Methode zur Auslegung mikrofluidischer Bauteile für beadbasierte Analysesysteme in der medizinischen Diagnostik

Von der Fakultät für Maschinenbau
der Universität Stuttgart zur Erlangung der Würde eines
Doktor-Ingenieurs (Dr.-Ing.) genehmigte Abhandlung

vorgelegt von
Dipl.-Ing. Claus Kuhn
aus 73087 Boll

Hauptberichter:	Univ.-Prof. Dr.-Ing. Prof. E.h. Dr.-Ing. E.h. Dr. h.c. mult. Engelbert Westkämper
Mitberichter:	Univ.-Prof. Dr.-Ing. Roland Zengerle

Tag der mündlichen Prüfung: 21. Oktober 2005

Institut für Industrielle Fertigung und Fabrikbetrieb der Universität Stuttgart
2005

IPA-IAO Forschung und Praxis

Berichte aus dem
Fraunhofer-Institut für Produktionstechnik und
Automatisierung (IPA), Stuttgart,
Fraunhofer-Institut für Arbeitswirtschaft und
Organisation (IAO), Stuttgart,
Institut für Industrielle Fertigung und
Fabrikbetrieb (IFF), Universität Stuttgart
und Institut für Arbeitswissenschaft und
Technologiemanagement (IAT), Universität Stuttgart

Herausgeber:
Univ.-Prof. Dr.-Ing. Prof. e.h. Dr.-Ing. e.h. Dr. h.c. mult. Engelbert Westkämper
und
Univ.-Prof. Dr.-Ing. habil. Prof. e.h. Dr. h.c. Hans-Jörg Bullinger
und
Univ.-Prof. Dr.-Ing. Dieter Spath

Universität Stuttgart
Institut für Industrielle Fertigung und Fabrikbetrieb

Fraunhofer Institut Produktionstechnik und Automatisierung

Claus Kuhn

Methode zur Auslegung mikrofluidischer Bauteile für beadbasierte Analysesysteme in der medizinischen Diagnostik

Nr. 430

JOST-JETTER VERLAG
Fachverlag · 71296 Heimsheim

Dr.-Ing. Claus Kuhn
Fraunhofer-Institut für Produktionstechnik und Automatisierung (IPA), Stuttgart

Univ.-Prof. Dr.-Ing. Prof. e.h. Dr.-Ing. e.h. Dr. h.c. mult. Engelbert Westkämper
ord. Professor an der Universität Stuttgart
Fraunhofer-Institut für Produktionstechnik und Automatisierung (IPA), Stuttgart

Univ.-Prof. Dr.-Ing. habil. Prof. e.h. Dr. h.c. Hans-Jörg Bullinger
ord. Professor an der Universität Stuttgart
Präsident der Fraunhofer-Gesellschaft, München

Univ.-Prof. Dr.-Ing. Dieter Spath
ord. Professor an der Universität Stuttgart
Fraunhofer-Institut für Arbeitswirtschaft und Organisation (IAO), Stuttgart

D 93

ISBN 3-936947-75-9 Jost Jetter Verlag, Heimsheim

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt. Die dadurch begründeten Rechte, insbesondere die der Übersetzung, des Nachdrucks, des Vortrags, der Entnahme von Abbildungen und Tabellen, der Funksendung, der Mikroverfilmung oder der Vervielfältigung auf anderen Wegen und der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen, bleiben, auch bei nur auszugsweiser Verwertung, vorbehalten. Eine Vervielfältigung dieses Werkes oder von Teilen dieses Werkes ist auch im Einzelfall nur in den Grenzen der gesetzlichen Bestimmungen des Urheberrechtsgesetzes der Bundesrepublik Deutschland vom 9. September 1965 in der jeweils gültigen Fassung zulässig. Sie ist grundsätzlich vergütungspflichtig. Zuwiderhandlungen unterliegen den Strafbestimmungen des Urheberrechtsgesetzes.
© Jost Jetter Verlag, Heimsheim 2005.
Printed in Germany.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Sollte in diesem Werk direkt oder indirekt auf Gesetze, Vorschriften oder Richtlinien (z. B. DIN, VDI, VDE) Bezug genommen oder aus ihnen zitiert worden sein, so kann der Verlag keine Gewähr für die Richtigkeit, Vollständigkeit oder Aktualität übernehmen. Es empfiehlt sich, gegebenenfalls für die eigenen Arbeiten die vollständigen Vorschriften oder Richtlinien in der jeweils gültigen Fassung hinzuzuziehen.

Druck: printsystem GmbH, Heimsheim

Geleitwort der Herausgeber

Über den Erfolg und das Bestehen von Unternehmen in einer marktwirtschaftlichen Ordnung entscheidet letztendlich der Absatzmarkt. Das bedeutet, möglichst frühzeitig absatzmarktorientierte Anforderungen sowie deren Veränderungen zu erkennen und darauf zu reagieren.

Neue Technologien und Werkstoffe ermöglichen neue Produkte und eröffnen neue Märkte. Die neuen Produktions- und Informationstechnologien verwandeln signifikant und nachhaltig unsere industrielle Arbeitswelt. Politische und gesellschaftliche Veränderungen signalisieren und begleiten dabei einen Wertewandel, der auch in unseren Industriebetrieben deutlichen Niederschlag findet.

Die Aufgaben des Produktionsmanagements sind vielfältiger und anspruchsvoller geworden. Die Integration des europäischen Marktes, die Globalisierung vieler Industrien, die zunehmende Innovationsgeschwindigkeit, die Entwicklung zur Freizeitgesellschaft und die übergreifenden ökologischen und sozialen Probleme, zu deren Lösung die Wirtschaft ihren Beitrag leisten muss, erfordern von den Führungskräften erweiterte Perspektiven und Antworten, die über den Fokus traditionellen Produktionsmanagements deutlich hinausgehen.

Neue Formen der Arbeitsorganisation im indirekten und direkten Bereich sind heute schon feste Bestandteile innovativer Unternehmen. Die Entkopplung der Arbeitszeit von der Betriebszeit, integrierte Planungsansätze sowie der Aufbau dezentraler Strukturen sind nur einige der Konzepte, welche die aktuellen Entwicklungsrichtungen kennzeichnen. Erfreulich ist der Trend, immer mehr den Menschen in den Mittelpunkt der Arbeitsgestaltung zu stellen - die traditionell eher technokratisch akzentuierten Ansätze weichen einer stärkeren Human- und Organisationsorientierung. Qualifizierungsprogramme, Training und andere Formen der Mitarbeiterentwicklung gewinnen als Differenzierungsmerkmal und als Zukunftsinvestition in *Human Resources* an strategischer Bedeutung.

Von wissenschaftlicher Seite muss dieses Bemühen durch die Entwicklung von Methoden und Vorgehensweisen zur systematischen Analyse und Verbesserung des Systems Produktionsbetrieb einschließlich der erforderlichen Dienstleistungsfunktionen unterstützt werden. Die Ingenieure sind hier gefordert, in enger Zusammenarbeit mit anderen Disziplinen, z. B. der Informatik, der Wirtschaftswissenschaften und der Arbeitswissenschaft, Lösungen zu erarbeiten, die den veränderten Randbedingungen Rechnung tragen.

Die von den Herausgebern langjährig geleiteten Institute, das

- Fraunhofer-Institut für Produktionstechnik und Automatisierung (IPA),

- Fraunhofer-Institut für Arbeitswirtschaft und Organisation (IAO),

- Institut für Industrielle Fertigung und Fabrikbetrieb (IFF), Universität Stuttgart,

- Institut für Arbeitswissenschaft und Technologiemanagement (IAT), Universität Stuttgart

arbeiten in grundlegender und angewandter Forschung intensiv an den oben aufgezeigten Entwicklungen mit. Die Ausstattung der Labors und die Qualifikation der Mitarbeiter haben bereits in der Vergangenheit zu Forschungsergebnissen geführt, die für die Praxis von großem Wert waren. Zur Umsetzung gewonnener Erkenntnisse wird die Schriftenreihe „IPA-IAO - Forschung und Praxis“ herausgegeben. Der vorliegende Band setzt diese Reihe fort. Eine Übersicht über bisher erschienene Titel wird am Schluss dieses Buches gegeben.

Dem Verfasser sei für die geleistete Arbeit gedankt, dem Jost Jetter Verlag für die Aufnahme dieser Schriftenreihe in seine Angebotspalette und der Druckerei für saubere und zügige Ausführung. Möge das Buch von der Fachwelt gut aufgenommen werden.

Engelbert Westkämper Hans-Jörg Bullinger Dieter Spath

Vorwort

Die vorliegende Arbeit entstand während meiner Tätigkeit als wissenschaftlicher Mitarbeiter am Fraunhofer-Institut für Produktionstechnik und Automatisierung IPA, Stuttgart.

Herrn Univ.-Prof. Dr.-Ing. Prof. E.h. Dr.-Ing. E.h. Dr. h.c. mult. Engelbert Westkämper danke ich für seine wohlwollende Unterstützung und Förderung der Arbeit.

Herrn Univ.-Prof. Dr.-Ing. Roland Zengerle danke ich für die Durchsicht der Arbeit und für die Übernahme des Mitberichts.

Allen beteiligten Mitarbeitern des Institutes danke ich für ihre Unterstützung. Besonderer Dank gebührt den Herren Dr.rer.nat. Michael Fritsche, Dipl.-Ing. Jan Stallkamp und Dr.-Ing. Jochen Schliesser für die kritischen Diskussionen und anregende Kritik sowie Herrn Prof. Dr.-Ing. Dr. h.c. mult. Rolf Dieter Schraft für seine Förderung.
Vom Lehrstuhl Anwendungsentwicklung des IMTEK in Freiburg möchte ich besonders Herrn Dipl.-Phys. Markus Grumann dankend hervorheben.

Meiner Familie, insbesondere meinen Kindern Jannik und Julia, danke ich für ihr Verständnis während der Erstellung der Arbeit. Meinen Eltern danke ich für die fortwährende Unterstützung und Förderung.

Stuttgart, im Oktober 2005 Claus Kuhn

Inhalt

Inhaltsverzeichnis 9

Abkürzungen und Formelzeichen 13

1 Einleitung 17

1.1 Problemstellung 17

1.2 Zielsetzung und Vorgehensweise 18

2 Ausgangssituation 21

2.1 Molekulare medizinische Diagnostik 21

2.2 Festphasenbasierte Analytik 24

2.3 Bestehende beadbasierte Analysesysteme und Anwendungen 26

2.4 Mikrofluidische Bauteile in der medizinischen Forschung und Diagnostik . . 27

3 Analyse der Aufgabenstellung und Ableitung der Anforderungen 29

3.1 Methode zur Bauteilentwicklung 29

3.2 Analyse der Anwendung "beadbasiertes Affinitätsassay" 30

3.3 Ableitung von Anforderungen an den mikrofluidischen Probenträger und die Beads 32

3.3.1 Anforderungen an die Beads 33

3.3.2 Anforderungen an den mikrofluidischen Probenträger 33

3.3.2.1 Einlaufzone 33

3.3.2.2 Analysekammer 34

3.3.2.3 Auslaufzone 34

3.3.3 Zusammenfassung der Anforderungen an die funktionalen Bereiche 34

3.4 Analyse strömungstechnischer Randbedingungen bei der Auslegung mikrofluidischer Probenträger 35

3.4.1 Analyse der strömungstechnischen Randbedingungen 35

3.4.2 Anwendung der Randbedingungen auf den mikrofluidischen Probenträger. 39

3.5 Ableitung von Anforderungen an die Methode zur Auslegung mikrofluidischer Bauteile für Zweiphasenströmungen 41

3.5.1 Anforderungen an die grundlegende geometrische Auslegung des mikrofluidischen Probenträgers 41

3.5.2 Anforderungen an die Designevaluierung mittels Simulation 41

3.5.3 Ableitung von Hilfsmitteln zur Evaluierung der Methode und des Simulationsmodells 42

4 Stand der Technik zur Auslegung mikrofluidischer Bauteile für Zweiphasenströmungen 43

4.1 Geometrische Grundlagen zur Aggregation von Teilchen 43

4.2 Teilchenströmung in Fluiden 45

4.2.1 Euler-Euler-Verfahren 45

4.2.2 Euler-Lagrange-Verfahren 45

4.2.3 Modellierung über „Moving Body Constraint“ 47

4.2.4 Dissipative Particle Dynamics 47

4.2.5 Strömungen durch poröse Medien 48

4.2.6 Werkzeuge zur Simulation von Zweiphasenströmungen 51

5 Entwicklung einer Methode zur Auslegung mikrofluidischer Probenträger 53

5.1 Entwicklung einer Geometrie zur Erzielung einer stabilen Schüttung in der Analysekammer 53

5.1.1 Konzept der orthogonalen rechteckigen Analyse-kammer, Monolage 54

5.1.1.1 Diskussion der orthogonalen rechteckigen Analysekammer . .57

5.1.1.2 Berechnung der Seitenlängen der orthogonalen rechteckigen Analysekammer 57

5.1.2 Konzept der verkippten rechteckigen Analysekammer, Monolage . . .58

5.1.2.1 Diskussion der verkippten rechteckigen Analysekammer 59

5.1.2.2 Berechnung der Seitenlängen der verkippten rechteckigen Analysekammer 59

5.1.3 Bewertung der Kammerformen 60

5.1.4 Konzeption eines mikrofluidischen Probenträgers 61

5.1.5 Einfluss der hydraulischen Widerstände der einzelnen Komponenten 63

5.2 Voruntersuchungen zur Abbildung der Beadströmung innerhalb des mikrofluidischen Probenträgers in einem Modell 65

5.2.1 Nachweis der laminaren Strömung innerhalb der Analysekammer . . .65

5.2.2 Entwicklung eines Modells für die Einphasensimulation 67

5.2.3 Entwicklung eines Modells für die Zweiphasensimulation 70

5.2.3.1 Euler-Euler-Verfahren 70

5.2.3.2 Euler-Lagrange-Verfahren 70

5.3 Entwicklung eines Konzeptes zur Integration der Aggregation der Beads in der Analysekammer in das Modell zur Zweiphasensimulation 72

6 Realisierung der Versuchsplattform und Bestimmung einzelner Parameter 77

6.1 Konzeption eines Testkörpers und der Versuchsplattform 77

6.1.1 Entwicklung eines Konzeptes zur Bestimmung des α-Faktors 77

6.1.2 Konzeption der Versuchsplattform 79

6.2 Realisierung des Testkörpers und der Versuchsplattform 81

6.2.1 Realisierung des Testkörpers 81

6.2.2 Realisierung der Versuchsplattform 82

6.3 Bestimmung des α-Faktors für die Simulation von Strömungen durch poröse Medien 84

6.3.1 Versuchsdurchführung zur Bestimmung des Flussratenverhältnisses 84

6.3.2 Durchführung der Simulation und Ableitung der Parameter α und η_e 86

7 Validierung und Bewertung 95

7.1 Zweiphasensimulation gekoppelt mit porösen Medien 95

7.1.1 Bestimmung von Einflussfaktoren auf das Ergebnis der Zweiphasensimulation 95

7.1.2 Realisierung des Gesamtmodells: Kopplung der Zweiphasensimulation mit der Strömung durch poröse Medien 97

7.2 Experimentelle Verifizierung der Simulationsergebnisse 102

7.2.1 Realisierung des mikrofluidischen Probenträgers und Durchführung der Versuche 102

7.2.2 Vergleich der experimentellen Daten mit der Simulation 104

7.3 Diskussion und Zusammenfassung 107

8 Zusammenfassung und Ausblick 109

8.1 Zusammenfassung 109

8.2 Ausblick 111

9 Summary 113

10 Literaturverzeichnis 119

11 Glossar 127

Abkürzungen und Formelzeichen

Lateinische Buchstaben

A	[m^2]	Fläche
a	[mm]	Breite der Analysekammer
a_F		Forchheimer-Konstante
a_G	[mm]	Gitterkonstante
A_v		Aspektverhältnis
b	[mm]	Länge der Analysekammer
C_{nc}	-	geometrieabhängiger Koeffizient des hydraulischen Widerstandes
CCD	-	charged coupled device
CD		Compact Disk
CFD	-	Computational Fluid Dynamics
d	[m]	Durchmesser
d_{hd}	[mm]	hydraulischer Durchmesser
d_{Bead}	[mm]	Beaddurchmesser
Di-Wasser	-	deionisiertes Wasser
DNA	-	Deoxyribonucleicacid (Erbsubstanz)
DPD	-	Dissipative Particle Dynamics
FACS	-	fluorescence analysis cell sorter
g	[m/s^2]	Erdbeschleunigung
F_R	[N]	Reibungskraft
h_{W2D}	[mm]	Höhe eines gleichseitigen Dreiecks
I_m	[m^3/s]	Massenfluss
$I_{m(Mess)}$	[m^3/s]	Massenfluss des Messkanals

$I_{m(Referenz)}$	[m^3/s]	Massenfluss des Referenzkanals
l	m	Länge
[K]	-	Permeabilitätstensor
k	[m^2]	Permeabilität
k_f	[m/s]	Durchlässigkeitsbeiwert
L	[L]	Liter
m	-	ungerade Anzahl
MTP	-	Mikrotiterplatte
n	-	Anzahl
N	-	natürliche Zahl
OP	-	Operationssaal
p	[Pa]	Druck
Q	[L/h]	Volumenstrom
r	[mm]	Radius
Re	-	Reynoldszahl
R_{hd}	[Pas/kg]	hydraulischer Widerstand
$R_{hd(in\ n)}$	[Pas/kg]	hydraulischer Widerstand Einlaufzonen
$R_{hd(ch)}$	[Pas/kg]	hydraulischer Widerstand Analysekammer
$R_{hd(out\ n)}$	[Pas/kg]]	hydraulischer Widerstand Auslaufzonen
$R_{hd\ (A)}$	[Pas/kg]	hydraulischer Widerstand der Auslaufzone
$R_{hd\ (B)}$	[Pas/kg]	hydraulischer Widerstand des mit Beads gefüllten Teils der Aggregationskammer
$R_{hd\ (M)}$	[Pas/kg]	hydraulischer Widerstand der Aggregationskammer
$R_{hd\ (Mb)}$	[Pas/kg]	hydraulischer Widerstand des leeren Teils der Aggregationskammer
$R_{hd\ (Mess)}$	[Pas/kg]	hydraulischer Widerstand des Messkanals

$R_{hd(Referenz)}$	[Pas/kg]	hydraulischer Widerstand des Referenzkanals
r_{Bead}	mm	Beaddurchmesser
µ-TAS	-	miniaturised total analysis systems
V_f	[m^3]	Volumen, das vom Fluid in einem porösen Körper eingenommen wird
V	[m^3]; [L]	Volumen

Griechische Symbole

α	-	α-Faktor
η	[Pas]	Viskosität
η_e	[Pas]	effektive Viskosität
$\grave{v}$	[m/s]	Geschwindigkeitsfeld
ϕ	-	Porosität
ρ	[mg/mm^3]	spez. Gewicht des Fluids

1 Einleitung

1.1 Problemstellung

Auf dem Gebiet der Molekularbiologie hat in den letzten Jahren eine rasante Entwicklung stattgefunden. Die Aufklärung von Krankheitsmechanismen auf molekularer Ebene findet verstärkt Eingang in die verschiedensten Bereiche der Medizin und medizinischen Diagnostik /Bor_00/, /Kat_01/, /Joy_02/. Damit steigt die Anzahl der möglichen zu untersuchenden Parameter durch die ausführenden Ärzte, Kliniken und Labors, was einerseits eine hohe Flexibilität in der Testzusammenstellung und andererseits eine Parallelisierung der Durchführung der einzelnen Tests erfordert. Die hochsensitiven, molekularbiologischen Analysemethoden ermöglichen auch die Miniaturisierung und Parallelisierung von Test- und Forschungssystemen /Kri_98/, /Cah_01/, /Are_00/. Dies ist die Voraussetzung für innovative Konzepte wie Point-of-Care Diagnostik, d.h. eine schnelle, patientennahe Durchführung von Laboruntersuchungen. Die Point-of-Care Diagnostik ist auch Voraussetzung für eine individualisierte Therapie. Im Gegensatz zu den Untersuchungen in Diagnostiklabors ist die Point-of-Care Diagnostik für eine kontinuierliche Überwachung gesundheitsrelevanter Parameter sowie in der Notfallanalytik geeignet, da der logistische Aufwand und die damit verbundene zeitliche Verzögerung entfallen. Sie ist damit ergänzend zu den Untersuchungen im Zentrallabor zu sehen. Neben der eigentlichen Analysemethode bedingt dies die Entwicklung und den Einsatz einfach zu bedienender, portabler Mess-Systeme /Kri_97/, /Hua_02/, /Ver_02/, die darüberhinaus flexibel, dezentral und kostengünstig zu betreiben sind /Kas_97/, /Joo_02/. Diese einfachen und sicher zu bedienenden Geräte werden die molekularbiologischen Methoden weitgefächert und sinnvoll einsetzbar machen /Row_99/.

