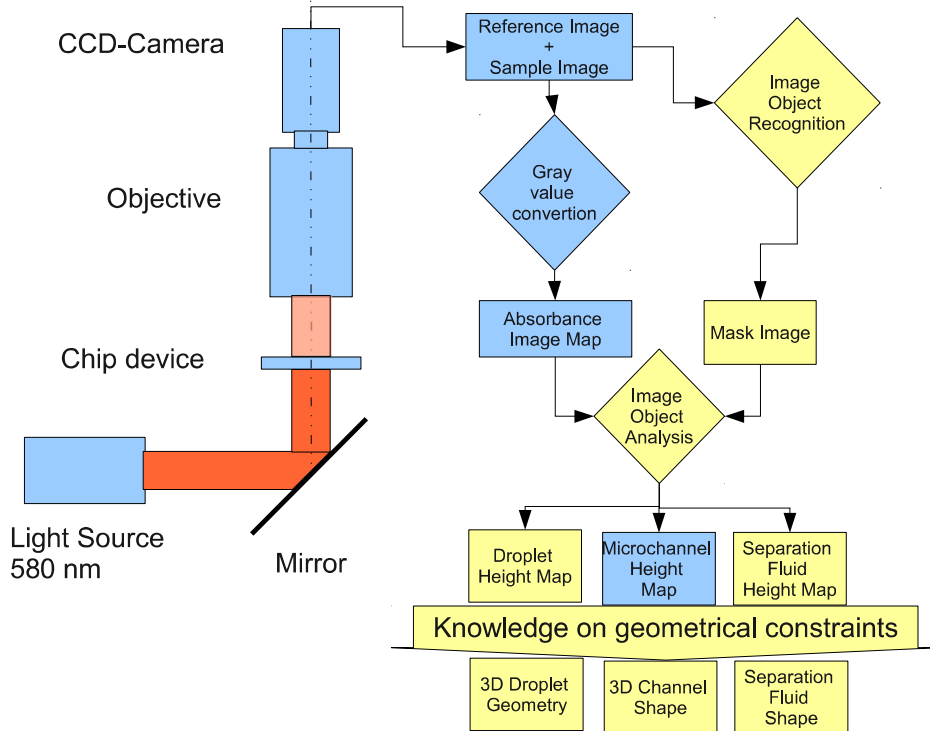


Broadwell, I.; Fletcher, P. D. I.; Haswell, S. J.; McCreedy, T. & Zhang, X. L. (2001), 'Quantitative 3-dimensional profiling of channel networks within transparent 'lab-on-a-chip' microreactors using a digital imaging method', *Lab. Chip.* 1(1), 66--71.

# Erweiterung des Messverfahrens "Absorbance Imaging"

(Erweiterungen gelb hinterlegt)

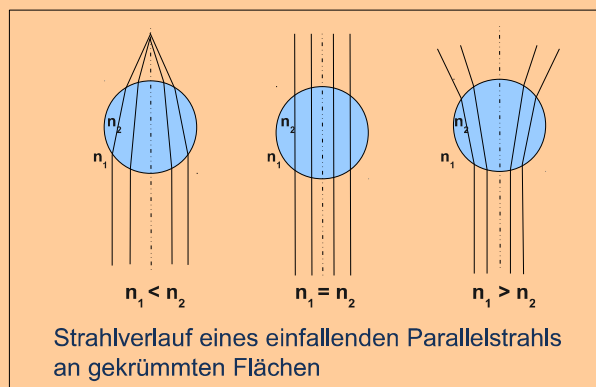
Messbeispiel Aliquotieren



Droplet Shape Reconstruction

## Verfügbarkeit geeigneter Testfluide

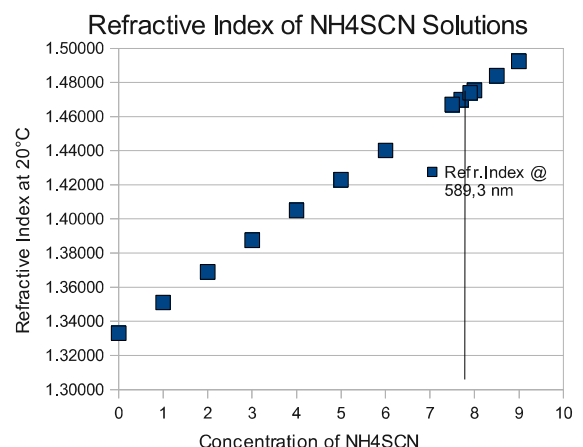
Alle beteiligten Fluide müssen an den Brechungsindex des Chipmaterials angepasst werden