Erste Systeme auf der Grundlage molekularbiologischer Analyseverfahren sind kommerziell erhältlich /Aff_04/, /Ful_97/. Momentan sind diese Systeme noch komplex und erfordern von den Nutzern eine hohe Sachkenntnis. Zudem benötigen sie einen hohen gerätetechnischen Aufwand, der sie für Routinediagnostik oder Point-of-Care Diagnostik ungeeignet macht.

Weitergehende Lösungsansätze basieren auf der Entwicklung integrierter miniaturisierter Gesamtsysteme. Diese "miniaturised total analysis systems" (µ-TAS) sind in der Lage, komplexe Liquid-Handling Schritte, chemische Reaktionen, Separationen und den Nachweis von Produkten durchzuführen /Ver_03/, /Lio_03/, /Sel_03/. Grundlage dieser Lab-on-a-chip Systeme sind mikrofluidische Prinzipien und Bauteile. Dabei kommt der Verwendung von *Beads* (sphärischer Partikel) als Festphase für die Analytik eine große Bedeutung zu.

In diesen integrierten miniaturisierten Gesamtsystemen stellen die mikrofluidischen Bauteile zum einen die Schnittstelle zur Makrowelt (Handhabungswerkzeuge wie Spritzen oder Handpipetten) dar, zum anderen integrieren sie Funktionen wie Wasch- und Spülvorgänge oder multiparallele Präsentation der Analyten zur optischen Analyse. Weitere technische Anforderungen resultieren aus dem Einsatzgebiet. Dazu zählen insbesondere die einfache Bedienbarkeit, die hohe Zuverlässigkeit, Hygiene und Sicherheit, ein geringes Totvolumen und die Herstellung des mikrofluidischen Bauteils als Wegwerfteil (Disposable).

Mikrofluidische Bauteile für die beadbasierte medizinische Diagnostik sind durch eine Zweiphasenströmung gekennzeichnet. Nach dem heutigen Stand werden diese auf Basis von Musterbau und anschliessenden Experimenten ausgelegt, da die existierenden Werkzeuge zur Strömungssimulation bei der Berechnung von zwei- und dreidimensionalen Mehrphasenströmungen Limitationen aufweisen. Dies führt zu einem teuren Musterbau, aufwändigen Versuchsaufbauten sowie zu langen Entwicklungszeiten. Ziel dieser Arbeit ist die Entwicklung einer Methode zur Auslegung mikrofluidischer Bauteile für die beadbasierte medizinische Diagnostik, um so den experimentellen Aufwand zu reduzieren.

1.2 Zielsetzung und Vorgehensweise

Die Mikrofluidik stellt eine der Basistechnologien der Mikrosystemtechnik dar, die bei der Konzeption, Auslegung und Realisierung von Bauteilen für beadbasierte medizinische Analysesysteme eingesetzt wird.

Zur Auslegung mikrofluidischer Bauteile, fokussiert auf Zweiphasenströmungen, soll eine Methode zur Designevaluation entwickelt werden, um so den Zeit- und Kostenaufwand zu reduzieren, der durch die derzeitig stark experimentell geprägte Vorgehensweise verursacht wird. Abbildung 1.1 zeigt die Vorgehensweise. Ausgehend von einer umfassenden Analyse der beadbasierten Verfahren in der molekularen medizinischen Diagnostik werden die Randbedingungen und Anforderungen sowohl an die mikrofluidischen Bauteile als auch an die Methode zur Auslegung dieser mikrofluidischen Bauteile abgeleitet. Basierend auf der Recherche des Standes der Technik zur geometrischen sowie strömungstechnischen Auslegung von mikrofluidischen Bauteilen für Zweiphasenströmungen, wird anschließend eine Methode zur Auslegung mikrofluidischer Bauteile entwickelt. Im Mittelpunkt steht dabei zum einen die theoretische geometrische Auslegung eines mikrofluidischen Bauteils und zum anderen die Erstellung eines Modells, mit dem das mikrofluidische Verhalten und die Aggregation von Beads mit einer Simulation abgebildet werden. Zur Bestimmung der Parameter, die zur Abbildung der Zweiphasenströmung in einem mikrofluidischen Bauteil notwendig sind, werden die Versuchsplattform und die

notwendigen Testkörper konzipiert und realisiert.

Nach Bestimmung der Parameter soll die Methode zur Auslegung mikrofluidischer Bauteile für die beadbasierte medizinische Diagnostik experimentell verifiziert werden.

Abbildung 1.1: Vorgehensweise zur Entwicklung der Methode

2 Ausgangssituation

2.1 Molekulare medizinische Diagnostik

Die molekulare medizinische Diagnostik beschäftigt sich mit der Analyse von Stoffen oder Molekülen innerhalb von Körperflüssigkeiten oder Geweben. Aufgabe ist es, aus einem wässerigen Gemisch von 10.000enden verschiedenen Stoffen einen oder mehrere Stoffe (Analyten) zu identifizieren. So werden in der Infektionsdiagnostik Körperflüssigkeiten, wie z. B. Patientenseren, daraufhin untersucht, ob und welche Infektion vorliegt. Neueste Verfahren benutzen das Auftreten erregerspezifischer Erbsubstanz (Nukleinsäuren, DNA) zum Nachweis von Infektionen. Bis vor einigen Jahren wurden ausschließlich auf dem Nachweis von Proteinen (Eiweißen) basierende Verfahren eingesetzt. Diese Verfahren beruhen darauf, dass im Körper eines Patienten durch einen Krankheitserreger (Antigen) eine spezifische Immunreaktion (Abwehrreaktion) ausgelöst wird, welche zur Produktion von Antikörpern führt.

Der qualitative und quantitative Nachweis eines Analyten kann über ein sogenanntes Affinitätsassay erfolgen /Pri_97/. Dieses nutzt die starken, hochspezifischen Wechselwirkungen, beispielsweise zwischen einem Antigen und einem Antikörper, einem Hormon und seinem Rezeptor oder zwischen zwei komplementären DNA-Strängen (Schlüssel - Schloss Prinzip). Antigene sind häufig komplexere Biomoleküle (z.B. Proteine), können aber auch niedermolekulare Verbindungen sein. Ein großer Vorteil von Affinitätsassays liegt darin, dass eine aufwändige Aufreinigung und Anreicherung des Analyten entfällt, wie sie bei Nachweisverfahren mit chemischen Umsetzungen des Analyten bzw. in der instrumentellen Analytik notwendig sind. Diese Selektion zwischen Analyt und Verunreinigung übernimmt der spezifische Bindungspartner. Affinitätsassays auf Grundlage der Antigen-Antikörper-Wechselwirkung werden Immunoassays genannt /Hen_98/**,** /Pri_97/, /Jan_97/, /Cha_87/, /Tij_85/. Um diese sich im molekularen Bereich abspielenden Reaktionen sichtbar zu machen, werden verschiedenste Verfahren eingesetzt /Pat_02/. Heute stehen dabei indirekte optische Verfahren, wie Fluoreszenz, Lumineszenz oder Farbreaktionen im Vordergrund /Tij_85/, /Pri_97/, während direkte Verfahren mit radioaktiver Markierung immer mehr an Bedeutung verlieren.

Ein typisches Assay zum Nachweis von Antigenen durch Antikörper ist in Abbildung 2.1 dargestellt.

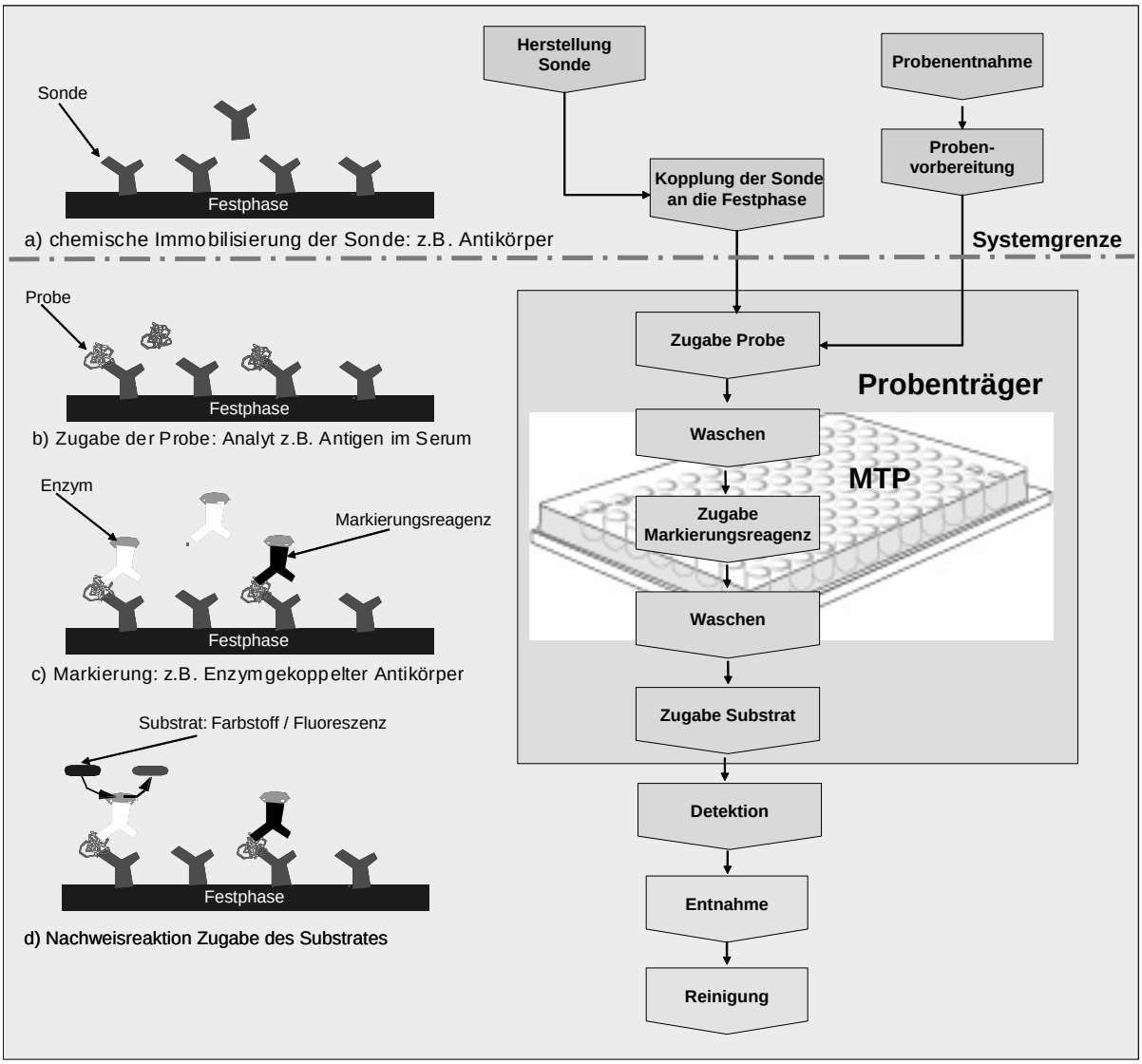


Abbildung 2.1: Assay zum Nachweis von Antigenen
a) Immobilisierung der Sonde
b) Zugabe der Probe
c) Markierung
d) Nachweisreaktion

Auf der linken Seite der Abbildung sind die einzelnen biochemischen Schritte dargestellt, auf der rechten Seite die zugehörigen Funktionen. Ein Fängermolekül oder Sonde, z. B. ein gereinigter Antikörper, wird chemisch an eine physikalische Oberfläche oder Festphase gekoppelt (immobilisiert). Die Herstellung der Sonde sowie deren Kopplung an die Festphase wird in der Diagnostik in der Regel durch den Produzenten des Testassays wahrgenommen. Eine flexible Testzusammenstellung ist nur bedingt möglich.

Der Probenträger ist üblicherweise eine 96well MTP (Mikrotiterplatte) mit einem Reaktionsvolumen von ca. 150µL pro Well (Vertiefung). Die Kernfunktionen für das As-

say, welche auf dem Probenträger ausgeführt werden, beginnen mit der Zugabe der den Analyt enthaltenden Lösung (Körperflüssigkeit oder Gewebeprobe) oder Probe. Die Probenentnahme und Probenvorbereitung werden durch den behandelnden Arzt und das ausführende Labor vorgenommen.

Nach mehreren Inkubations- und Waschschritten wird ein Nachweismolekül, z. B. ein mit einem Enzym markierter Antikörper, zugegeben. Dieses bindet an den Komplex aus Probe und Sonde. Das an den Antikörper gebundene Enzym verändert dann ein Substrat, z. B. einen Farbstoff biochemisch dahingehend, dass ein Farbumschlag stattfindet. Dieser wird anschließend optisch detektiert. Das dafür notwendige Liquid-Handling wird manuell oder durch handelsübliche Pipettierroboter ausgeführt. Die abschließende Detektion und Auswertung erfolgt in einem gesonderten Gerät. In dieses wird der Probenträger meist manuell eingelegt. Automatisierungslösungen sind nur mit einem hohen gerätetechnischen Einsatz zu realisieren.

Zusammenfassend lassen sich folgende kritische Punkte im Prozessablauf identifizieren: Der Prozessablauf beim klassischen Affinitätsassay ist mehrstufig; es werden mehrere verschiedene Geräte und Hilfsmittel für die Prozessierung und die Handhabung des Probenträgers eingesetzt. Der Handhabungsaufwand ist groß. So findet z. B. die Detektion in einem externen Gerät statt. Durch das hohe Reaktionsvolumen von insgesamt ca. 10mL pro MTP werden große Mengen an Reagenzien und Probe verbraucht. Die Testzusammenstellung kann in der Regel nicht durch den Anwender erfolgen. Der hohe gerätetechnische Aufwand läßt keine Point-of-Care Diagnostik zu. Unter Point-of-Care Diagnostik wird die Untersuchung am Gebrauchspunkt (im Operationssaal, beim niedergelassenen Arzt, in der Wohnung des Patienten usw.) verstanden.

Bisher werden ausschließlich Point-of-Care Geräte angeboten, die auf einfachen enzymatischen und/oder immunologischen Reaktionen beruhen und die eine sehr geringe Anzahl von Reaktionsschritten involvieren. So bieten verschiedene Firmen Teststreifen-systeme für einzelne Laborparameter an (z.B. Reflotron von Roche Diagnostics). Limitierend wirkt hier die Vielfalt und die Komplexität der Analyseprozesse.

Andere Anbieter haben intergrierte Systeme, welche mit Einweg-Cartridges arbeiten und wenige Parameter parallel untersuchen /Bio_05/, /i-st_05/. So bietet z.B. *Biosite* eine Cartridge an, mit der akutes Koronarsyndrom, Herzinsuffizienz und Lungenembolie gleichzeitig erkannt bzw. ausgeschlossen werden.

Die Entwicklung von miniaturisierten Systemen, welche patientennahe, einfach zu handhabende, robuste Diagnostik zu wirtschaftlich akzeptablen Preisen ermöglichen, wird daher in Zukunft einen breiten Markt finden /Fro_04/. Basis hierfür ist die festphasenbasierte Analytik.

2.2 Festphasenbasierte Analytik

Werden in klassischen Systemen vorwiegend Kunststoffoberflächen in einem makroskopischen Format eingesetzt, wie z. B. MTP´s mit 96 Reaktionskammern und einer Fläche von ca. 44mm^2 pro einzelner Reaktionskammer, so werden in miniaturisierten Systemen entweder planare Probenträger /Kuh_00/, /Are_00/ oder Beads verwendet /Kuh_01/, /Let_03/. Zur Erzielung einer hohen Sensitivität bei der Analyse der Probe werden die Sonden in hoher Zahl an die Festphase gekoppelt /But_00/, /Joo_02/. Eine parallele Analyse vieler Parameter auf einer gemeinsamen Oberfläche in einem geometrisch definierten Muster oder in einem gemeinsamen Reaktionsvolumen wird hierbei als Array bezeichnet.

Planare Arrays wurden als Miniaturisierung von geläufigen, makroskopischen Assays wie z.B. auf DNA - Wechselwirkungen (Hybridisierung) beruhenden Affinitätsassys entwickelt /Wie_01/, /Men_99/. Als Festphasen werden herkömmliche Glasobjektträger (aus der Lichtmikroskopie) oder spezielle Membranen verwendet. Zur Herstellung der Arrays kommen verschiedene print- oder lithographische Verfahren zum Einsatz /Kuh_00/. Hochdichte planare Arrays erreichen heute bis zu 10.000 Sonden pro cm^2 /Aff_04/, womit die Abbildung der gesamten Erbinformation eines Organismus möglich ist.

Bei beadbasierten Assays werden kleinste sphärische Partikel aus Glas oder Kunststoff (Beads) als Festphase eingesetzt, auf welchen die Sonden immobilisiert werden. Werden mehrere Assays parallel durchgeführt, werden Beadklassen gebildet. Jede Beadklasse trägt somit eine spezifische Sonde. Zur Unterscheidung der einzelnen Beadklassen beim Multiplexing (gleichzeitiges, paralleles Durchführen und Auslesen mehrerer Assays) ist es erforderlich, die Beadklassen zu kodieren (unterscheidbar zu machen). Bei planaren Arrays oder klassischen, auf MTPs basierenden Assays wird dokumentiert, an welcher geometrischen Position die einzelnen Sonden plaziert wurden. Bei beadbasierten Assays kommen andere Verfahren zum Einsatz. Abbildung 2.2 stellt die unterschiedlichen Verfahren zur Sondenkodierung gegenüber /Cza_97/, /Kev_02/.

Sonden-identifikation	**Planare Probenträger**	**Beads als Probenträger**	**Technologieanbieter/ Produkt**
Farbe		x	FeBiT; Fraunhofer IPA
Fluoreszenz	x	x x	Illumina Luminex
Barcode		x x	Surromed (Nanobarcodes^{TM}) Smartbeads (UltraPlex^{TM})
Quantum Dots		x	Qdots^{TM}
Ort	x		Affymetrix
Transponder		x	PharmaSeq

Abbildung 2.2: Möglichkeiten der Kodierung von Arrays

Bei beadbasierten Assays ist die Kodierung über Fluoreszenz am weitesten verbreitet. In der Literatur werden weitere Verfahren diskutiert, die z. B. auf der Verwendung von Quantumdots /Han_01/ oder von Mikro-Barcodes basieren /Nic_01/. Auch Beads mit Mikrotranspondern sollen zukünftig zum Einsatz kommen /Pap_00/.

Abbildung 2.3 stellt schematisch die Eigenschaften von planaren und beadbasierten Festphasen-Analysesystemen gegenüber.

Eigenschaften von Festphasen-Analysesystemen	**Planare Probenträger**	**Beads als Probenträger**
Immobilisierung der Sonde	durch Hersteller	durch Hersteller oder Anwender
Manuelle Immobilisierung	nicht möglich	möglich
Verfahren der Immobilisierung	Printtechnologie; Fotolithographie	biochemisch in Lösung
Flexibles Testdesign	aufwendig	einfach realisierbar
Auswertung	Scanner; CCD-Kamera	Scanner; FACS; CCD-Kamera
Automatisierbarkeit	ja	ja
Sensitivität	mittel	mittel-hoch
Kosten	hoch	mittel-hoch

Abbildung 2.3: Eigenschaften planarer und beadbasierter Festphasen-Analysesysteme

Beide Festphasen-Analysesysteme greifen bei der Detektion auf bewährte optische Verfahren zurück. Diese sind maßgeblich Laser-Scanner und CCD (charged coupled device)- Kameras.

Die Testzusammenstellung planarer Arrays erfolgt in der Regel durch den Hersteller. Bei beadbasierten Arrays kann dies flexibel durch den Anwender erfolgen. Die höhere Oberfläche der Beads gegenüber der Oberfläche der Spots der planaren Arrays führt zu schnelleren Bindungs-Kinetiken, höchsten Sensitivitäten und signal-to-noise-ratios /Wal_00/, /Bie_01/, /Kuh_01/. Das ist im Hinblick auf Festphasenextraktionen und heterogene Immunoassays von entscheidender Bedeutung /Lio_03/.

Aufgrund der Eigenschaften der beadbasierten Festphasen-Analysesysteme gegenüber den Eigenschaften der planaren Festphasen-Analysesysteme /Let_03/, speziell in den Bereichen Flexibilität und Sensitivität (Abbildung 2.3) /Kuh_01/, sind die beadbasierten Festphasen-Analysesysteme für die dezentrale Point-of-Care Diagnostik prädestiniert.

Im Weiteren werden daher nur die beadbasierten Analysesysteme betrachtet.