Brechungsindizes der verwendeten Materialien und Fluide:

- Dekalin: 1.48
- Borofloat33: 1.472
- NH4SCN 7.9 mol/l: 1.474

Tracerfarbstoff:  
Bromphenolblau, zugesetzt in NH4SCN-Lösung



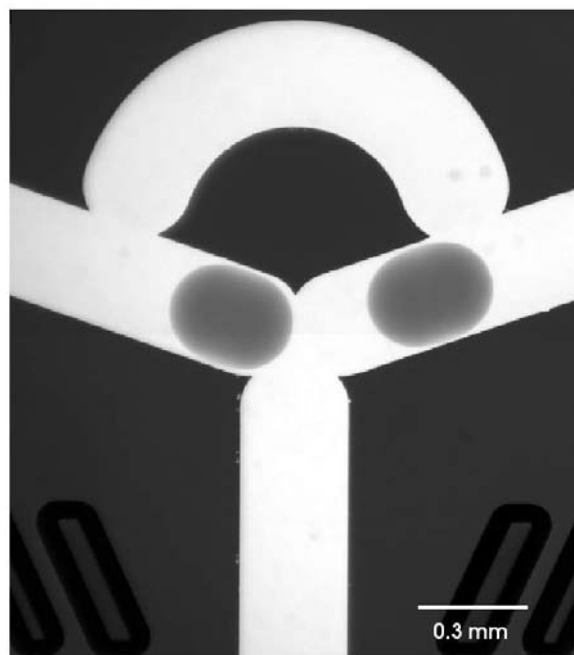
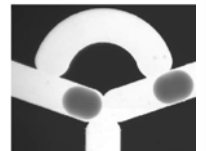


Die hydrodynamischen Eigenschaften der Fluide stimmen mit denen der in Assays eingesetzten Fluide überein.

Hydrodynamische Eigenschaften, Benetzungseigenschaften und Grenzflächenspannung müssen mit denen der im Assay benutzten Fluide übereinstimmen.

		Assay (Mineralöl/Wasser)	Absorbance Imaging (Dekalin/NH <sub>4</sub> SCN-Lsg)
Viskosität	kontinuierliche Phase	2.4 mPas	2.42 mPas
	dispergierte Phase	1.0 mPas	1.8 mPas
Grenzflächenspannung	kont.Phase / dispergierte Phase	48 mN/m	38 mN/m
Kontaktwinkel	Fluid1 /Fluid2 / Wand	180°	180°

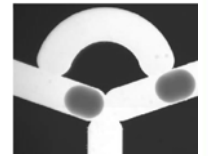
### Messbeispiel 1: Droplet Merger



Time: 8.217 s

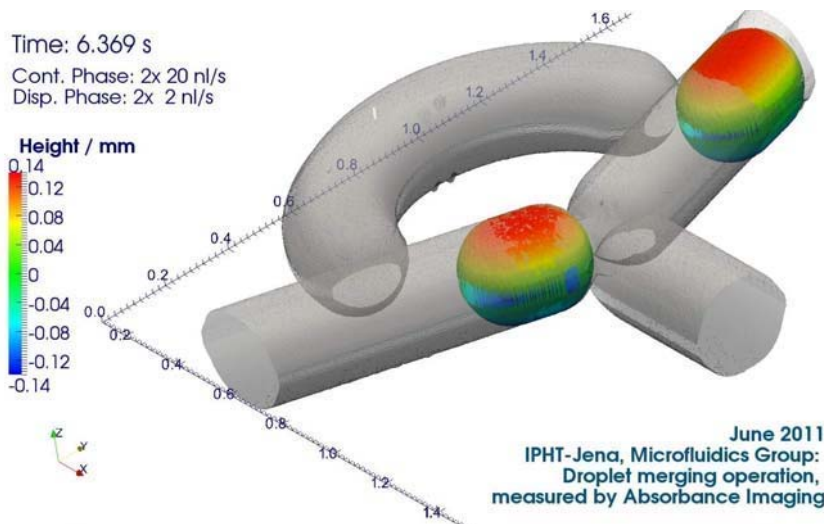
June 2011  
 IPHT-Jena, Microfluidics Group:  
 Droplet merging process raw data for Absorbance Imaging.