2.3 Bestehende beadbasierte Analysesysteme und Anwendungen

Die am Markt verfügbaren beadbasierten Assaysysteme unterscheiden sich in der Art der Beadkodierung und im Verfahren der Signalauslesung (Abbildung 2.4). Daraus leiten sich auch die verschiedenen Verfahren der Testdurchführung ab. Alle Verfahren werden sowohl für DNA- als auch für Proteinanalytik eingesetzt.

	Luminex	**Illumina**	**Smartbead**	**immobilized particel arrays**	**Pharmaseq**	**Lynx**
flexibles Testdesign	ja	ja	ja	ja	ja	ja
Inkubation Sonde-Probe	extern	extern	extern	n.v.	n.v.	intern
Eingabe in Analysegerät	manuell	manuell	manuell	n.v.	n.v.	n.v.
Identifikation Sonde	Fluoreszenz	Fluoreszenz	Mikro-Barcode	Ort	Transponder	DNA-Marker
Identifikation Bindungs-Signal	Fluoreszenz	Fluoreszenz	Fluoreszenz	Fluoreszenz	Fluoreszenz	Fluoreszenz
Verfahren Detektion	Flow-cytometrie	Faseroptik	Flow-cytometrie	n.v.	Flow-cytometrie	n.v.
Technik d. Detektion	FACS	CCD	IR-Scanner	n.v.	FACS	n.v.
Anwendung	DNA-Protein	DNA-Protein	DNA-Protein	DNA-Protein	DNA-Protein	DNA
Sondenzahl	<100	<100	>1000	n.v.	>1000	>1000
Kosten	hoch	hoch	hoch	hoch	hoch	n.v.
Verfügbarkeit	am Markt	Markt-einführung	Markt-einführung	Entwicklung	Entwicklung	n.v.

Abbildung 2.4: Verfahren für beadbasierte Assaysysteme in der medizinischen Diagnostik (n.v.: Information nicht verfügbar)

Für die Detektion der Bindung des Analyten an die Sonde werden vorwiegend auf Fluoreszenz basierende Verfahren eingesetzt. Die Detektion der Signale erfolgt dabei optisch durch Laser-Scanner oder CCDs, zusätzlich kommen sogenannte FACS (fluorescence analysis cell sorter) Geräte zum Einsatz. Dabei werden die Beads mittels einer Probenschleife in einem Flüssigkeitsvolumen einzeln durch eine Messzelle "geschossen" und sowohl Kodierung als auch das Signal gleichzeitig gemessen /Ful_97/. Diese Detektionstechnik setzt die Firma *Luminex* ein.

Die Firma *Illumina* /Fer_00/ setzt wie Luminex verschiedenfarbige Beads zur Kodierung der Sonden ein. Zur Detektion der Beads werden diese auf einem Glasfaserbündel planar ausgebracht. Dieses Glasfaserbündel wird zuvor angeätzt, wodurch die Seelen tiefer liegen. In diesen kleinen Kavitäten kommen anschließend die Beads zu liegen. Die Anregung der Fluoreszenzfarbstoffe der Beads erfolgt über die Glasfasern ebenso wie das Auslesen des Signals. Die Abbildung, die durch das

Glasfaserbündel erzeugt wird, wird mit einer CCD-Kamera aufgezeichnet /Oli_02/.

Weitere Beispiele für die Herstellung planarer Beadarrays sind "immobilized particel arrays" /Ste_03/, bei denen Beads in einer Suspension auf eine Oberfläche gedruckt und anschließend chemisch daran gebunden werden. *Bioarray Solutions* verwendet elektrische Felder und Halbleitertechnik zur Herstellung geordneter planarer Beadarrays /Yan_03/.

Daneben gibt es alternative Ansätze wie z.B. auf herkömmlichem CD-Format basierende Zentrifugations-Vorrichtungen /Bre_03/, /Gus_04/, /Gru_05/ oder andere mikrofluidische Bauteile /Bre_02/, /Syd_03/. Diese sind allerdings noch im Entwicklungsstadium.

Bei allen Systemen ist die optische Detektionstechnik als gelöst anzusehen. Es werden Bauteile und Komponenten, die dem Stand der Technik entsprechen, eingesetzt. Für die Entwicklung flexibler, kostengünstiger Geräte kommt den planaren Beadarrays eine besondere Bedeutung zu. Hierbei nimmt die Konzeption und Entwicklung des fluidischen Bauteils, zur Herstellung und Handhabung des Beadarrays, eine zentrale Funktion ein.

2.4 Mikrofluidische Bauteile in der medizinischen Forschung und Diagnostik

Mikrofluidische Bauteile kommen im Bereich von Genomics und Proteomics und der molekularen medizinischen Diagnostik zur Anwendung. Verschiedene Ansätze für sogenannte Lab-on-a-chip Systeme wurden entwickelt /Ram_99/, /Ben_01/, /Fit_02/, welche auf integrierten, mit Mikrokanälen versehenen mikrofluidischen Bauteilen basieren. Diese Chips sind in der Lage, komplexe Liquid-Handling Schritte, chemische Reaktionen, Separationen und Nachweis von Produkten, durchzuführen /Ver_02/, /Lio_03/, /Sel_03/ und werden auch miniaturised total analysis systems (*µ-TAS*) genannt /Kop_97/, /Hui_03/. Somit haben mikrofluidische Bauteile in den letzten Jahren verstärkt Einzug in biotechnologische Anwendungen gefunden /Lio_03/, /Wei_03/.

Eine weitere Vergrößerung der Oberfläche und damit der Sensitivität wird durch den Einsatz von Beads innerhalb mikrofluidischer Strukturen erzielt /Cho_02/. Dazu ist es nötig, Beads als mobile Festphase in die mikrofluidischen Bauteile einzubringen. Dabei werden die Beads während der Prozessierung und Analyse in einem wasserhaltigen Trägerfluid gehandhabt. Aus Sicht der Mikrofluidik wird von einer Zweiphasenströmung gesprochen. Hierzu ist die Herstellung spezieller Strukturen notwendig /Gru_03c/, /Bur_02/, /Ole_00/. Zur Herstellung solcher Strukturen finden Glas, Sili-

zium und Polymere Verwendung /Ng_02/, wobei Ätz- und Bondingtechnologien im Vordergrund stehen /Hie_03/. Die Auslegung der mikrofluidischen Bauteile findet maßgeblich auf Basis von Experimenten oder umfangreichen Simulationsstudien statt. Die aktuell verfügbaren Simulationswerkzeuge zur Auslegung mikrofluidischer Bauteile können jedoch nur bedingt Zweiphasenströmungen abbilden. Dabei kommen Simulationsmodelle zum Einsatz, in denen auf Basis von komplexen Impulssatzberechnungen Agglomerationen /Ho_04/ oder über verteilte Rechner-Architekturen Zweiphasenströmungen abgebildet werden /Fra_02/. Daraus folgt, dass die Entwicklung und Herstellung von Prototypen mit hohen Kosten sowie langen Entwicklungszeiten verbunden sind. Es fehlt an einer integrierten Methode zur Entwicklung und einfachen, schnellen Evaluierung des Designs mikrofluidischer Bauteile für Zweiphasenströmungen.

3 Analyse der Aufgabenstellung und Ableitung der Anforderungen

3.1 Methode zur Bauteilentwicklung

Abbildung 3.1 zeigt das generelle Vorgehen bei der Bauteilentwicklung.

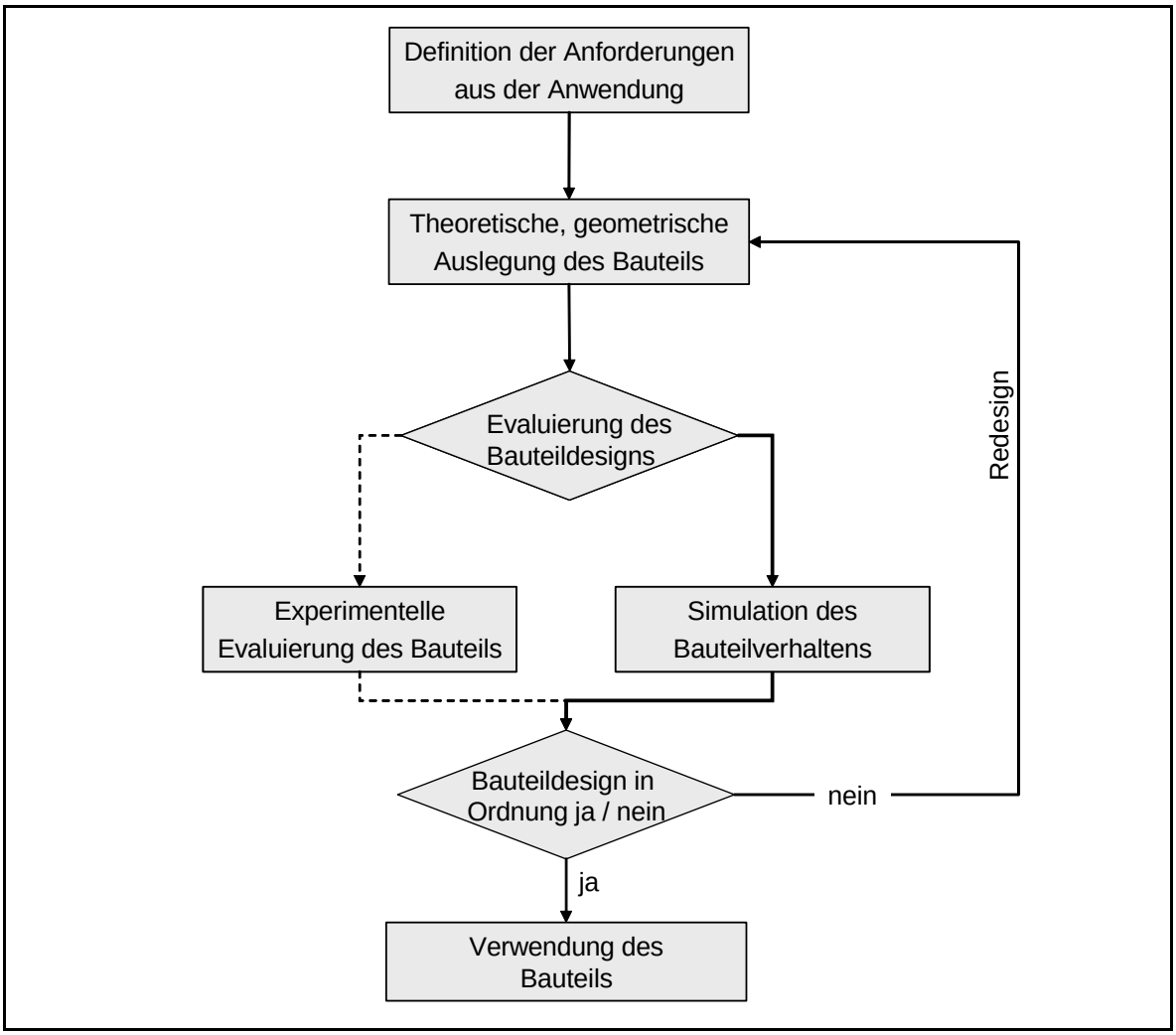


Abbildung 3.1: Integrierte Methode bei der Bauteilentwicklung

Zentrale Elemente der Methode zur Bauteilentwicklung sind die theoretische, geometrische Auslegung eines Bauteildesigns und die anschliessende Evaluierung des Bauteildesigns. Wie in Kapitel 2.4 ausgeführt, ist die experimentelle Evaluierung des Designs aufwändig und mit hohen Kosten verbunden und kommt damit für die Evaluierung nicht in Betracht. Die Evaluierung kann somit nur über eine Simulation des Bauteilverhaltens realisiert werden. Im folgenden werden die Randbedingungen und

Anforderungen hierfür festgelegt. Zusätzlich werden die funktionalen Anforderungen an das Bauteil, resultierend aus der Anwendung, definiert.

3.2 Analyse der Anwendung "beadbasiertes Affinitätsassay"

Grundlage der Konzeption eines miniaturisierten Analysesystems für die medizinische Diagnostik ist die Durchführung von Affinitätsassays (Kapitel 2.1). Abbildung 3.2 stellt die einzelnen Teilfunktionen eines beadbasierten Affinitätsassays sowie ein abstrahiertes Modell des Analysesystems dar.

Bei einem beadbasierten Affinitätsassay, sind die einzelnen Beads die Festphase. Daraus ergibt sich die Notwendigkeit der Einführung eines spezifischen Probenträgers mit einer Analysekammer, welche eine noch zu bestimmende Anzahl Beads aufnimmt und für die im Folgenden beschriebenen Funktionen bereitstellt. Die Beads werden in den Probenträger eingebracht. In der Analysekammer finden durch Zugabe von wässerigen Lösungen biochemische Wasch- und Reaktionsschritte statt. Daraus folgt, dass der Probenträger als mikrofluidisches Bauteil konzipiert werden muss, um einen kontrollierten Einlauf und Auslauf von Flüssigkeiten zu gewährleisten. Der Probenträger wird im Weiteren als mikrofluidischer Probenträger bezeichnet.

Die Detektion und Auswertung der Ergebnisse des Assays erfolgt optisch. Dabei wird das Beadarray mittels einer CCD Kamera ausgelesen. Die Aufnahmen werden als Hell- oder Dunkelfeldaufnahmen gemacht. Die Beleuchtungsquellen sind somit entweder ober- oder unterhalb des Probenträgers angebracht. Dies gilt sowohl für die Detektion der Farbkodierung der Beads als auch des Fluoreszenzsignals bei Bindungsereignissen. Aufgrund der Detektion des Beadarrays im Probenträger entfällt eine Trennung zwischen Wasch-/ Reaktionsschritten sowie Detektion. Dies stellt eine wesentliche Vereinfachung dar. Daraus leitet sich als Anforderung an den mikrofluidischen Probenträger ab, dass er neben den Wasch- und Reaktionsschritten auch für die Detektion geeignet sein muss. Dies bedeutet, dass die Analysekammer aus optisch transparentem Material gefertigt sein muss und keine Eigenfluoreszenz aufweisen darf. Die Analysekammer umfasst damit die Funktionen Waschen, Reaktion und Detektion.

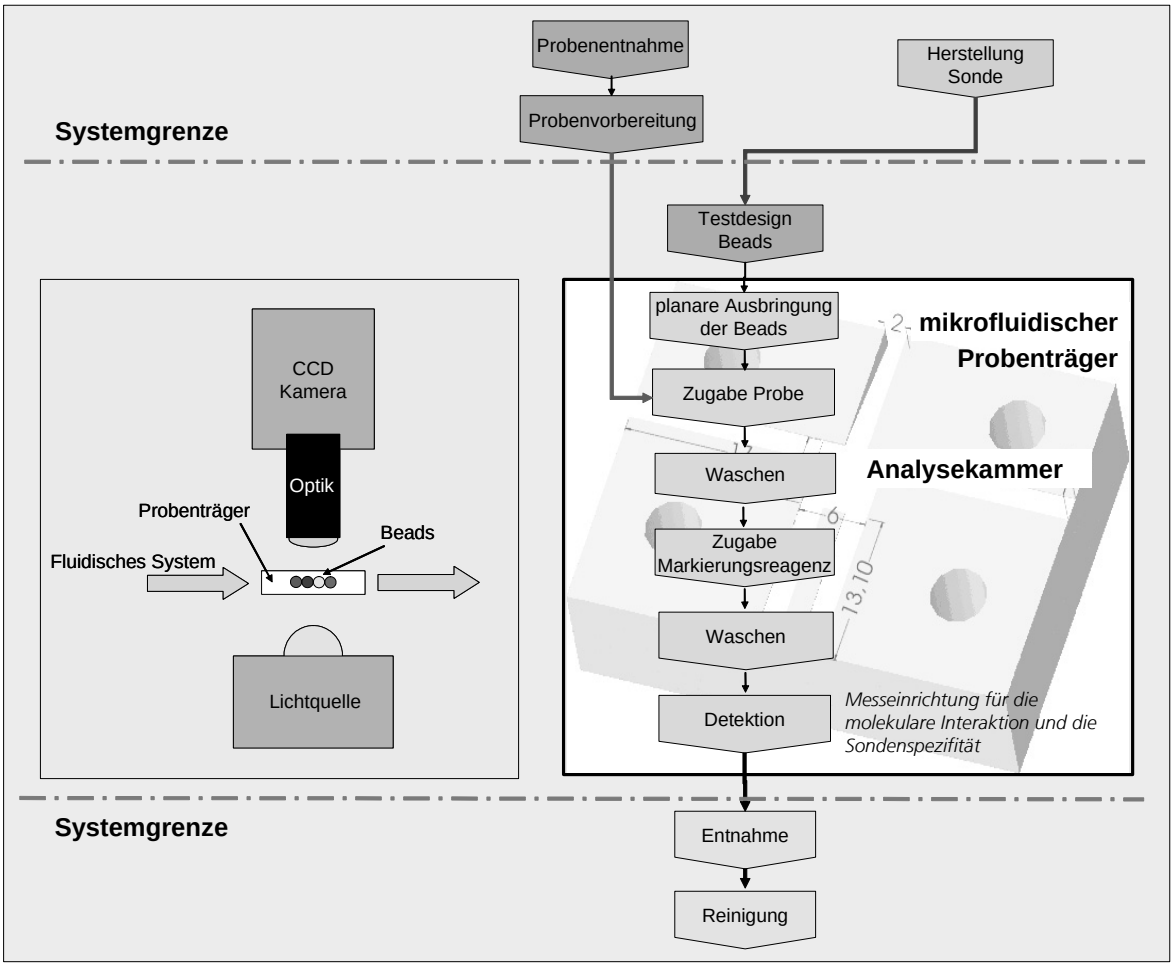


Abbildung 3.2: links: schematische Darstellung des Analysesystems
rechts: Funktionen eines beadbasierten planaren Assays

Durch Einsatz einer CCD Kamera zur Detektion wird eine hohe Parallelität bei der Detektion und damit eine erhebliche Zeitersparnis im Gegensatz zur sequentiellen Detektion erzielt. Das flächige Auslesen von Beadklassen und Signalen bei Bindungsereignissen erfordert eine planare Ausbringung der Beads in der Analysekammer in Form eines Monolayers (zweidimensionale Monolage), um Überlagerungen einzelner Beads zu vermeiden. Dabei wird eine erste Bildaufnahme zur Bestimmung der Beadklassen vorgenommen. Nach entsprechendem Filterwechsel wird eine weitere Aufnahme zur Erfassung von Fluoreszenzsignalen zur Detektion von Bindungsereignissen vorgenommen. Durch Überlagerung (Superposition) der beiden Bildinformationen und anschliessender Bildauswertung erfolgt die Zuordnung zwischen Beadklasse (und damit spezifische Sonde) und positiven Bindungsereignissen zwischen Probe und Sonde. Aufgrund dieser sequentiellen Detektion besteht die Forderung nach einer lagestabilen zweidimensionalen Monolage bzw. stabilen zweidimensionalen Schüttung der Beads. Das bedingt weiterhin eine vollständige Befüllung der Analysekammer.

Weitere Anforderungen resultieren aus dem Anwendungsgebiet, der medizinischen Diagnostik. Beadbasierte Systeme sind aufgrund der Flexibilität und Sensitivität prädestiniert für den Einsatz in der Point-of-Care Diagnostik (Kapitel 2.1.2). Im Gegensatz zur medizinischen Diagnostik im Zentrallabor handelt es sich um eine patientenspezifische Analyse. Es ist daher von einigen 10 bis wenigen 100 Parametern und damit Beadklassen auszugehen, die in einem Assay parallel eingesetzt werden. Ausgehend von der notwendigen Redundanz /Expertengespräche/ wird ein Faktor 5 - 10 je Beadklasse angesetzt. In die Analysekammer des mikrofluidischen Probenträgers müssen also mehrere 100 bis ca.1000 Beads eingebracht werden. Um mögliche Kreuzkontaminationen und damit falsch-postitiv Aussagen zu vermeiden, ist die Auslegung des mikrofluidischen Probenträgers als Einweg-/Wegwerfteil (Disposable) obligatorisch.

Zur Realisierung der in Abbildung 3.2 dargestellten Funktionen eines beadbasierten Affinitätsassays umfasst der mikrofluidische Probenträger die Einlaufzone, die Analysekammer sowie eine Auslaufzone. Der Auslegung der Analysekammer kommt dabei eine zentrale Bedeutung zu /Kuh_00/, /Kuh_03/.

3.3 Ableitung von Anforderungen an den mikrofluidischen Probenträger und die Beads

Abbildung 3.3 stellt schematisch die Komponenten "Beads" sowie "mikrofluidischer Probenträger" mit den verschiedenen funktionalen Bereichen dar.

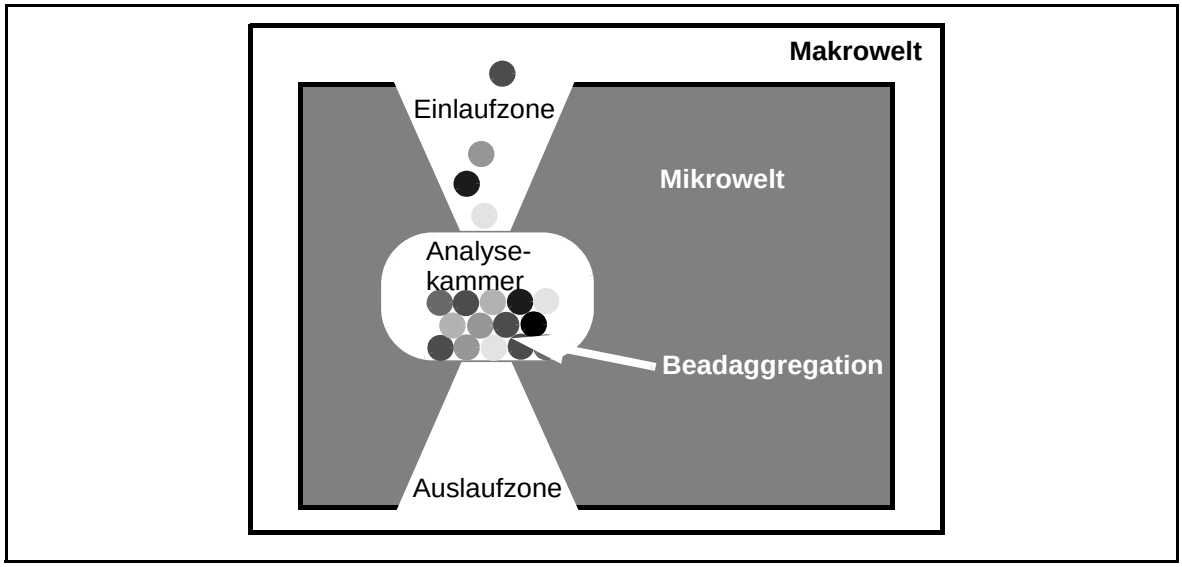


Abbildung 3.3: Schematische Darstellung der Komponenten eines beadbasierten mikrofluidischen Probenträgers

Die funktionalen Bereiche sind die Einlaufzone zur Befüllung des mikrofluidischen Probenträgers, die Analysekammer, in der die Beads als Monolayer zu liegen kommen und die Auslaufzone zum Abtransport der Flüssigkeiten in einen Abfallbehälter und als Barriere für die Beads.

Im Folgenden werden die Komponenten bezüglich der in Kapitel 3.2 analysierten Anforderungen weiter detailliert.

3.3.1 Anforderungen an die Beads

Die Beads dienen als Festphase. Hierzu muss das Material biochemisch modifizierbar sein, um Sonden daran zu koppeln. Gängige Beadmaterialien sind Kunststoff oder Glas. Da sich die Beads in einer wässerigen Lösung befinden, werden aufgrund des geringeren Dichteunterschieds Beads aus Kunststoff bevorzugt. Weiterhin ist eine gute Einfärbbarkeit für die Differenzierung verschiedener Beadklassen erforderlich.

Wie in 3.1.2 ausgeführt, müssen bis zu 1000 Beads in die Analysekammer eingebracht werden. Ausgehend von der aktiven Fläche eines handelsüblichen 2/3" CCD - Chips von ca. 6mm*8mm und dem Einsatz einer 1:1 abbildenden Makro-Optik, resultiert damit ein Beaddurchmesser kleiner 0,3mm. Gleichzeitig ist eine Sichtbarkeit der Beads während der Durchführung von Versuchen hilfreich. Die Sichtbarkeit ist ab Beaddurchmessern $d_{Bead} > 0{,}1mm$ gegeben. Für eine optional quantitative Aussage sowie zur Erzielung einer stabilen Schüttung wird eine enge Größentoleranz gefordert.

3.3.2 Anforderungen an den mikrofluidischen Probenträger

3.3.2.1 Einlaufzone

Die Einlaufzone stellt die Bedienerschnittstelle dar. Sie dient sowohl der Befüllung des mikrofluidischen Probenträgers mit Beads als auch der Zugabe von Reagenzien und Waschlösungen. Sie hat damit die Funktion, die Makro- mit der Mikrowelt zu verbinden. Aufgrund des dezentralen Einsatzes in z. B. Arztpraxen ist von einer manuellen Befüllung mit den üblichen "Werkzeugen" Spritze oder Handpipette auszugehen. Aber auch eine automatisierte Befüllung durch Pipettierroboter sollte möglich sein.

Aufgrund der Reduktion des Querschnittes vom Verbindungsstück zum Querschnitt der Analysekammer resultiert eine Beschleunigung der sich in Lösung befindenden Beads über die gesamte Strecke. Um ein Verblocken der Einlaufzone zu vermeiden, dürfen Massenträgheitseffekte bis hin zum Strömungsabriss an den Beads nicht stattfinden. Gleichzeitig muss die Einlaufzone so kurz bzw. vom Volumen so klein als möglich sein, um der Forderung nach geringem Totvolumen gerecht zu werden.

3.3.2.2 Analysekammer

Wie in 3.1.2 ausgeführt ist die reproduzierbare und damit vollständige Befüllung der Analysekammer mit Beads Vorraussetzung sowohl für eine qualitative als auch quantitative Ergebnisaussage und damit für die Durchführung des Assays. Gleichzeitig muss eine stabile Schüttung erzielt werden. Für die Detektion der Beadklasse sowie des Bindungssignals ist die Präsentation der Beads in einem Monolayer erforderlich. Um die Beads während der Wasch- und Reaktionsschritte sowie während der Detektion zurückzuhalten sind Barrieren notwendig, welche die Beads in der Analysekammer zurückhalten und gleichzeitig das Trägerfluid abfliessen lassen.

Aufgrund der optischen Detektion der Beadklassen sowie des Bindungssignals bestehen besondere Anforderungen an das Material mit Hinblick auf optische Transparenz sowie neutrales Verhalten bezüglich der Absorption von Wellenlängen. Die Festlegung des relevanten Wellenlängenbereiches erfolgt auf Basis der Fluoreszenzfarbstoffe. Die Anregung der eingesetzten Fluoreszenzfarbstoffe erfolgt häufig im UV - Bereich. Die Emission dagegen im sichtbaren (Vis) Bereich. Daraus folgt ein Wellenlängenbereich von 200nm - 600nm.

Die Analysekammer schließt direkt an die Einlaufzone an. Um eine Verblockung der Einlaufzone zu vermeiden, muss eine negative Auswirkung der fluidischen Vorgänge in der Analysekammer auf die Einlaufzone ausgeschlossen werden.

3.3.2.3 Auslaufzone

Der Querschnitt der Auslaufzone muss geringer sein als der der Analysekammer, um die Beads in dieser zu halten. Um schnelle Befüll- und Waschvorgänge zu erreichen, sollte der Querschnitt nicht zu klein sein. Die Geometrie muss dem Strömungsverhalten der Einlaufzone und der Analysekammer angepasst sein. Weiterhin muss der Abtransport der Flüssigkeiten gewährleistet werden.

3.3.3 Zusammenfassung der Anforderungen an die funktionalen Bereiche

In Abbildung 3.4 sind die zentralen Anforderungen an den mikrofluidischen Probenträger und die einzelnen funktionalen Bereiche zusammengefasst.

Die fluidischen Vorgänge in der Analysekammer haben eine Rückwirkung auf die Einlaufzone. Die Analysekammer nimmt eine zentrale Funktion ein. Zur Auslegung mikrofluidischer Probenträger für die beadbasierte medizinische Diagnostik muss damit insbesondere das fluidische Verhalten der Beads in der Analysekammer bestimmt werden.

Funktionaler Bereich	Anforderung resultierend aus der Anwendung	Umsetzung in technische Anforderungen
Einlaufzone	Geringes Totvolumen	Querschnitt des Einlaufes so klein als möglich Querschnittsänderung so groß als möglich
	Manuelle Befüllung	Schnittstelle zu Pipette oder Spritze
	Automatische Befüllung	Schnittstelle zu Pipettierroboter
	Robustheit	Kein Verblocken des Einlaufbereiches
Analysekammer	Paralleles optisches Auslesen von 100 - einige 1000 Beads	Flächige Analysekammer
		Ausbildung einer Monolayer zur Erzielung eines Beadarrays
		Erzielung einer ortsstabilen Lage der Beads stabile Schüttung
	Reproduzierbarkeit	Erzielung eines konstanten Befüllgrades stabile Schüttung
	Robustheit	Kein Verblocken der Ausläufe
		Keine Rückwirkung auf die Einlaufzone, die zu einem Verblocken führt
	Optische Analyse	Transparentes Material
	Fluoreszenzdetektion	Keine Autofluoreszenz oder Totalabsorption im VIS - Bereich des Materials
Auslaufzone	Querschnitt	Höhe geringer als Analysekammer
		Fläche an Gesamtsystem angepasst
Übergeordnete Anforderungen	Vermeidung von Querkontaminationen	Herstellungstechnologie (z. B. Spritzguß) für Massenfertigung
	Befüllzeit	wenige Sekunden
	Befülldruck	zwischen 0 und 60.000Pa
	Beads	Verwendung käuflicher Beadmaterialien (Glas oder Kunststoff)

Abbildung 3.4: Zentrale Anforderungen an die funktionellen Bereiche des mikrofluidischen Bauteils

3.4 Analyse strömungstechnischer Randbedingungen bei der Auslegung mikrofluidischer Probenträger

3.4.1 Analyse der strömungstechnischen Randbedingungen

Für die Entwicklung und Konzeption eines Simulationsmodells, müssen die strömungstechnischen Randbedingungen in Mikrokanälen untersucht werden.

Die Grundgleichungen der Hydrodynamik viskoser Flüssigkeiten sind die Kontinuitätsgleichung und die Navier - Stokes - Gleichung. Für stationäre und instationäre Strömungen inkompressibler Fluide gibt Gleichung 3.1 die Kontinuitäts- und Gleichung 3.2 die Navier-Stokes-Gleichung wieder */Stö_98/, /Duc_04/:*

$$\mathrm{div}\,\vec{v} = 0 \tag{3.1}$$

$$\rho\left[\frac{\partial}{\partial t}\vec{v} + (\vec{v}\nabla)\vec{v}\right] = -\nabla p + \eta\nabla^2\vec{v} + \rho\vec{g} \tag{3.2}$$

$\vec{v}$: Geschwindigkeitsvektor, ρ: Dichte des Fluids, ∇p: Druckgradient, η: Viskosität, $\vec{g}$: Erdbeschleunigung

Auf der linken Seite der Navier - Stokes - Gleichung ist die substantielle lokale und advektive Beschleunigung des Fluids enthalten. Auf der rechten Seite stehen neben der Druckkraftdichte und der Reibungskraft pro Volumeneinheit weitere Kraftterme, die zu berücksichtigen sind.

Für eine nummerische Betrachtung von Strömungsvorgängen müssen im weiteren Vereinfachungen und Näherungen charakterisiert werden, um die Gleichungssysteme einsetzen und lösen zu können.

Bei realen Strömungen wird zwischen der turbulenten und der laminaren Strömung unterschieden. Laminare Strömungen sind dadurch gekennzeichnet, dass sich einzelne Flüssigkeitsschichten übereinander hinweg bewegen, ohne sich zu vermischen. Abbildung 3.5 stellt schematisch eine laminare Strömung dar /Stö_98/.

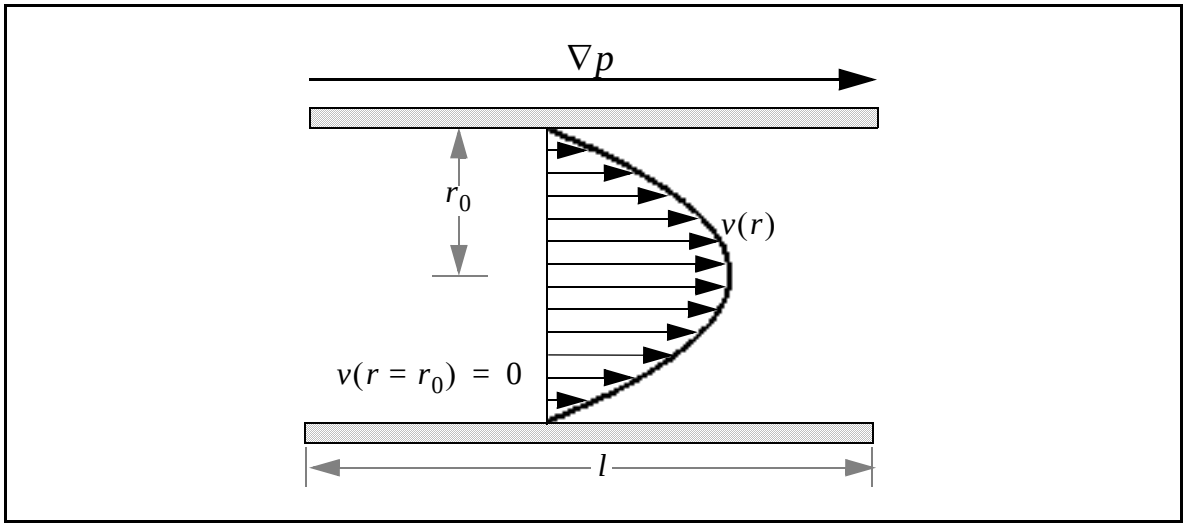


Abbildung 3.5: Schematische Darstellung der laminaren Strömung von Fluiden im zweidimensionalen Fall: Geschwindigkeitsprofil einer laminaren Strömung

Laminare Strömungen treten z. B. in engen Spalten oder in Strömungen bei sehr kleinen Reynoldszahlen in Leitungen und Grenzschichten auf. Die Festlegung erfolgt mit Hilfe der Reynoldszahl, die einen Anhaltspunkt zur Bestimmung der Strömungsart darstellt. Die Reynoldszahl ist definiert über /Duc_04/:

$$Re = \frac{\rho \tilde{v} \tilde{l}}{\eta} \tag{3.3}$$

wobei $\tilde{v}$ und $\tilde{l}$ charakteristische Größen sind. Zur Berechnung von *Re* wird anstelle von $\tilde{v}$ die im Kanal auftretende Maximalgeschwindigkeit eingesetzt und für $\tilde{l}$ der Kanaldurchmesser oder die Kanalhöhe. Die kritische Reynoldszahl, also die Reynoldszahl bei welcher der Umschlag von laminarer zu turbulenter Strömung anzunehmen ist, liegt allgemein bei Re = 2300 /Stö_98/.

In Mikrokanälen wird von laminaren Strömungsbedingungen ausgegangen /Duc_04/, womit das Hagen-Poiseuillesche Gesetz /Stö_98/ Anwendung findet.

$$v(r) = \frac{\Delta p}{4\eta l}(r_0^2 - r^2) \tag{3.4}$$

Damit ergibt sich die Maximalgeschwindigkeit nach Gleichung 3.4 in einem runden Rohr in der Kanalmitte, mit $r = 0$:

$$v_{max} = \frac{\Delta p}{4\eta l} r_0^2 \tag{3.5}$$

Zur Berechnung der Geschwindigkeit von Kanälen mit anderer Querschnittsform wird der hydraulische Durchmesser eingeführt. Der hydraulische Durchmesser ist definiert zu /Duc_04/:

$$d_{hd} = \frac{4 \times \text{Querschnittsfläche}}{\text{benetzter Umfang}} \tag{3.6}$$

Wird die Gleichung 3.5 mit

$$r_0 = \frac{d}{2} \tag{3.7}$$

dargestellt und der hydraulische Durchmesser für ein Rohr mit rundem Querschnitt berechnet

$$d_{hd} = \frac{4\,\frac{(\pi d^2)}{4}}{\pi d} = d \tag{3.8}$$

so ergibt sich:

$$v_{max} = \frac{\Delta p}{4\eta l}\left(\frac{d_{hd}}{2}\right)^2 \tag{3.9}$$

Für einen Kanal mit quadratischem Querschnitt mit der Seitenlänge d ergibt sich

ein hydraulischer Durchmesser von:

$$d_{hd} = \frac{4d^2}{4d} = d \tag{3.10}$$

und eine Maximalgeschwindigkeit zu:

$$v_{max} = \frac{\Delta p}{4\eta l}\frac{d^2}{4} \tag{3.11}$$

Mit $d = 2x$, ergibt sich die Maximalgeschwindigkeit in einem Kanal mit rechteckigem Querschnitt zu:

$$v_{max} = \frac{\Delta p}{4\eta l} x^2 \tag{3.12}$$

Damit lassen sich die Reynoldszahlen für alle Zonen des mikrofluidischen Probenträgers berechnen.

Des Weiteren wird zwischen instationären und stationären Strömungen unterschieden. Instationäre Strömungen sind dadurch gekennzeichnet, dass sich die Geschwindigkeit in einem festen Punkt des Koordinatensystems mit der Zeit ändert, wogegen bei stationären Strömungen die Geschwindigkeit in einem festen Punkt zu jedem Zeitpunkt nach Größe und Richtung gleichbleibt. Es wird vereinfachend angenommen, dass die Befüllung des mikrofluidischen Probenträgers bei konstantem Druck erfolgt. Es wirken keine weiteren äußeren Kräfte auf das Fluid ein.

Bis auf wenige Ausnahmen wird Materie einem Aggregatszustand (fest, flüssig oder gasförmig) zugeordnet. Von Zweiphasenströmung wird gesprochen, wenn zwei unterschiedliche Phasen des gleichen Stoffes in einer Strömung vorliegen. Die mathematischen Modelle der Zweiphasenströmung werden jedoch auch dazu verwendet, um das Strömungsverhalten von zwei nicht mischbaren Stoffen zu analysieren. Somit werden auch Suspensionen mit diesen Modellen betrachtet. Suspensionen liegen vor, wenn folgende Spezifikationen erfüllt sind:

- die Partikel befinden sich in einem Trägerfluid
- die im Fluid enthaltenen Partikel sind größer 10^{-5}m und können mit einem gewöhnlichen Mikroskop betrachtet werden.
- die Partikel können durch Filter vom Trägerfluid getrennt werden.
- wenn das Fluid in einem Ruhezustand ist, fallen die Partikel aus.

Wie in Kapitel 3.3.1 abgeleitet, sollen Beads eingesetzt werden, welche bereits mit bloßem Auge lokalisierbar sind. Als Trägerflüssigkeit in biochemischen Nachweissystemen werden meist wässerige Lösungen eingesetzt. Aufgrund der höheren

Dichte der Beads, die aus polymeren Kunststoffen oder Glas bestehen, gegenüber der Dichte von Wasser, fallen die Beads im ruhenden System aus. Somit sind alle Kriterien bezüglich der Suspensionsdefinition erfüllt.

Im Folgenden wird von einer laminaren und stationären Strömung einer Beadsuspension ausgegangen.

3.4.2 Anwendung der Randbedingungen auf den mikrofluidischen Probenträger

Die drei funktionalen Bereiche des mikrofluidischen Probenträgers stellen ein hydraulisches System dar. Wobei sich die 3 funktionalen Bereiche gegenseitig beeinflussen. Werden diese 3 als gemeinsames fluidisches System betrachtet, wird der hydraulische Widerstand zur Beschreibung herangezogen.
Abbildung 3.6 stellt das Widerstandsnetzwerk mikrofluidischer Probenträger dar.