Cont. Phase: 2x 20 nl/s  
 Disp. Phase: 2x 2 nl/s



## Datenaufbereitung

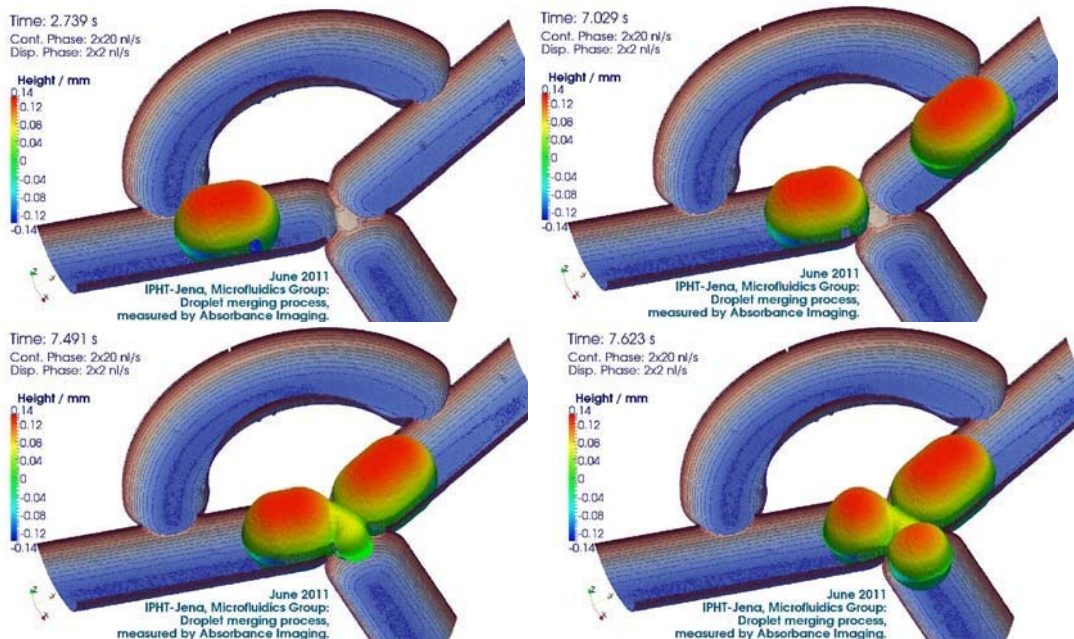
Daten aus unabhängigen Messungen können in einem Datensatz zusammengeführt werden. Voraussetzung: exakte Kalibrierung



Kanalgeometrie: Grau + transparent dargestellt.  
 Tropfenbereiche außerhalb des Kanals erscheinen in kräftigen Farben.  
 Dies wird nur bei geringen Anteil der Tropfenfläche beobachtet (entspricht Rauschen)  
 Korrekte Zusammenführung der Datensätze Kanalgeometrie und Tropfenvereinigung

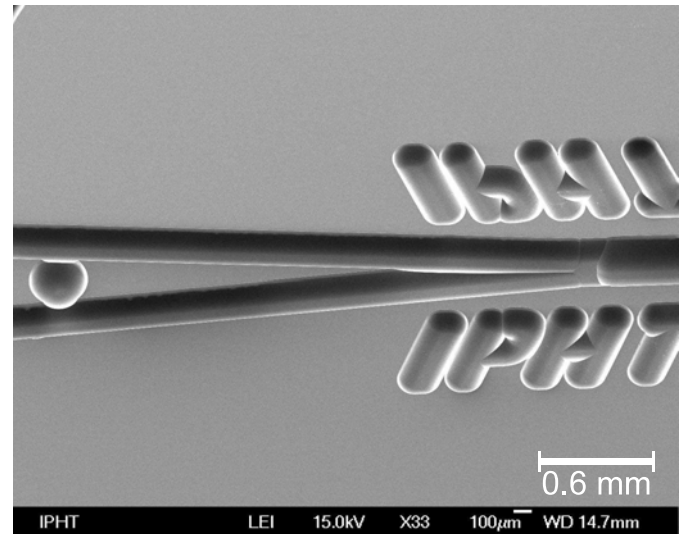
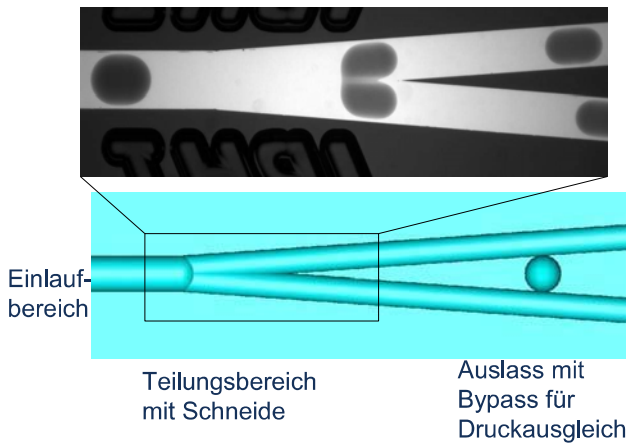
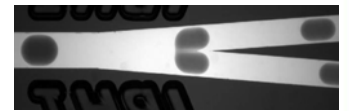