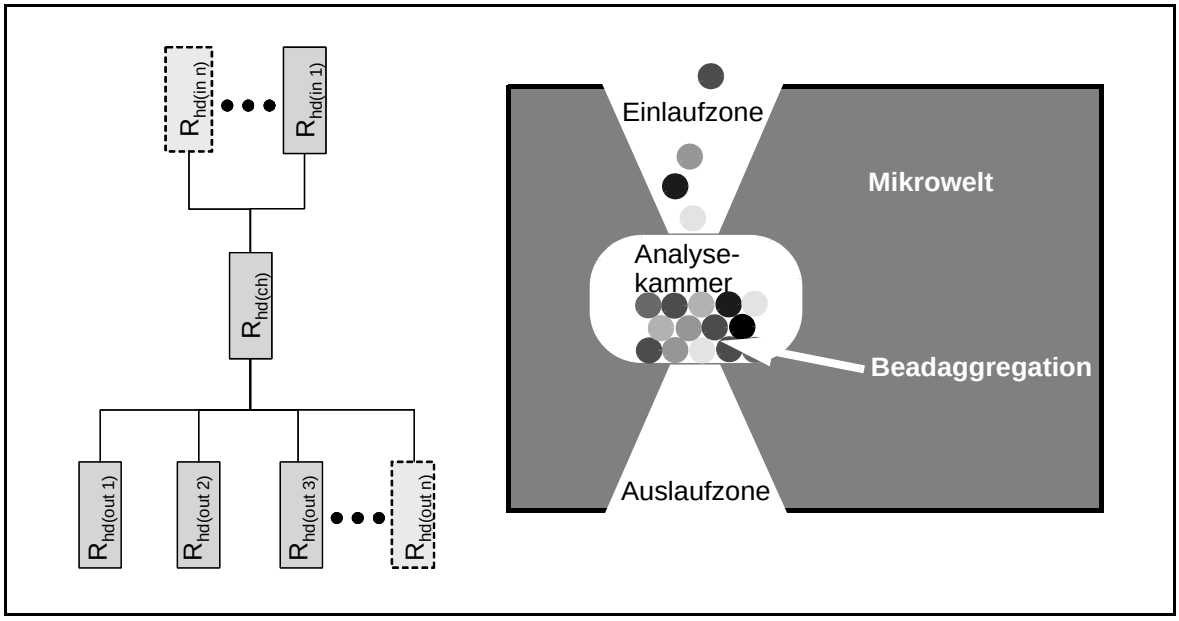


Abbildung 3.6: Widerstandsnetzwerk für mikrofluidische Probenträger
hydraulische Widerstände: Einläufe: $R_{hd(in\ n)}$; Analysekammer: $R_{hd(ch)}$; Ausläufe: $R_{hd(out\ n)}$

Der sogenannte Strömungswiderstand oder hydraulische Widerstand (R_{hd}) /Duc_04/ berechnet sich wie folgt:

$$R_{hd} = \frac{\Delta p}{I_m} \tag{3.13}$$

mit I_m: Massenfluss, p: Druck

Wie in Kapitel 3.4.1 ausgeführt, wird von einer laminaren, stationären Strömung

ausgegangen. Nach /Duc_04/ ist damit der hydraulische Widerstand definiert zu:

$$R_{hd} = C_{nc}\frac{\eta l}{\rho A^2} \tag{3.14}$$

wobei C_{nc} ein geometrieabhängiger Koeffizient ist und A die Querschnittsfläche.

Folgende C_{nc}-Werte für ein Rohr mit rundem Querschnitt (Gleichung 3.15) und für einen Kanal mit rechteckigem Querschnitt (Gleichung 3.16), sind aus /Duc_04/ entnommen:

$$C_{nc} = 8\pi \quad \text{(Rohr)} \tag{3.15}$$

$$C_{nc} = 8\left(\frac{(1+A)^2}{A_v}\right) \quad \text{(Rechteckkanal)} \tag{3.16}$$

wobei hier A_v das Aspektverhältnis von Höhe zu Breite ist.

Die Berechnung und Darstellung des hydraulischen Gesamtwiderstandes erfolgt, aufgrund der Analogie zwischen Fluidkreisläufen und Stromkreisen, nach dem Ohm‘schen Gesetz.

Damit folgt der Gesamtwiderstand zu:

$$R_{hd(ges)} = R_{hd(Ersatzin)} + R_{hd(Ersatzch)} + R_{hd(Ersatzout)} \tag{3.17}$$

Die Ersatzwiderstände $R_{hd(Ersatzin)}$, $R_{hd(Ersatzch)}$, $R_{hd(Ersatzout)}$, ergeben sich gemäß der Knoten- und Maschenregel.

$R_{hd(Ersatzin)}$ sowie $R_{hd(Ersatzout)}$ sind ausschließlich von geometrischen Größen abhängig und können mit Gleichung berechnet werden. Im Gegensatz dazu resultiert der hydraulische Widerstand der Analysekammer $R_{hd(Ersatzch)}$ zum einen aus der Geometrie der Analysekammer selbst, zum anderen aus den aggregierenden Beads in der Analysekammer, die zu einer Reduktion des Querschnittes führen. Dabei handelt es sich um einen dynamischen Vorgang der abhängig vom Befüllzeitpunkt ist. Die Abbildung des Strömungsverhaltens der Beads während des Befüllvorganges ist daher notwendig, um den hydraulischen Widerstand der Analysekammer und damit den hydraulischen Gesamtwiderstand des mikrofluidischen Probenträgers zu bestimmen. Hierzu ist der Einsatz nummerischer Lösungsverfahren notwendig.

3.5 Ableitung von Anforderungen an die Methode zur Auslegung mikrofluidischer Bauteile für Zweiphasenströmungen

3.5.1 Anforderungen an die grundlegende geometrische Auslegung des mikrofluidischen Probenträgers

Ein grundlegendes Design des mikrofluidischen Probenträgers kann über das Modell des hydraulischen Widerstandes vorgenommen werden. Hauptströmungsrichtungen von der Einlaufzone zu den Auslaufzonen müssen auf diese Weise in der Designphase festgelegt werden. Eine Abbildung des sich aufgrund der aggregierenden Beads ergebenden anwachsenden hydraulischen Widerstandes in der Analysekammer ist nicht möglich.

Weiterer Schwerpunkt der geometrischen Auslegung muss das Erzielen einer reproduzierbaren, vollständigen Befüllung der Analysekammer sein. Zusätzlich soll bei der späteren Handhabung des mikrofluidischen Probenträgers keine Verschiebung von einzelnen Beads oder Beadgruppen stattfinden. Somit wird eine stabile Schüttung der Beads gefordert. Eine Schüttung gilt als um so stabiler, je periodischer sie ist. Die Periodizität einer Schüttung spiegelt sich im Befüllungsgrad der Analysekammer wider. Damit sind die zu berücksichtigenden Einflussgrößen die Länge, Breite und Höhe der Analysekammer. Die Herleitung entsprechender Relationen geometrischer Abmessungen der Analysekammer zum Durchmesser d_{Bead} ist notwendig. Diese müssen bei der geometrischen Auslegung des mikrofluidischen Probenträgers eingehen. Betrachtungen zur Aggregation von Teilchen sind aus der Werkstoff- und Materialwissenschaft bekannt.

Am Ende der geometrischen Auslegung müssen die eingeführten Randbedingungen, insbesondere laminare Strömung, sichergestellt sein. Dieser Nachweis erfolgt über die Reynoldszahl. Wie in Kapitel 3.4 nachgewiesen ist die Reynoldszahl ausschließlich von geometrischen Größen abhängig und kann mit den angegebenen Gleichungen bestimmt werden. Ergebnis der grundlegenden geometrischen Auslegung des mikrofluidischen Probenträgers ist ein Bauteildesign, welches eingehend evaluiert wird.

3.5.2 Anforderungen an die Designevaluierung mittels Simulation

Wie in Kapitel 3.4 ausgeführt, findet der sich dynamisch ändernde hydraulische Widerstand in der Analysekammer während der grundlegenden geometrischen Auslegung keine Berücksichtigung. Zur Evaluierung des Designs des mikrofluidischen Probenträgers muss daher ein Modell entwickelt werden, welches folgenden Anforderungen gerecht wird:

- Abbildung einer laminaren, stationären Zweiphasenströmung in der Einlaufzone und der Analysekammer

- Berücksichtigung von Partikel - Fluid Wechselwirkungen
- Abbildung einer dynamisch wachsenden Anzahl an Beads in der Analysekammer
- Abbildung einer Strömung durch aggregierte Beads

3.5.3 Ableitung von Hilfsmitteln zur Evaluierung der Methode und des Simulationsmodells

Schwerpunkt dieser Arbeit ist die Entwicklung einer simulationsgestützten Methode zur Auslegung mikrofluidischer Probenträger für die beadbasierte medizinische Diagnostik. Hierbei sollen geometrische Gestaltungsregeln zur Erzielung einer stabilen Schüttung entwickelt werden sowie ein Simulationsmodell zur Designevaluierung konzipiert und realisiert werden.

Zur Verifikation des Simulationsmodells werden folgende Hilfsmittel benötigt:

- Testkörper zur Bestimmung einzelner Parameter
- Versuchsstand zur Bestimmung einzelner Parameter
- Simulationswerkzeug zur Abbildung von Teilchenströmungen und Berechnung von hydraulischen Widerständen bei der Strömung durch aggregierte Beads
- mikrofluidischer Probenträger zur experimentellen Verifikation des Simulationsmodells
- Versuchsstand zur Durchführung von Experimenten mit einem mikrofluidischen Probenträger
- Beadmaterialien zur Durchführung von Versuchen

Das grundlegende geometrische Design des mikrofluidischen Probenträgers zur experimentellen Verifikation des Simulationsmodells soll auf Grundlage der angestellten geometrischen Betrachtungen erstellt werden. Auf diese Weise wird gleichzeitig die Richtigkeit der Designregeln zur Erzielung einer stabilen Schüttung in der Analysekammer verifiziert.

4 Stand der Technik zur Auslegung mikrofluidischer Bauteile für Zweiphasenströmungen

4.1 Geometrische Grundlagen zur Aggregation von Teilchen

Die Aggregation von Teilchen im dreidimensionalen Raum bildet die theoretischen Grundlagen in der Werkstoff- und Materialwissenschaft zum atomaren Aufbau von Festkörpern. Dabei werden Atome idealisiert als feste Kügelchen betrachtet /Ask_96/, was eine Analogie zur Anordnung sphärischer Beads in einer Schüttung zulässt.

Ein Kristallgitter liegt vor, wenn sich die Atome in einem sich wiederholenden regelmäßigen Gitter anordnen. Die kleinste Gittereinheit, die alle Charakteristika eines Gesamtgitters aufweist, wird als Elementarzelle bezeichnet. Die Elementarzelle ist durch 6 Ebenen begrenzt. Die Kantenlänge entspricht der Gitterkonstanten a_G. Zusätzlich zur Gitterkonstanten a_G wird als weiterer Gitterparameter der Winkel zwischen den begrenzenden Seiten angegeben. Zusammen beschreiben die Gitterparameter Form und Abmessungen der Elementarzellen. Im dreidimensionalen Raum werden 3 prinzipielle Systeme unterschieden. Diese sind das kubisch flächenzentrierte (kfz), das kubisch raumzentrierte (krz) und das hexagonal dichteste (hdp) System /Kus_91/. Im Folgenden sollen jedoch nur die Systeme näher betrachtet werden, welche bei der Ausbildung eines 2-dimensionalen Monolayers relevant sind.

Abbildung 4.1 stellt die möglichen Ausprägungen zweidimensionaler Elementarzellen dar und gibt den jeweiligen Zusammenhang zwischen Gitterkonstante und Teilchenradius (Atomradius) wieder.

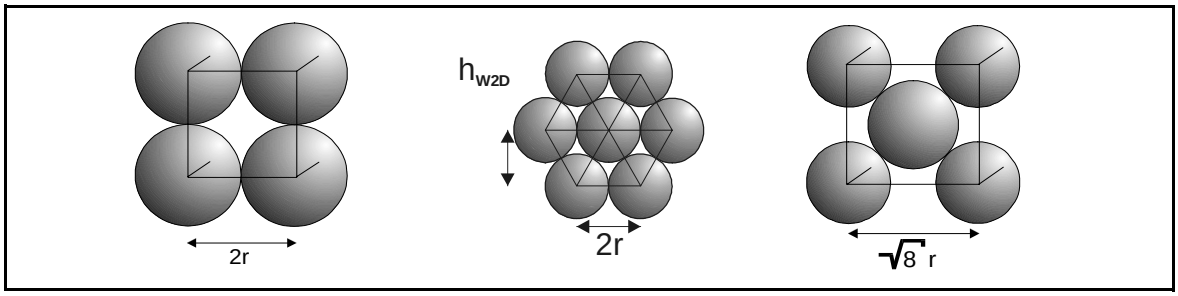


Abbildung 4.1: Zusammenhang zwischen Gitterkonstante a_G und Atomradius:
a): einfach kubisch; b) hexagonal c) kubisch flächenzentriert /Ask_96/

Bei der einfach kubischen Elementarzelle reicht die Gitterkonstante $a_G = 2_*$Teilchenradius aus. Die kubisch flächenzentrierte Anordnung ist durch die Gitterkonstante

$a_G = \sqrt{8}r$ beschrieben. Die kubisch flächenzentrierte Anordnung wird sich bei einer zweidimensionalen Anordnung gleichgrosser Teilchen nur bei Auftreten von Haltekräften bzw. Ordungskräften einstellen.

Zur Beschreibung der hexagonalen Elementarzelle ist die Gitterkonstante a_G = 2*Teilchenradius sowie der von den Achsen aufgespannte Winkel von 120° erforderlich. Dabei ist der Mittelpunktsabstand h_{W2D} zweier Teilchenreihen gleich der Höhe eines gleichseitigen Dreiecks (Gleichung 4.1).

$$h_{W2D} = \sqrt{3}\frac{a_G}{2} \tag{4.1}$$

Die sich ausbildende Gitterstruktur ist von wesentlichem Einfluss auf die

- Stabilität der aggregierten Teilchen bzw. der Schüttung und die
- Packungsdichte

Die Packungsdichte ist definiert zu:

$$\text{Packungsdichte} = \frac{(\text{Anzahl der Atome/Zelle})(\text{Volumen der Atome})}{(\text{Volumen der Elementarzelle})} \tag{4.2}$$

Die zweidimensionale „hexagonale“ Gitterstruktur zeichnet sich durch die höchste Packungsdichte von 90,69% aus. Bei der „einfach kubischen“ Anordnung wird eine Packungsdichte von 78,54 % erzielt.

Ein weiterer Einflussfaktor auf die Stabilität und die Packungsdichte sind mögliche Defekte in der Gitterstruktur. Aus der Literatur /Ask_96/, /Rud_95/, /Die_93/ sind folgende 3 Defekte bekannt:

- Punktdefekte (Leerstellen, Zwischengitterdefekte, Substitutionsdefekte)
- Liniendefekte (Versetzungslinien)
- Flächendefekte (Oberflächendefekte, Korngrenzen)

Eine Schüttung ist umso stabiler, je periodischer sie ist. Bei einer Gitterstruktur ohne Defekte wird von einer Wohlordnung gesprochen. Ein Maß für die Periodizität ist der Befüllungsgrad. Dieser wird in Prozent angegeben und berechnet sich aus dem Quotienten der sich tatsächlich im Gitter befindenden Anzahl an Teilchen und der theoretisch maximal möglichen Anzahl.

4.2 Teilchenströmung in Fluiden

Befindet sich die Trägerflüssigkeit einer Suspension nicht in Ruhe, so wirkt auf die Teilchen durch die Flüssigkeitsumströmung eine Reibungskraft, durch die sie mitbewegt werden. Die auf kugelförmige Teilchen wirkende Kraft F_R wird durch das Stoke´sche Reibungsgesetz /Stö_98/ definiert:

$$\vec{F}_R = 6\pi\eta r\vec{v} \tag{4.3}$$

mit r = Radius des kugelförmigen Teilchens und der Viskosität η

Ist $\overrightarrow{F_R}$ gegenüber anderen Kräften, wie zum Beispiel der Gravitationskraft groß genug, werden die kugelförmigen Teilchen mit der Strömung der Trägerflüssigkeit mitgerissen. Ein Teilchentransport findet somit statt. Ist die Kraft auf das kugelförmige Teilchen ungleich der Kraft, welche an diesem Ort auf das Fluid wirkt, findet eine Rückkopplung statt. Das kugelförmige Teilchen wird relativ zum umgebenden Fluid beschleunigt und verändert seinerseits durch Impulsübertragung die Geschwindigkeitsverhältnisse im umgebenden Fluid. Zur Abbildung der Vorgänge von Teilchenströmungen in Fluiden gibt es unterschiedliche Lösungsverfahren, die im Folgenden diskutiert werden.

4.2.1 Euler-Euler-Verfahren

Die Betrachtungsweise nach Euler ist dadurch gekennzeichnet, dass der Strömungszustand an einem festen Ort zu einer beliebigen Zeit beschrieben wird /Lan_91/, /Mül_76/.

Die Berücksichtigung von Teilchen im Fluid erfolgt über das sogenannte Volume-of-Fluid-Modell. Dabei wird in ein Fluid ein Tropfen einer anderen Flüssigkeit eingebracht. Diese zweite Flüssigkeit ist durch eine ausreichend hohe Viskosität gekennzeichnet, so dass der Tropfen in der betrachteten Strecke nicht auseinandergeschert wird. Zur Lösung eines derartigen Zweiphasensystems wird das Euler-Euler-Verfahren angewendet. Da das Euler -Euler-Verfahren den Strömungszustand zeitabhängig beschreibt, muss die nummerische Lösung transient (d. h. zeitabhängig) errechnet werden. Daraus folgt, dass diskrete Zeitschritte gewählt werden, zu denen die Berechnung erfolgt. Werden die Zeitschritte zu groß gewählt, besteht die Gefahr, dass die Lösung nicht konvergiert. Bei zu kleinen Zeitschritten besteht die Gefahr, dass der Tropfen nur unmerklich weitertransportiert wird.

4.2.2 Euler-Lagrange-Verfahren

Im Gegensatz zur Betrachtung nach Euler beschreibt das nach Lagrange benannte Verfahren eine Strömung durch die Bewegung ihrer Teilchen /Bro_89/, /Mül_76/. Es wird zwischen drei verschiedenen Stufen unterschieden:

Stufe 1 (no coupling):

Hier wird vorausgesetzt, dass Partikeldichte und Fluiddichte ungefähr gleich groß sind und damit auf die Partikel außer der Stokesschen Reibungskraft keine weiteren Kräfte wirken. Somit entsprechen die Partikelpfade den Fluidströmungslinien. Ein echtes Zweiphasensystem liegt nicht vor.

Stufe 2 (one-way-coupling):

Das Strömungsfeld im Fluid wird nach Euler berechnet, während die Berechnung des Partikelpfades (Trajektorien) innerhalb des Strömungsfeldes nach Lagrange erfolgt. Durch diesen Ansatz wird die Wechselwirkung des Fluids auf die Partikel berücksichtigt (one-way-coupling). Eine Rückkopplung von Kräften von den Partikeln auf die Strömung findet dabei nicht statt. Neben der Stokes´schen Reibungskraft werden weitere Kräfte auf die Partikel, wie zum Beispiel Zentrifugal- und Gravitationskraft, in die Berechnung einbezogen. Anwendungsgebiet ist die Simulation von wenigen, kleinen Partikeln in einem Fluid.

Stufe 3 (two-way-coupling):

Im Gegensatz zu Stufe 2 wird in Stufe 3 die Wechselwirkung vom Fluid auf die Partikel und umgekehrt berücksichtigt (two-way-coupling). Ähnlich dem Euler-Euler-Verfahren müssen zur nummerischen Lösung diskrete Zeitschritte definiert werden, zu denen die neue Position des fließenden Partikels berechnet werden soll. Zusätzlich müssen konstant Partikel an den vorgegebenen Koordinaten eingebracht werden, um die Rückwirkung der Partikel auf das stationäre Fluid zu berücksichtigen. Das two-way-coupling findet Anwendung, wenn zu erwarten ist, dass die Partikel die Strömung beeinflussen.

Bei Anwendung des Euler-Lagrange-Verfahrens werden die Partikel als 0-dimensionale, punktförmige Masse-, Wärme- und Impulsquellen betrachtet. Eine räumlich ausgedehnte Simulation erfolgt derzeit nicht.

Forschungsarbeiten beschäftigen sich intensiv mit der Entwicklung von Algorithmen, welche die Simulation von Partikeln mit räumlicher Ausdehnung erlauben. Im Rahmen des US-Projekts „Direct Simulation of the Motion of Particles in Flowing Liquids“ der „National Science Foundation“ (NSF) wird ein Algorithmus entwickelt, mit dem die Simulation von bis zu 1000 räumlich ausgedehnten Partikeln mittels Grossrechnern (z.B. Cray T3-D) möglich sein wird /Jos_04/. Damit stände ein Level 4, d.h. eine two-way-coupling-Simulation mit räumlich ausgedehnten Partikeln zur Verfügung. Dabei werden zwei Ansätze verfolgt. Zum einen wird eine verallgemeinerte ALE (arbitrary Lagrangian-Eulerian) Galerkin Finite-Element-Methode eingesetzt. Dabei bewegen sich die Knotenpunkte der Diskretisierung auf der Oberfläche der Partikel mit, so dass nach jedem Zeitschritt die Diskretisierung aktualisiert werden

muss. Bei zu stark deformierten Gitterzellen muss ein komplett neues Gitter erzeugt werden. Zum anderen wird eine eingebettete Methode verfolgt. Dabei wird der Partikel als Fluid simuliert, an dessen Oberfläche durch Quellterme „no-slip“-Bedingungen hergestellt werden. Damit ist die Geschwindigkeit des Fluids identisch mit der an der Grenzfläche zum Partikel befindlichen Geschwindigkeit. Für die eingebettete Methode muss der Partikelpfad im voraus bekannt sein.

4.2.3 Modellierung über „Moving Body Constraint“

Ein weiteres Verfahren zur Beschreibung von Zweiphasenströmungen bietet das Modell „Moving Body Constraint“. Hierbei werden zuvor definierten Bereichen im Modell Bewegungsabläufe als Zwangsbedingung fest vorgegeben. Die Bewegungsbeschreibung erfolgt dabei mittels einer Zeitfunktion. Zur Festlegung der Bewegungsabläufe müssen somit vorab alle auf die Partikel wirkenden Kräfte bekannt sein. Dieses Verfahren findet Anwendung, wenn nicht die Strömung die Hauptursache der Partikelbewegung ist, sondern z. B. von außen steuerbare Kräfte.

4.2.4 Dissipative Particle Dynamics

Dissipative Particle Dynamics (DPD) ist ein junges Simulationsverfahren /Hoo_92/, das für die Untersuchung von Phänomenen auf hydrodynamischen Längen- und Zeitskalen entwickelt wurde.

Hierbei handelt es sich um ein partikelbasiertes Verfahren, bei dem die DPD Partikel über stochastische, dissipative und konservative Kräfte interagieren und der Impuls aufgrund des zugrundegelegten 3. Newtonschen Axioms lokal erhalten bleibt. Diese Eigenschaft führt dazu, dass die Impulstransportgleichungen im Grenzfall auf die Navier-Stokes Gleichungen abgebildet werden können. Damit können hydrodynamische Vorgänge abgebildet werden /Esp_97/.

Der wesentliche Vorteil des Verfahrens im Vergleich zur "molecular dynamic simulation", ist, dass die Partikel durch die modifizierten Kraftgesetze keine Atome sondern Atomkluster/Fluidkluster darstellen und damit ein sogenanntes "coarse graining" stattfindet. Das Verfahren wird insbesondere zur Modellierung komplexer Fluide wie Polymerlösungen, Polymerschmelzen und Kolloidlösungen eingesetzt.

Starre Objekte wie makroskopische Beads lassen sich mit DPD abbilden, da die hydrodynamische Interaktion mit dem Verfahren selbstkonsistent abgebildet wird /Esp_97/. Da ein tiefgreifendes Verständnis beim Einsatz des Verfahrens notwendig ist und der nummerische Rechenaufwand Grossrechner erfordert, wird DPD überwiegend im Forschungsbereich angewendet. Kommerziell nutzbare Softwarepakete zur Simulation mittels DPD sind nicht verbreitet.

4.2.5 Strömungen durch poröse Medien

In der Hydrogeologie werden Strömungen nach einem anderen Ansatz betrachtet. Hier werden Strömungen durch poröse Medien berechnet bzw. simuliert, wobei ein poröser Körper ein von Poren durchzogener Festkörper ist, dessen Poren untereinander verbunden sein können, so dass sich eine Durchlässigkeit (Permeabilität) für flüssige Medien ergibt. Grundlage hierfür bilden die Untersuchungen von Darcy /Ten_00/, /Erm_03/, /Lut_03/.

1856 führte Henry Darcy erste experimentelle Versuche (Abbildung 4.2) zur Strömung von Wasser durch ein mit Sand gefülltes Rohr durch /Ten_00/, /Erm_03/.

Dabei fand er folgenden linearen Zusammenhang heraus, der auch als Gesetz von Darcy bezeichnet wird /Ten_00/, /Lut_03/:

$$-\vec{F} = -\nabla p = \frac{\eta}{[K]}\vec{v} \tag{4.4}$$

Die hydraulische Durchlässigkeitsverteilung in einem Stoff ist im allgemeinen anisotrop, ein Gradient in x-Richtung kann z.B. eine Strömungskomponente in z-Richtung verursachen. Daher muss der Durchlässigkeitstensor oder Permeabilitätstensor *K* betrachtet werden. Der Tensor *K* ist eine Messgröße zur Quantifizierung der Durchlässigkeit eines Körpers, ausgedrückt als Durchflussmenge je Flächen- und Zeiteinheit in der wassergesättigten Zone.

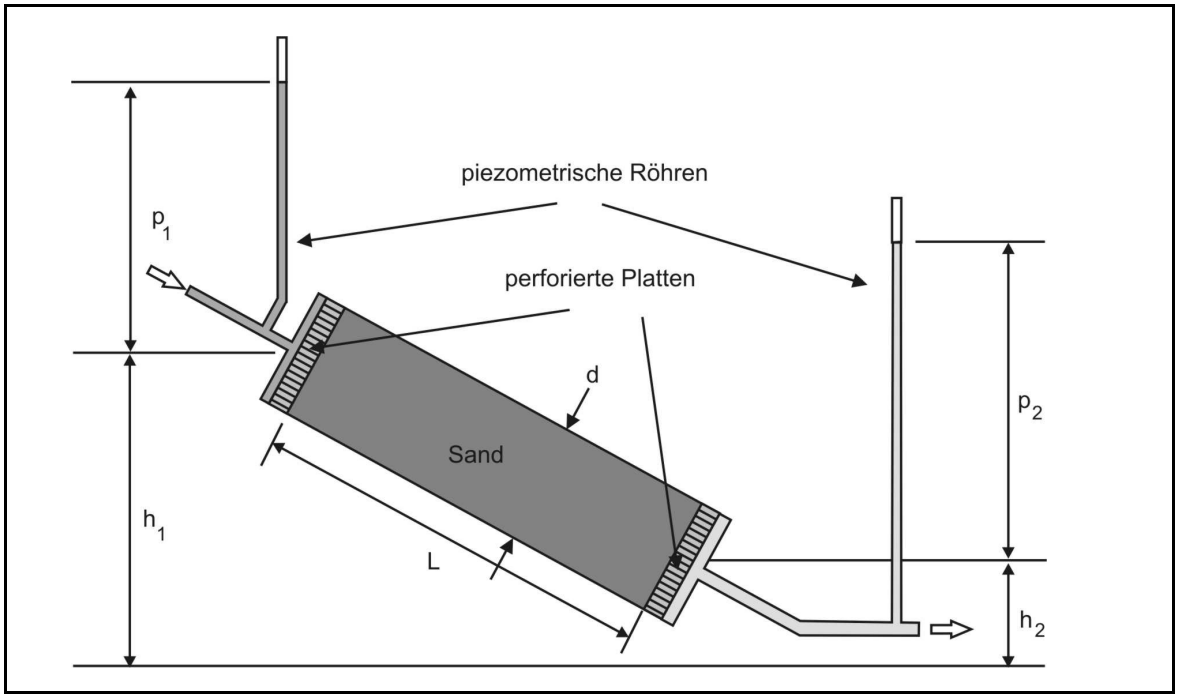


Abbildung 4.2: Schematische Zeichnung zum historischen Versuchsaufbau von Henry Darcy /Erm_03/

Weist das poröse Medium in alle Richtungen gleiche Eigenschaften auf, vereinfacht sich nach /Duc_04/ der Permeabilitätstensor. Die Außerdiagonalelemente werden zu Null, die Diagonalelemente nehmen alle den gleichen Wert k an.

Philipp Forchheimer (1852-1933) stellte 1901 den linearen Zusammenhang zwischen der sogenannten Filtergeschwindigkeit $\vec{v}$, welche die Flussrate pro Querschnittsfläche angibt, und dem Druckgradienten fest. Dieser lineare Zusammenhang gilt unter laminaren Fließbedingungen. Zur Betrachtung höherer Filtergeschwindigkeiten berücksichtigte Forchheimer die kinetische Energie des Fluides (ρv^2) in der Darcy-Gleichung /Ten_00/, /Lut_03/:

$$-\vec{F} = -\nabla p = \frac{\eta}{[K]}\vec{v} + a_F \rho |\vec{v}| \vec{v} \tag{4.5}$$

Die Forchheimer-Konstante a_F wird in der Regel an experimentell ermittelte Ergebnisse angepasst, so dass die Angaben zu dieser Konstante in der Literatur nicht einheitlich sind. Bezüglich der Forchheimer-Konstante wurden viele Untersuchungen angestellt, so dass ein Ausdruck für a_F, der von S. Ergun 1952 ermittelt wurde, häufiger genannt wird /Guo_02/:

$$a_F = \frac{1{,}75}{\sqrt{150\phi^3}} \tag{4.6}$$

und

$$k = \frac{\phi^3 d_p^{\,2}}{150(1-\phi)^2} \tag{4.7}$$

mit d_p als Partikeldurchmesser und ϕ als Porosität. Die Porosität ist definiert zu:

$$\phi = \frac{V_f}{V_{ges}} \tag{4.8}$$

wobei V_f das Volumen darstellt, das vom Fluid eingenommen wird, und V_{ges} das Gesamtvolumen ist.

Für *k* ist in der Literatur auch die Formulierung angegeben /Sch_03/:

$$k = \frac{k_f \eta}{\rho g} \tag{4.9}$$

wobei k_f der Durchlässigkeitsbeiwert ist.

In Abbildung 4.3 sind typische Werte für k_f dargestellt und gleichzeitig die Permeabilität k, wenn für die Viskosität $\eta = 1 \cdot 10^{-3} Pas$, für die Dichte $\rho = 1000 kg/m^3$ und die Erdbeschleunigung $g = 9{,}81 m/s^2$ angenommen wird /Sch_03/.

Medium	k_f in m/s	k in m^2
Grobkies	$10^{-1} - 10^{-2}$	$10^{-8} - 10^{-9}$
Sand und Kies	$10^{-2} - 10^{-5}$	$10^{-9} - 10^{-12}$
Feinsand bis Schluff	$10^{-5} - 10^{-9}$	$10^{-12} - 10^{-16}$
Ton	$10^{-9} - 10^{-11}$	$10^{-16} - 10^{-18}$

Abbildung 4.3: Typische Werte der Durchlässigkeit aus /Sch_03/

Zur Berechnung von Strömungen durch poröse Medien werden die von Darcy und Forchheimer erforschten Gesetzmäßigkeiten in der Navier-Stokes-Gleichung (Gleichung 3.2) berücksichtigt.

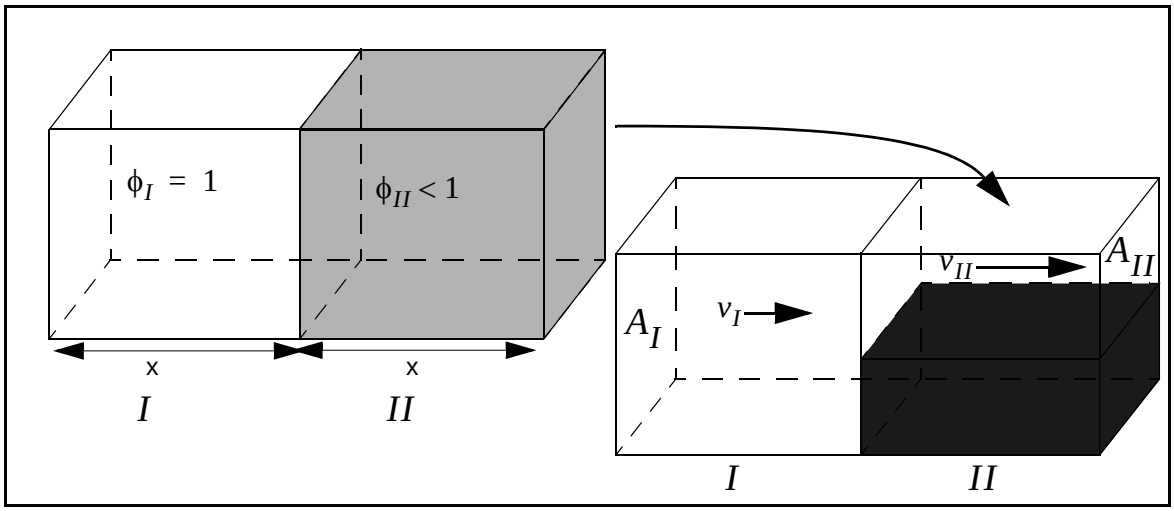


Abbildung 4.4: Schematische Darstellung der Trennung des porösen Mediums in Festkörperanteil und Fluidanteil

Um die Porosität Φ in der Navier-Stokes-Gleichung zu verankern, werden die Poren und der Festkörperanteil des porösen Mediums getrennt voneinander dargestellt (Abbildung 4.4). So gilt aufgrund des Massenerhaltungsgesetzes /Stö_98/:

$$v_I(\Delta t)A_I\rho = v_{II}(\Delta t)A_{II}\rho \tag{4.10}$$

daraus folgt:

$$\frac{v_I}{v_{II}} = \frac{A_{II}}{A_I} = \phi \Rightarrow v_{II} = \frac{v_I}{\phi} \tag{4.11}$$

Unter Berücksichtigung von Gleichung 4.11 und Gleichung 4.5 wird die Navier-Stokes-Gleichung für eine Strömung durch ein poröses Medium entsprechend dargestellt:

$$\rho\left[\frac{1}{\phi}\frac{\partial}{\partial t}\vec{v} + \frac{1}{\phi^2}(\vec{v}\nabla)\vec{v}\right] = -\nabla p + \eta_e\nabla^2\vec{v} + \rho\vec{g} - \left(\frac{\eta}{[K]}\vec{v} + a_F\rho|\vec{v}|\vec{v}\right) \tag{4.12}$$

4.2.6 Werkzeuge zur Simulation von Zweiphasenströmungen

Kommerzielle Programme für Computersimulationen zur Berechnung von Strömungsvorgängen sind in den letzten Jahren immer leistungsfähiger geworden. Die einzelnen Simulationswerkzeuge weisen dabei unterschiedliche Schwerpunkte auf. Das Werkzeug, das sich z.B. zur Simulation einer einphasigen, turbulenten Strömung eignet, stellt nicht unbedingt eine effiziente Lösung zur Simulation von mehrphasigen Strömungen dar.

Abbildung 4.5 gibt eine Übersicht bezüglich der am Markt gängigen Simulationswerkzeuge und deren Leistungsmerkmale.

	CFD ACE+ CFD-RC	Coventor-Ware (Covent. Inc.)	FemLAB (COMSOL AB)	CFX (ANSYS)	FIDAP (Fluent Inc.)
Zweiphasen-simulation	Abbildung von Zweiphasen-strömungen möglich	Keine Aussage des Herstellers	Abbildung von Zweiphasen-strömungen nicht möglich	Abbildung von Zweiphasen-strömungen möglich	Abbildung von Zweiphasen-strömungen möglich
Partikel-Rückwirkung aufs Fluid	Keine Aussage des Herstellers	Abbildung der Rückkopplung nicht möglich	Abbildung der Rückkopplung nicht möglich	Keine Aussage des Herstellers	Abbildung der Rückkopplung möglich
Poröse Medien	Abbildung der Strömung durch poröse Medien möglich	Keine Aussage des Herstellers	Abbildung der Strömung durch poröse Medien möglich	Keine Aussage des Herstellers	Abbildung der Strömung durch poröse Medien möglich

Abbildung 4.5: Übersicht der am Markt gängigen Simulationswerkzeuge

5 Entwicklung einer Methode zur Auslegung mikrofluidischer Probenträger

5.1 Entwicklung einer Geometrie zur Erzielung einer stabilen Schüttung in der Analysekammer

Basierend auf den theoretischen Grundlagen zum Aufbau von Gitterstrukturen wird eine Grundgeometrie für die Analysekammer entwickelt.

Dabei wird von einer Analysekammer mit der Breite a und der Länge b ausgegangen. Die Höhe der Analysekammer orientiert sich an dem Beaddurchmesser d_{Bead}, um eine zweidimensionale Lage der Beads (Monolayer) zu erzwingen. Die geometrischen Abmessungen der Einlaufzone und Auslaufzone, werden dabei nicht betrachtet. Ebenso bleibt die Anzahl und die geometrische Anordnung der Ein- und Auslaufzonen außerhalb der Betrachtungsweise. Es wird jedoch davon ausgegegangen, dass sich die Beadschüttung von unten aufbaut. Der Beaddurchmesser (d_{Bead}) wird während der geometrischen Betrachtungen konstant gehalten. Der Beadradius, (r_{Bead}) wird in verschiedene Verhältnisse zur Breite a und Länge b gesetzt, um so den Einfluss der Abmessungen der Analysekammer zu ermitteln. Gleichzeitig wird der Einfluss der Größe und Lage der daraus entstehenden Lücke veranschaulicht. Die Lage der Lücke ist statistisch verteilt. Aus ihr ergeben sich unter anderem Defekte in der Periodizität der Schüttung (gleichmäßige periodische Verteilung der Beads). Je nach Verhältnis von Beaddurchmesser zu Kammerbreite bilden sich unterschiedlich geordnete Schüttungen aus.

Bewertungsgrößen sind wie in Kapitel 3 und Kapitel 4 aufgezeigt die:

- Stabilität der aggregierten Teilchen bzw. der Schüttung (Maß hierfür ist die Periodizität bzw. das Auftreten von Defekten)
- Packungsdichte (Maß hierfür ist die sich ausbildende Struktur und der Befüllungsgrad)

Aufgrund der in Kapitel 4 dargestellten Analogie zwischen dem atomaren Aufbau von Festkörpern und der Schüttung von Beads werden hier nur beispielhaft rechtekkige Kammergeometrien zur Erzielung einer stabilen Schüttung betrachtet.

Im Folgenden wird zwischen dem Konzept der orthogonalen rechteckigen Analysekammer und der verkippten rechteckigen Analysekammer unterschieden. Bei der orthogonalen rechteckigen Analysekammer bildet die Längsachse der Einlaufzone einen rechten Winkel mit der ihr gegenüberliegenden Breite a der Analysekammer. Bei der verkippten rechteckigen Analysekammer liegt die Einlaufzone gegenüber einer rechtwinkligen Ecke zweier Seiten der Analysekammer.

5.1.1 Konzept der orthogonalen rechteckigen Analysekammer, Monolage

Abbildung 5.1 stellt schematisch eine orthogonale quadratische Analysekammer als Sonderfall der rechteckigen Analysekammer dar. Die Schüttung baut sich ausgehend von der Seitenbreite a der Analysekammer auf.

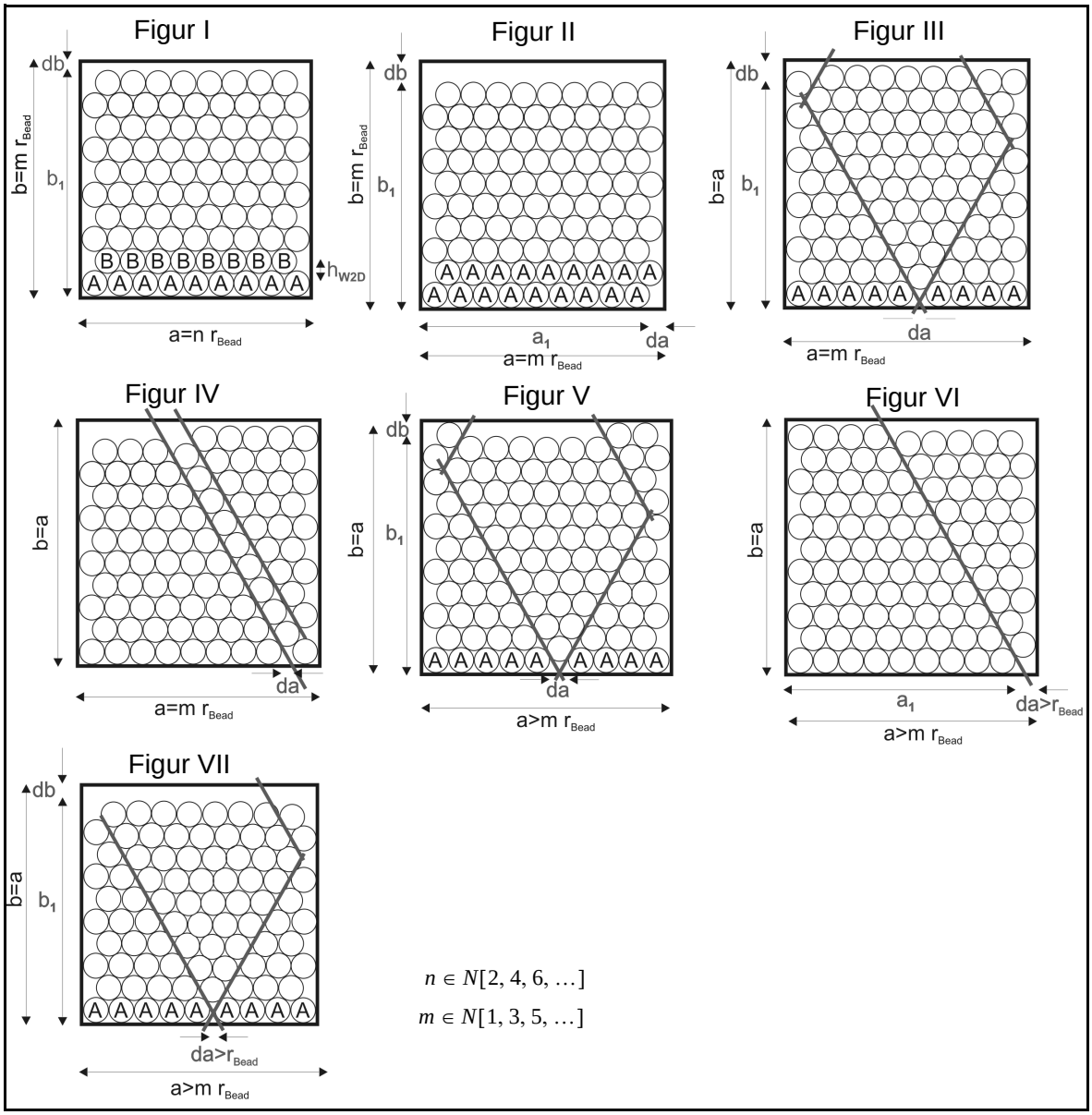


Abbildung 5.1: Die Periodizität einer Schüttung ist abhängig vom Verhältnis der Kammerseitenlängen zum Beadradius r_{Bead} (r_{Bead} ist konstant).
Figur I: Die Kammerbreite entspricht dem geraden ganzzahligen Vielfachen von r_{Bead}: in der ersten Beadreihe tritt keine Lücke *da* auf. $a=n*r_{Bead}$
Figur II: Die Kammerbreite entspricht dem ungeraden ganzzahligen Vielfachen von r_{Bead}: die Lücke *da* (= Größe der Lücke: $a - a_1$) befindet sich an der Seite;
Figur III: Die Kammerbreite entspricht dem ungeraden ganzzahligen Vielfachen von r_{Bead}: die Lücke *da* ist im Bereich der Mitte; Versetzungslinien (60°, 120°);
Figur IV:Die Kammerbreite entspricht dem ungeraden ganzzahligen

Vielfachen von r_{Bead}: die Lücke *da* ist in Randnähe; parallele Versetzungslinien;
Figur V: Die Kammerbreite ist größer als das ungerade ganzzahlige Vielfache von r_{Bead}: die Lücke *da* ist im Bereich der Mitte; Versetzungslinien (60°, 120°);
Figur VI: Die Kammerbreite ist größer als das ungerade ganzzahlige Vielfache von r_{Bead}: die Lücke *da* befindet sich in Randnähe;
Figur VII:Die Kammerbreite ist größer als das ungerade ganzzahlige Vielfache von r_{Bead}: die Lücke *da* ist im Bereich der Mitte: Versetzungslinien (60°, 120°)

Hier werden zuerst zwei Spezialfälle wohlgeordneter Schüttungen unterschieden:

Figur I (Abbildung 5.1): Schüttung A-B:

Die Kammerbreite entspricht einem geraden ganzzahligen Vielfachen von r_{Bead}. Es entsteht eine sich auf die ganze Kammer beziehende hexagonale Wohlordnung von hoher mechanischer Stabilität. Beim Sonderfall der quadratischen Form der Analysekammer entsteht in Richtung der Kammerlänge *b* eine Lücke *„db“* (= Größe der Lücke: $b - b_1$). Die Lagestabilität der Gesamtschüttung sollte bei kleinen Ausmassen dieser Lücke nicht gefährdet sein. Die Abschlusskante der Schüttung liegt auf der gleichen Höhe und beinhaltet keine Versetzung, d. h. sie ist einheitlich.