Dynamische Prozesse an Phasengrenzen können visualisiert werden, Der Betrachter kann den Beobachtungspunkt frei wählen.



Geometrieänderungen der Phasengrenzen – Ergebnis des Zusammenspiels von Grenzflächen- und hydrodynamischen Kräften an Mikrostrukturen

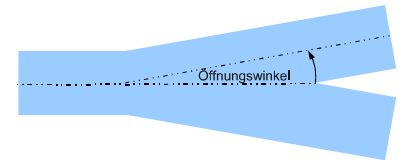
## Messbeispiel 2: Vergleichende Vermessung von Tropfenteiler-Geometrien



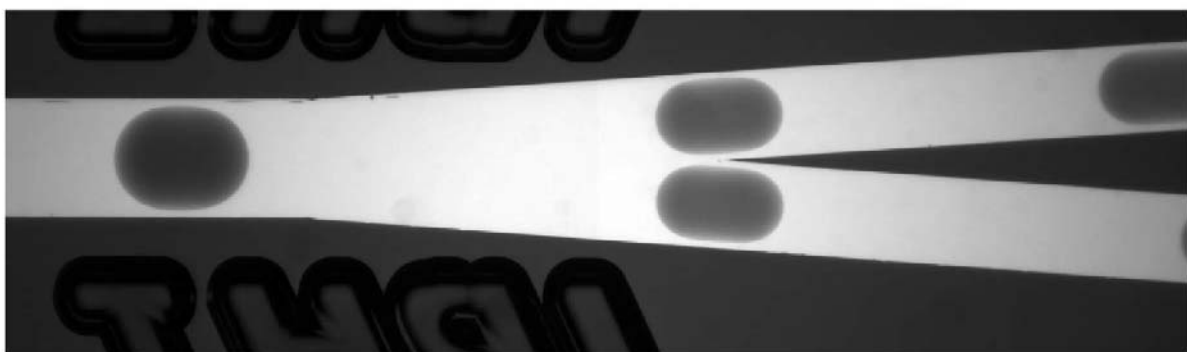
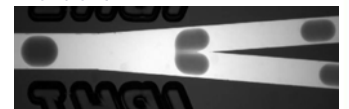
Fragestellung:

Welchen Einfluss hat der Öffnungswinkel des Tropfenteilers auf die Prozesssicherheit des Verfahrens.