Figur II (Abbildung 5.1): Schüttung A-A:

Die Breite a der Analysekammer entspricht einem ungeraden ganzzahligen Vielfachen von r_{Bead} und ist größer als in Figur I. Der Abstand *„da“* (= Größe der Lücke: $a - a_1$) befindet sich zwischen einer geschlossenen Beadreihe und der Seitenwand der Analysekammer. Es entsteht eine sich auf die ganze Analysekammer ausdehnende hexagonale Wohlordnung von mechanischer Stabilität. Beim Sonderfall der quadratischen Form der Analysekammer entsteht in Richtung der Seitenlänge *b* eine Lücke *„db“*. Die Lagestabilität der Gesamtschüttung wird hier durch das große Ausmaß der Lücke bei Erschütterungen gefährdet. Der Flächenanteil am Boden der Analysekammer, der von Beads abgedeckt wird, ist in diesem Fall kleiner als in Figur I. Die Abschlusskante der Schüttung nach oben ist einheitlich.

Figur III (Abbildung 5.1): Rautenförmige Versetzungslinien:

Die Breite a der Analysekammer entspricht einem ungeraden ganzzahligen Vielfachen von r_{Bead}, ist also gleich der Breite in Figur II. Der Abstand *„da“* befindet sich hier in der Mitte der Analysekammer. Es entstehen mehrere, aber kleinere Felder von hexagonaler Periodizität, die von Versetzungslinien eingegrenzt werden. Beim Sonderfall der quadratischen Form der Analysekammer entsteht in Richtung der Seitenlänge b eine Lücke *„db“*. Diese ist hier kleiner als in Figur II. Das liegt daran, dass eine ganze Trichterformation Beads nach unten rutscht und den Platz für eine

weitere Reihe Beads freigibt. Die Lagestabilität der Gesamtschüttung wird in diesem Fall nicht gefährdet. Die Abschlusskante ist uneinheitlich. Der Flächenanteil am Boden der Analysekammer, der von Beads abgedeckt wird, ist größer als in Figur II, der Befüllungsgrad ist also höher.

Figur IV (Abbildung 5.1): Parallele Versetzungslinien:

Die Breite a der Analysekammer entspricht einem ungeraden ganzzahligen Vielfachen von r_{Bead}, hat also die gleiche Breite wie Figur II und III. Der Abstand *„da“* befindet sich hier in der Nähe des Randes. Es entstehen Felder von hexagonaler Periodizität, die von parallel verlaufenden Versetzungslinien getrennt werden. Die Anzahl der Felder ist geringer als in Figur III. Beim Sonderfall der quadratischen Form der Analysekammer und dem Verlauf der Versetzungslinien entsteht in Richtung der Seitenlänge b eine Lücke *„db“* von großer Breitenschwankung. Eine gute Lagestabilität der Gesamtschüttung ist nicht gegeben. Die Abschlusskante ist uneinheitlich.

Figur V (Abbildung 5.1): Rautenförmige Versetzungslinien:

Die Breite a der Analysekammer ist größer als das ungerade ganzzahlige Vielfache von r_{Bead}. Der Abstand *„da“* befindet sich in der Mitte der Analysekammer und ist größer als in den vorangegangenen Figuren. Es entstehen Felder von hexagonaler Wohlordnung, die von Versetzungslinien eingegrenzt werden. Beim Sonderfall der quadratischen Form der Analysekammer entsteht in Richtung der Seitenlänge b eine Lücke *„db“*. Diese ist größer als in Figur III. Dies liegt an den größeren Abmessungen der Analysekammer. Die Lagestabilität der Gesamtschüttung ist abhängig von den Ausmaßen der Lücke. Die Abschlusskante ist uneinheitlich.

Figur VI (Abbildung 5.1): Einzelne Versetzungslinie:

Die Breite a der Analysekammer ist größer als das ungerade ganzzahlige Vielfache von r_{Bead}, ist also gleich der Breite in Figur V. Der Abstand *„da“* befindet sich im Randbereich und ist gleich der Lückenbreite in Figur V. Es entstehen Felder von hexagonaler Wohlordnung, die von Versetzungslinien getrennt werden. Die Anzahl der Felder ist geringer als in Figur V. In Richtung der Seitenlänge b entsteht eine Lücke *„db“*. Eine gute Lagestabilität der Gesamtschüttung ist nicht gegeben. Die Abschlusskante ist uneinheitlich.

Figur VII (Abbildung 5.1): Rautenförmige Versetzungslinien:

Die Breite a der Analysekammer ist kleiner als das ungerade ganzzahlige Vielfache von r_{Bead}. Der Abstand *„da“* befindet sich in der Mitte der Analysekammer und ist kleiner als in den Figuren II, III und IV. Es entstehen Felder von hexagonaler Wohlordnung, die von Versetzungslinien eingegrenzt werden. Beim Sonderfall der qua-

dratischen Form entsteht in Richtung der Seitenlänge b eine Lücke *„db“*. Diese ist größer als in Figur VI. Die Lagestabilität der Gesamtschüttung ist abhängig von den Ausmaßen der Lücke. Die Abschlusskante ist uneinheitlich.

5.1.1.1 Diskussion der orthogonalen rechteckigen Analysekammer

Das Verhältnis der Breite a der Analysekammer zu r_{Bead} darf für eine fehlstellenfreie Schüttung nicht frei gewählt werden. Dies liegt an der Diskretisierung der Schüttanordnung durch die geometrische Betrachtung von Analysekammer und Beads. Optimale Ergebnisse sind zu erreichen, wenn die Breite ein gerades ganzzahliges Vielfaches von r_{Bead} ist. Beträgt die Breite a der Analysekammer ein ungerades ganzzahliges Vielfaches von r_{Bead}, kann sich nur im Optimalfall eine hexagonale Wohlordnung über die gesamte Kammer hinweg einstellen. Dies ist im Realfall unwahrscheinlich, da die Lage der Lücke statistisch verteilt ist. Je nach Lage der Lücke bilden sich die aus Abbildung 5.1 bekannten Muster. Gemeinsam haben diese Schüttungen der Figuren III bis VII einen uneinheitlichen Abschluß.

Die Länge b der Analysekammer muss an r_{Bead} angepasst sein. Voraussetzung dafür ist, dass Breite a der Analysekammer auf r_{Bead} angepasst ist. Durch die uneinheitliche Abschlusskante, die durch die entstehende Lücke verursacht wird, erübrigt sich eine Anpassung der Seitenlänge b. Die Größe bzw. Breite der freibleibenden Fläche der Analysekammer hat einen direkten Einfluss auf die Lagestabilität der Schüttung. Lücken, die um r_{Bead} variieren, ergeben ähnliche Muster wie Lücken mit genauem r_{Bead}. Dies gilt mit Ausnahme des Falles, dass sich die Lücke am Seitenrand befindet.

An welcher Stelle sich neu in die Analysekammer eintreffende Beads anlagern, ist von der Strömungsrichtung abhängig. Diese wird durch Geometrie, Lage und Anzahl der Auslaufzonen, Druck und hydraulischen Widerstand beeinflusst.

5.1.1.2 Berechnung der Seitenlängen der orthogonalen rechteckigen Analysekammer

Zur Erzielung einer stabilen Schüttung muss die Breite a der Analysekammer ein gerades, ganzzahliges Vielfaches von r_{Bead} sein.

$$\text{Kammerseite a} = n r_{Bead} \qquad n \in N[2, 4, 6, \ldots] \tag{5.1}$$

Die Breite a der Analysekammer ist definiert zu:

$$\text{Anzahl (\#) Beads auf Kammerseite a} = \#a = \frac{a}{2 r_{Bead}} \tag{5.2}$$

Bei Ausbildung einer hexagonal strukturierten Schüttung treten im Sonderfall der quadratischen Analysekammer (a = b) uneinheitliche Abschlüsse auf. Die optimale Länge b der Analysekammer ist kein ganzzahliges Vielfaches von r_{Bead}, sondern

ergibt sich aus:

$$\text{Kammerseite b} = 4(r_{Bead} + \sqrt{3} r_{Bead} \text{n}) \qquad (n \in N) \tag{5.3}$$

Die Anzahl der Beads, verteilt auf die Länge b der Analysekammer bei einer hexagonalen Anordnung, ergibt sich aus Gleichung 5.4

$$\text{Anzahl Beads auf Kammerseite b} = \#\text{b} = \frac{(b - 2r_B)}{(\sqrt{3} r_B) + 1} \tag{5.4}$$

Die theoretisch fassbare Gesamtzahl der Beads in einer Analysekammer berechnet sich aus

$$\text{Gesamtanzahl (\#) Beads} = \frac{\#\text{b}}{2}[\#\text{a}] + \frac{\#\text{b}}{2}[\#\text{a-1}] \tag{5.5}$$

5.1.2 Konzept der verkippten rechteckigen Analysekammer, Monolage

Bei dem Konzept der verkippten rechteckigen Analysekammer wird davon ausgegangen, dass die Befüllung in der Spitze der Analysekammer beginnt und sich ausgehend von dieser Spitze aufbaut. Als Sonderfall der rechteckigen Analysekammer wird die quadratische Form der Analysekammer diskutiert. Bei der verkippten quadratischen Analysekammer wird die Schüttung aufgrund der geometrischen Zwangslage einfach kubisch (ek) aufgebaut. Folgende Betrachtungen gehen erneut von einer Monolage aus:

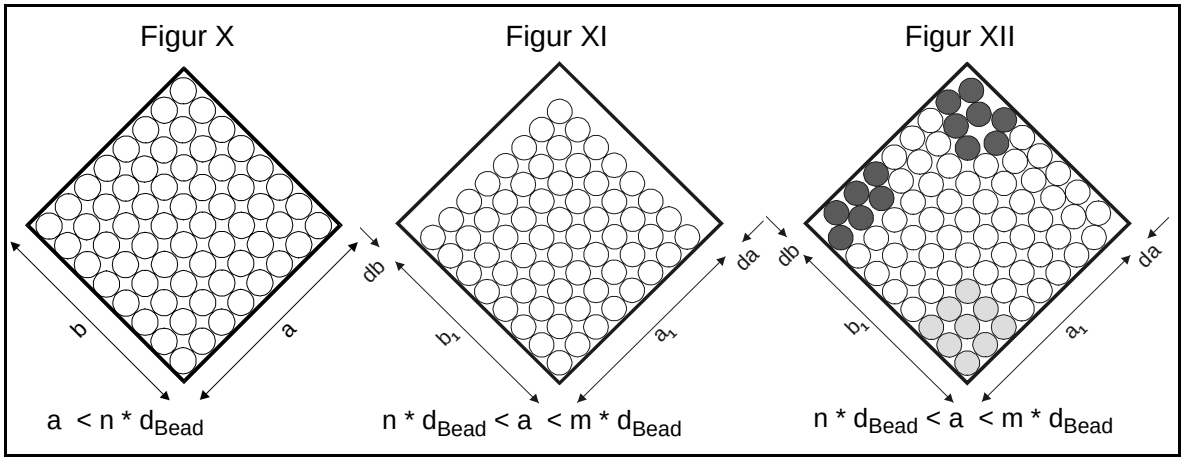


Abbildung 5.2: Wohlgeordnete einfach kubische (ek) Schüttung:
Figur X: Breite a und Länge b = ganzes Vielfaches von d_{Bead};
Figur XI: Breite a und Länge b <> ganzes Vielfaches von d_{Bead}; die Lücken *da* und *db* befinden sich an den beiden Seiten; Mitte: einfach kubische;
Figur XII: Breite a und Länge b <> ganzes Vielfaches von d_{Bead} variierender Periodizität

Figur X (Abbildung 5.2):

Die Seitenlängen a und b der Analysekammer sind identisch. Sie betragen ein gerades, ganzzahliges Vielfaches von d_{Bead}. Es baut sich eine einfach kubische Wohlordnung über die ganze Analysekammer hinweg auf. Die Packungsdichte ist bei der einfach kubischen Anordnung geringer als bei der hexagonalen Wohlordnung.

Figur XI (Abbildung 5.2)

Die Breite a der Analysekammer entspricht nicht dem ganzzahligen Vielfachen von d_{Bead}. Die Schüttung ist idealisiert über die gesamte Analysekammer wohlgeordnet. Die Größe der Lücken *da* und *db* ist identisch und abhängig vom Verhältnis von Breite und Länge zu d_{Bead}. Allerdings wirkt eine große Lücke der Lagestabilität entgegen. Die Wahrscheinlichkeit, dass sich die Lücken an den Seitenrändern befinden, ist sehr hoch. Die Gefahr von Fehlstellen, die bei nicht am Rand auftretenden Lücken entstehen, ist bei dieser Form geringer.

Figur XII (Abbildung 5.2):

Die Seitenlängen a und b der Analysekammer entsprechen denen der Figur XI. Die Lücken befinden sich ebenfalls am Seitenrand. Ein großer Teil der Analysekammer ist wohlgeordnet (unterer Bereich, hell). Am Seitenrand treten aber auch nicht-wohlgeordnete Bereiche (dunkelgrau: ansatzweise hexagonal; hellgrau: absolut ungeordnet) auf. Dies ist wiederum von der Strömungsrichtung der neu in die Kammer eintreffenden Beads abhängig.

5.1.2.1 Diskussion der verkippten rechteckigen Analysekammer

Die Breite a und Länge b der Analysekammer müssen im richtigen Verhältnis zu d_{Bead} stehen. Aufgrund der sich ausbildenden einfach kubischen Anordnung ist dabei a = b, das heißt es ergibt sich eine quadratische Analysekammer. Die Entstehungswahrscheinlichkeit von ungeordneten Schüttungen über die Gesamtfläche der Analysekammer ist aufgrund der Randlage der Lücken nicht sehr hoch. Die Entstehung von ungeordneten Schüttungen und Versetzungslinien an den oberen Rändern ist wahrscheinlich. Bei dieser Kammerform sollte der 90°-Winkel genau eingehalten werden.

5.1.2.2 Berechnung der Seitenlängen der verkippten rechteckigen Analysekammer

Aufgrund der einfach kubischen Struktur wird die Seitenlänge b genauso wie die Seitenlänge a berechnet.

$$\text{Kammerseite b} = \text{Kammerseite a} = \text{n}d_{Bead} \tag{5.6}$$

$$\text{Anzahl Beads auf Kammerseite a} = \#a = \frac{a}{2d_{Bead}} \tag{5.7}$$

$$\text{Anzahl Beads auf Kammerseite b} = \#b = \frac{b}{2d_{Bead}} \tag{5.8}$$

$$\text{Gesamtanzahl der Beads} = \#a\#b \tag{5.9}$$

Die Grundfläche der Analysekammer wird im realen Versuch durch die Einlaufzone, welche sich an der oberen Ecke der Analysekammer befindet, um einen gewissen Teil reduziert. Diese Fläche ist von der Breite der Einlaufzone abhängig.

5.1.3 Bewertung der Kammerformen

Die Ergebnisse der vorangegangenen theoretischen Überlegungen sind in Abbildung 5.3 zusammengestellt. Hierbei sind die in der Realität auftretenden Einflüsse von Toleranzen, die zu möglichen Defekten führen, mitberücksichtigt.

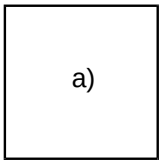
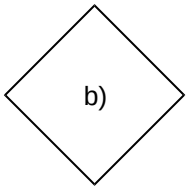
	 a)		 b)	
	Enge Toleranz-fenster	**Größere Ferti-gungsto-leranzen**	**Enge Toleranz-fenster**	**Größere Ferti-gungsto-leranzen**
2D	++	**o**	+	+

Abbildung 5.3: Kammerformen im Vergleich: Empfindlichkeit gegenüber Fertigungstoleranzen
theoretische Wahrscheinlichkeit einer flächenhaften Wohlordnung:
++: sehr hoch ; +: hoch; o: gering; -: sehr gering

Durch Fertigungstoleranzen entstehen Lücken. Diese haben den gleichen Einfluss wie die Lücken, die durch freie Geometriewahl entstehen. Abmessungen der Analysekammer, die oberhalb des ganzen Vielfachen von d_{Bead} liegen, haben einen geringeren Einfluss als Abmessungen unterhalb von d_{Bead}. Je nach Form der Analysekammer werden diese meist kleinen Abweichungen abgefangen. Ebenso haben Winkelabweichungen sowie der Eckenradius Einfluss auf die Schüttung.

Ausgehend von einer Monolage, wird bei der orthogonalen rechteckigen Analyse-

kammer unter idealisierten Bedingungen eine höhere Packungsdichte sowie eine höhere Stabilität erzielt. Die verkippte rechteckige Analysekammer führt ebenso zu einer periodischen Schüttung, diese weist aber im angenommenen „einfach kubischen“ Fall eine geringere Packungsdichte auf. Die verkippte rechteckige Analysekammer ist allerdings weniger sensitiv gegenüber Fertigungstoleranzen einzuschätzen als die orthogonale rechteckige Analysekammer. Desweiteren ist zu beachten, dass unabhängig vom Konzept der Analysekammer, die Seitenlänge b der Analysekammer an r_{Bead} angepasst sein muss.

5.1.4 Konzeption eines mikrofluidischen Probenträgers

Aufgrund der oben dargelegten Betrachtung wird für die experimentelle Bestimmung der Befüllung ein mikrofluidischer Probenträger entwickelt. Es wird das Konzept der orthogonalen rechteckigen Analysekammer zugrundegelegt. Die Fläche der Analysekammer orientiert sich an der Fläche eines 2/3" CCD-Chips, um den Einsatz teurer Spezialoptiken zu vermeiden. Die Fläche eines 2/3" CCD-Chips beträgt 6,8mm*8,8mm**,** wobei die aktive Fläche je nach Hersteller etwas geringere Abmessungen aufweist. Damit wird eine Seitenbreite a der Analysekammer von ca. 6mm festgelegt. Die genaue Spezifikation ist abhängig vom Beaddurchmesser d_{Bead}.