Ziel: Aliquotieren von Tropfen



## Messbildsequenz



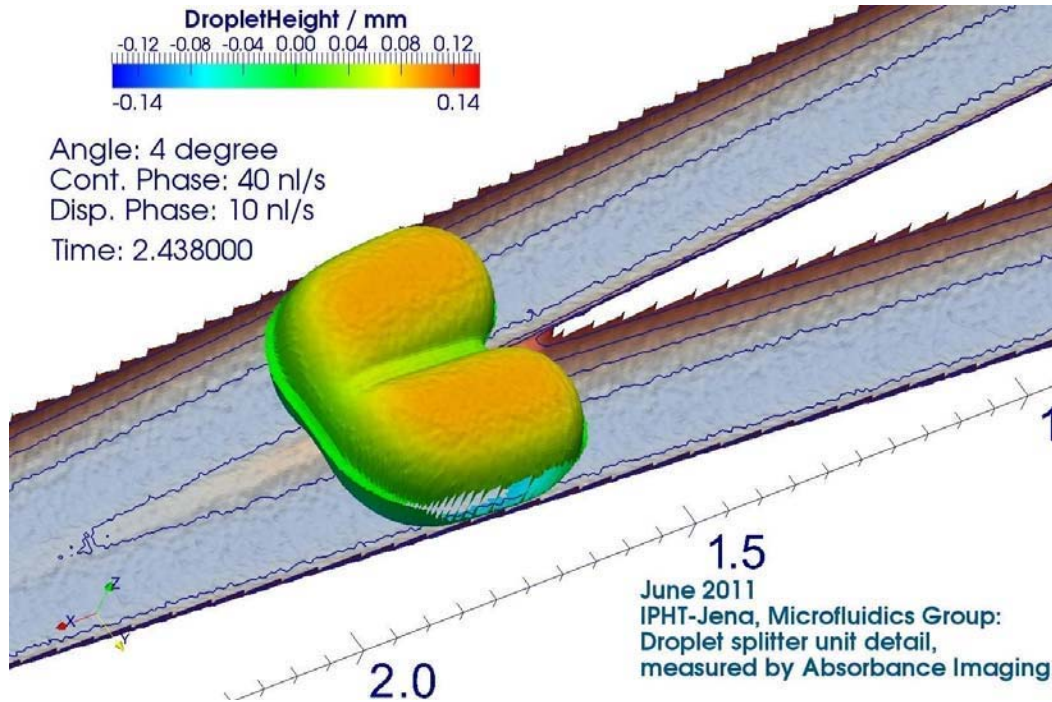
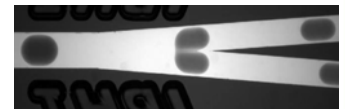
Angle: 4 degree  
 Cont. Phase: 40 nl/s  
 Disp. Phase: 10 nl/s  
 Time: 0.954000

June 2011  
 IPHT-Jena, Microfluidics Group:  
 Droplet splitting unit detail,  
 raw data for analysis by Absorbance Imaging.

Beobachtung: Die Tropfen treten mit unterschiedlicher Geschwindigkeit aus.  
 Welche Auswirkung hat dies auf die Präzision der Teilung?

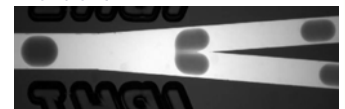


### 3D-Rekonstruktion des Teilungsprozess



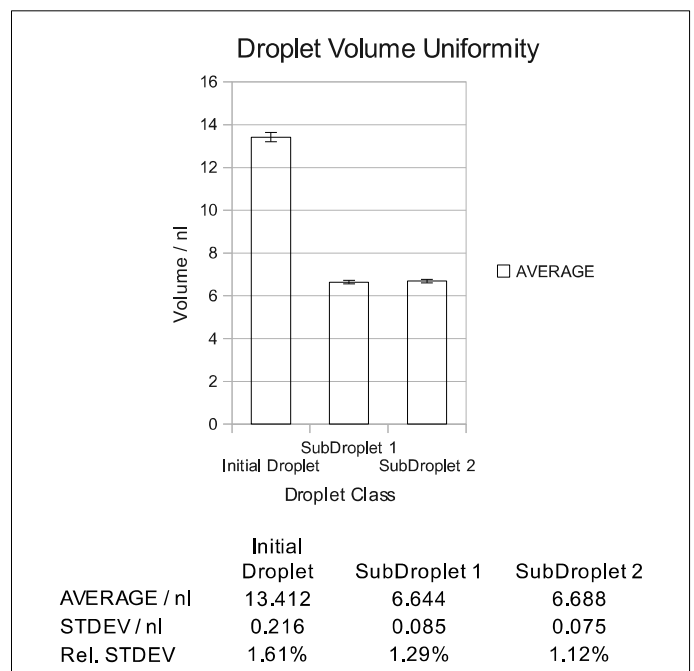
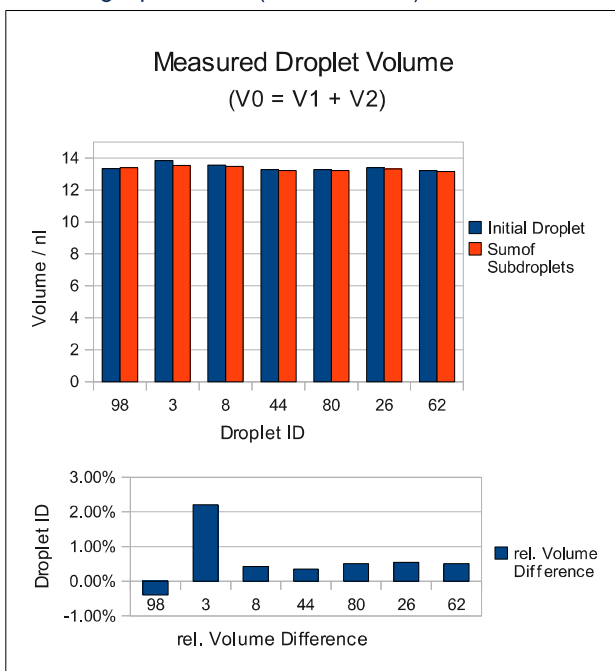
Übersicht Tropfenteilung an Funktionsstruktur, Öffnungswinkel 4°

### Volumenvermessung der Tropfen



1) Charakterisierung der Präzision des Messverfahrens durch Vergleich des Tropfenvolumens vor und nach der Teilungsoperation: ( $V_0 = V_1 + V_2$ )

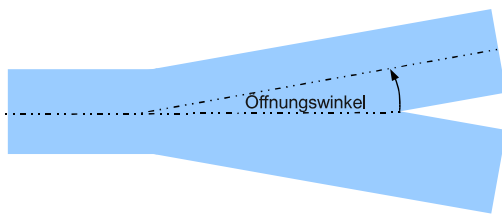
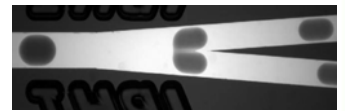
2) Bewertung der Uniformität des Tropfenvolumens vor und nach der Teilung



Die rel. Volumenfehler der Teilungsoperationen beträgt 1.6 % (einfache rel. Standardabweichung) Dieser beinhaltet Volumenfehler bei Tropfenerzeugung, Teilungs- und Messfehler.



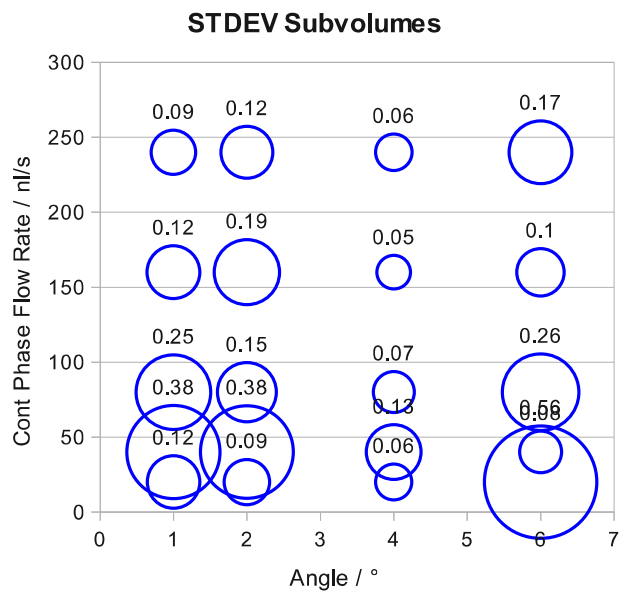
## Einfluss des Öffnungswinkels auf die Uniformität der Tropfenteilung



Messgröße ist die Standardabweichung der Volumina der in einem Kanal gebildeten Tropfen in Abhängigkeit von Flussrate und Öffnungswinkel.

Das Ausgangsvolumen beträgt ca. 13 nl.

Die Datenlabel geben die Standardabweichung in Nanolitern an.



Die maximale Gleichförmigkeit der Tropfenteilung wird bei einem Öffnungswinkel von 4° beobachtet.  
Die Standardabweichung liegt bei ca. 0.1 nl

## Zusammenfassung

Absorbance Imaging ist ein wertvolles Werkzeug für Mikrofluidik und Lab-on-a-Chip-Technologie

als quantitatives Messverfahren für die präzise Vermessung nichtstationärer 3D Objekte und

als qualitatives Verfahren zur Visualisierung der Dynamik von Phasengrenzen an Funktionsstrukturen.

Limitierend erweist sich derzeit der recht hohe manuelle Aufwand bei Datenaufbereitung und Visualisierung sowie der Rechenaufwand für die Anwendung von Bildverarbeitungsalgorithmen auf dreidimensionale Datensätze.

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit

**FAG Mikrofluidik**

Daniell Malsch

Peter Horbert

Nils Gleichmann

Eileen Heinrich

Matthias Urban

Tina Vasold

Anett Reichert

Mark Kielpinski

**FAG Mikrosystemtechnologien**

Günter Mayer

Elmar Voigt

Jens Albert

Margitta Sossna

Denise Horn

Gabriele Schmidl