Beadmaterialien in der medizinischen Diagnostik sind entweder Glas oder Kunststoff. Für die experimentelle Verifikation des zu erstellenden Modells ist es wichtig, Beads mit geringer Größenvarianz einzusetzen. Der Beaddurchmesser leitet sich aus der Grundfläche der Analysekammer sowie der Forderung nach einigen 100 bis einigen 1000 Beads, die zeitgleich analysiert werden sollen, ab. Zur Orientierung wird von ca. 1000 Beads ausgegangen. Daraus resultiert ein Beaddurchmesser (ausgehend von einem erzielbaren Füllgrad von 90 %) zwischen 150µm und 200µm. Als Material wird PMMA gewählt um die optische Transparenz, welche für die Auswertung erforderlich ist, zu gewährleisten. Der Hersteller Microparts GmbH liefert Beads aus PMMA mit einem Beaddurchmesser d_{Bead} von 176µm bei einer Größenvarianz kleiner 5% und einer Dichte von 1,18g/cm^3.

Ausgehend von 176µm Beaddurchmesser und bei einer Kantenlänge von a=6mm finden 34 Beads in einer Reihe Platz. Um Raum für die geforderten 1000 Beads in der Analysekammer zu haben, müssen nach Gleichung 5.2, 29 Beadreihen auf der Seitenlänge b der Analysekammer Platz finden. Da der Einfluss der Einlaufzone auf die Ausbildung der Ordnung in der Schüttung nicht bekannt ist, soll in der Analysekammer Platz für 10 weitere Beadreihen sein. Mit 39 Beadreihen ergibt sich nach Gleichung 5.4 eine Seitenlänge b mit ebenfalls 6 mm. Um die Ausbildung einer Monolage zu erreichen, wird die Höhe der Analysekammer mit 200µm gewählt.

Aufgrund der obigen geometrischen Festlegungen wird ein Konzept des mikrofluidischen Probenträgers erstellt. Abbildung 5.4 zeigt die Geometrie des mikrofluidischen Probenträgers.

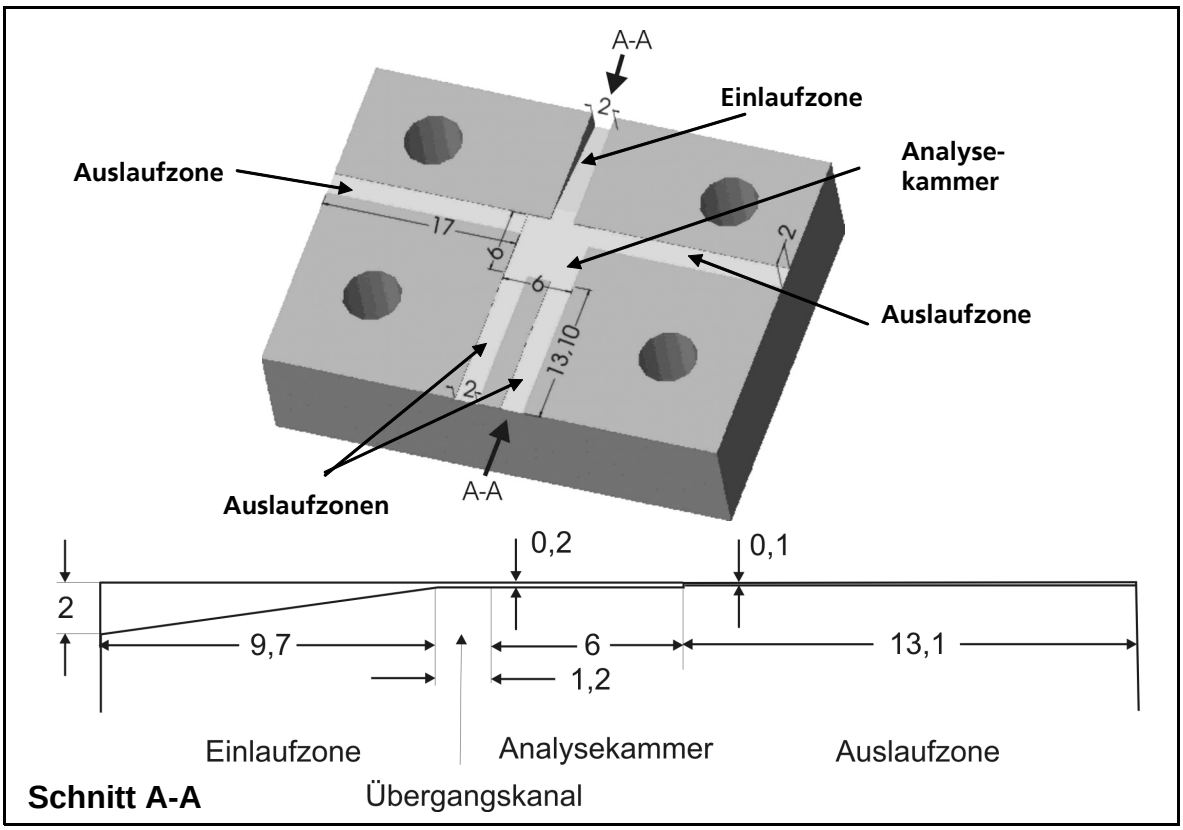


Abbildung 5.4: Schematische Darstellung des mikrofluidischen Probenträgers zur Verifizierung des Gesamtsystems

Zusätzlich zu der Analysekammer weist der mikrofluidische Probenträger eine Einlaufzone und 4 Auslaufzonen auf. Die Einlaufzone stellt die Schnittstelle zur "Makrowelt" dar. Die Festlegung des Eingangsquerschnitts erfolgt auf Basis des Durchmessers von 2mm einer handelsüblichen Spritze oder einer Pipette. Um einen guten Abtransport der Flüssigkeiten zu gewährleisten und damit sich die Strömung der Beadsuspension möglichst breit auffächert, werden zwei Auslaufzonen (1 und 2) links bzw. rechts der Einlaufzone angebracht. Zwei weitere Auslaufzonen (3 und 4) befinden sich in den Ecken der Breite a gegenüber der Einlaufzone. Hiermit soll die Ausbildung der hexagonalen Struktur der Schüttung unterstützt werden. Die Auslaufzonen weisen eine Höhe von 100µm auf und bilden so die geforderte Barriere, um die Beads in der Analysekammer zu halten. Bei gleicher Breite der Ausläufe bestimmt sich der hydraulische Widerstand lediglich über die Länge der Kanäle. Dabei wird der hydraulische Widerstand der beiden Ausläufe, welche der Einlaufzone gegenüber liegen, geringer gewählt als der der oberen Ausläufe.

Dadurch wird das Ziel verfolgt, eine Hauptströmungsrichtung festzulegen. Das Verhältnis der hydraulischen Widerstände von Auslaufzone 1/2 zu Auslaufzone 3/4 wird für den mikrofluidischen Probenträger mit 1,3 gewählt.

Der mikrofluidische Probenträger besteht aus einer Deckel- und einer Bodenplatte. Die geometrischen Strukturen sind dabei ausschließlich in die Bodenplatte eingebracht. Auf diese Weise erfolgt die Fertigung der Bodenplatte in einer Aufspannung. Eine Erzielung der für das Konzept der orthogonalen rechteckigen Analysekammer notwendigen hohen Fertigungsgenauigkeit (siehe Kapitel 5.1.3) ist damit gewährleistet.

Desweiteren wird an die Seite der Einlaufzone ein Adapter montiert. Dieser dient dazu, die fluidische Verbindung zu anderen Komponenten herzustellen und ein schnelles Montieren des mikrofluidischen Probenträgers auf dem Versuchsstand zu ermöglichen.

5.1.5 Einfluss der hydraulischen Widerstände der einzelnen Komponenten

Abbildung 5.5 zeigt die Beziehung zwischen den einzelnen hydraulischen Widerständen der Einlaufzone ($R_{hd(in)}$), Analysekammer ($R_{hd(ch)}$) und den Auslaufzonen ($R_{hd(out\ 1\text{-}4)}$).

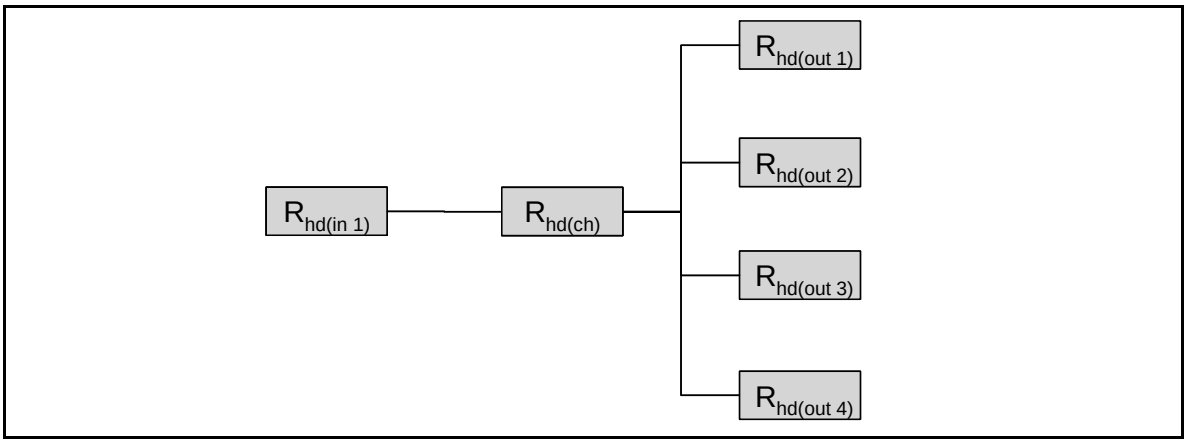


Abbildung 5.5: Hydraulische Widerstände des mikrofluidischen Probenträgers

Für die Strömung innerhalb der Analysekammer ist das Verhältnis der hydraulischen Widerstände der einzelnen Komponenten entscheidend. Speziell das Verhältnis der Widerstände der Auslaufzonen zueinander beeinflusst die Strömungsrichtung und damit den Aufbau der Schüttung der Beads.

Die Einlaufzone der Analysekammer hat die in Abbildung 5.6 dargestellte geometrische Gestalt.

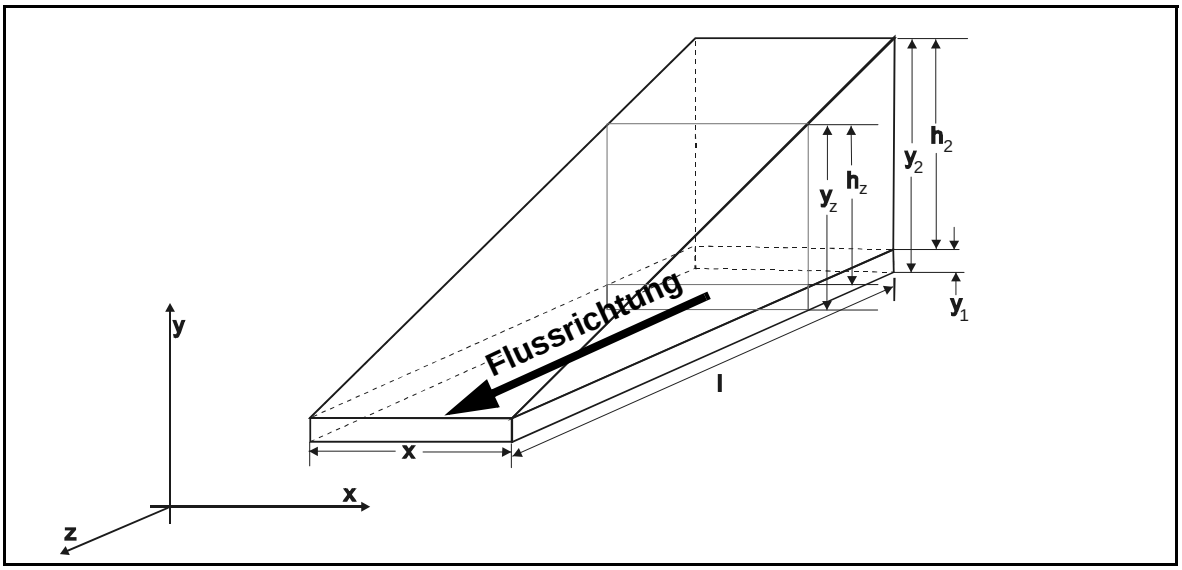


Abbildung 5.6: Schema der Einlaufzone zur Analysekammer

Betrachtet man die Einlaufzone als hintereinandergeschaltete, infinitesimal kleine Rechteckkanäle, so ergibt sich folgendes Integral:

$$R_{hd(in)} = \int_0^l C_{nc}(z)\frac{\eta}{\rho A(z)^2}dz \quad . \tag{5.10}$$

Der C_{nc} -Wert wird über die Gleichung 3.16 hergeleitet. Damit ergibt sich folgender hydraulische Widerstand der Einlaufzone:

$$R_{hd(in)} = 3{,}8 \cdot 10^5 \frac{Pas}{kg} \tag{5.11}$$

Die leere Analysekammer wird in Näherung als Rechteckkanal betrachtet, deren hydraulischer Widerstand sich nach Gleichung 3.16 berechnet:

$$R_{hd(ch)} = 1{,}1 \cdot 10^6 \frac{Pas}{kg} \tag{5.12}$$

Die Widerstände der Auslaufzonen stellen ebenfalls Rechteckkanäle dar und können nach Gleichung 3.16 berechnet werden.

Der Gesamtwiderstand folgt nach Gleichung 3.17 zu:

$$R_{hd(ges)} = R_{hd(in1)} + R_{hd(ch)} + \frac{R_{hd(out1)} R_{hd(out2)}}{2R_{hd(out1)} + 2R_{hd(out2)}} \tag{5.13}$$

und damit:

$$R_{hd(ges)} = 1{,}8 \cdot 10^{7} \frac{Pas}{kg} \tag{5.14}$$

Analysiert man den Druckabfall der einzelnen Bereiche gegenüber dem Befülldruck, so zeigt sich die große Bedeutung der hydraulischen Widerstände der Auslaufzonen:

	Druckabfall des Befülldrucks
Einlaufzone	2%
Übergang zur Analysekammer	4%
Analysekammer	6%
Ausläufe gesamt	88%

Abbildung 5.7: Druckabfall der einzelnen Zonen des mikrofluidischen Probenträgers gegenüber dem Befülldruck

$R_{hd(ch)}$ ist in Abbildung 5.7 lediglich mit dem Widerstand resultierend aus der Geometrie berücksichtigt. Der Widerstand der durch die Aggregation der Beads entsteht, kann zu diesem Zeitpunkt nicht bestimmt werden, ist aber von großem Einfluss auf den Gesamtwiderstand.

5.2 Voruntersuchungen zur Abbildung der Beadströmung innerhalb des mikrofluidischen Probenträgers in einem Modell

5.2.1 Nachweis der laminaren Strömung innerhalb der Analysekammer

Eine Randbedingung für die nummerische Simulation von mikrofluidischen Strömungsvorgängen ist eine laminare Strömung innerhalb des mikrofluidischen Probenträgers. Die in Abbildung 5.4 dargestellte Geometrie stellt eine Analysekammer mit rechteckigem Querschnitt dar.

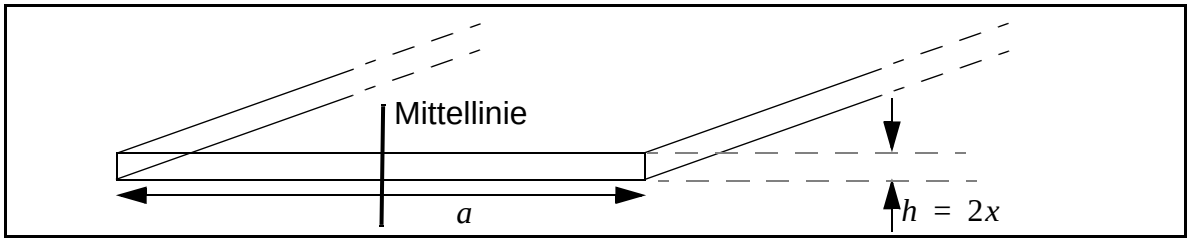


Abbildung 5.8: Querschnitt der Analysekammer mit a= 6mm und h= 0,2mm

Um das Strömungsprofil in der Mitte der Analysekammer entlang der Mittellinie in Abbildung 5.8 zu bestimmen, kann der Einfluss der Seitenwände bei hinreichend großer Breite a unberücksichtigt bleiben. Daraus folgt die Betrachtung der Strömung an dieser Stelle als Spaltströmung /Duc_04/. Für die Strömung durch einen Spalt gilt nach /Duc_04/ die Formel für die Berechnung des Strömungsprofils:

$$v(x) = \frac{\Delta p}{2\eta l}(x^2 - X^2) \tag{5.15}$$

und somit:

$$v_{max} = \frac{\Delta p}{2\eta l}x^2 \tag{5.16}$$

Die Maximalgeschwindigkeit in einem quadratischen Kanal berechnet sich dagegen zu

$$v_{max} = \frac{\Delta p}{4\eta l}x^2 \tag{5.17}$$

Ab welcher Breite a der Einfluss durch die Seitenwände zu vernachlässigen ist, wird über Gleichung 5.16 und Gleichung 5.17 hergeleitet. Aus diesen geht hervor, dass sich bei Betrachtung einer Spaltströmung eine doppelt so große Maximalgeschwindigkeit ergibt, als bei einem Rohr (vergl. Kapitel 3.4). Ausgehend von Gleichung 3.10 und Gleichung 3.11 wird nun das Rohr mit dem quadratischen Querschnitt zu einem Kanal, wie er in Abbildung 5.8 dargestellt ist, erweitert. Mit $d^2 = dd = ah$ und $h = 2x$ ergibt sich mit Gleichung 5.17:

$$v_{max} = \frac{\Delta p}{4\eta l}\frac{ah}{4} = \frac{\Delta p}{4\eta l}\frac{ax}{2} \tag{5.18}$$

Die Gültigkeitsvorschrift für Gleichung 5.18 lautet:

$$\frac{\Delta p}{4\eta l}\frac{ax}{2} \leq \frac{\Delta p}{2\eta l}x^2 \tag{5.19}$$

Diese Ungleichung ist für $b \leq 4x$ erfüllt.

Daraus folgt, bei Kanälen, deren Breite mindestens das Doppelte der Kanalhöhe beträgt, wird der Einfluss der Seitenwände bei der Berechnung der Maximalgeschwindigkeit nicht berücksichtigt.

Als weiteres Kriterium für eine laminare Strömung wird die Reynoldszahl an der Stelle mit der höchsten Strömungsgeschwindigkeit überprüft. Aufgrund der Geometrie treten im Übergang von der Einlaufzone zur Analysekammer die größten Strö-

mungsgeschwindigkeiten auf. Die Maße für den Übergangskanal (Abbildung 5.4) sind wie folgt:
Kanallänge der Einlaufzone: 1,2mm, Kanalbreite: 2,0mm und Kanalhöhe: 0,2mm. Bei Anliegen eines Gesamtdrucks von 60.000Pa an die Analysekammer findet ein Druckabfall von 4% an dem Übergang statt (Gleichung 5.7). Dies entspricht einem Druckgradienten von 2400Pa. Auf Basis des Druckgradienten und den geometrischen Abmessungen ergibt sich nach Gleichung 3.12 eine Maximalgeschwindigkeit an dieser Stelle von $v_{max} = 10\mathrm{m/s}$. Aus Gleichung 3.3 ergibt sich damit eine Reynoldszahl von 2000.
Daraus folgt, dass bei Drücken von bis zu 60.000Pa eine laminare Strömung im mikrofluidischen Probenträger vorliegt.

5.2.2 Entwicklung eines Modells für die Einphasensimulation

Auf Basis der Leistungsmerkmale, beschrieben in Kapitel 4.2.6, wird FIDAP (Fluent inc.) in Kombination mit GAMBIT (Fluent inc.) als Präprozessor zur Erstellung der Simulationsgeometrien für die Durchführung der Strömungssimulationen ausgewählt.

Die in Kapitel 5.1 angestellten geometrischen Betrachtungen der Analysekammer (Abbildung 5.4) sind die Grundlage für die Erstellung der Simulationsgeometrie durch GAMBIT (Abbildung 5.9). Dazu wird die Geometrie des mikrofluidischen Probenträgers in ein dreidimensionales Simulationsgitter übertragen, welches die fluidischen Bereiche abbildet.

Um große Gradienten der relevanten fluidischen Größen (Geschwindigkeit und Druck) zu vermeiden, wird in der Analysekammer ein feinmaschiges Gitter von 50µm in den Randbereichen und 100µm in der Mitte gewählt. In der schrägen Einlaufzone ist zu berücksichtigen, dass die Zone zum Ende hin flach wird und an dieser Stelle mit den Auslaufzonen vergleichbar ist.

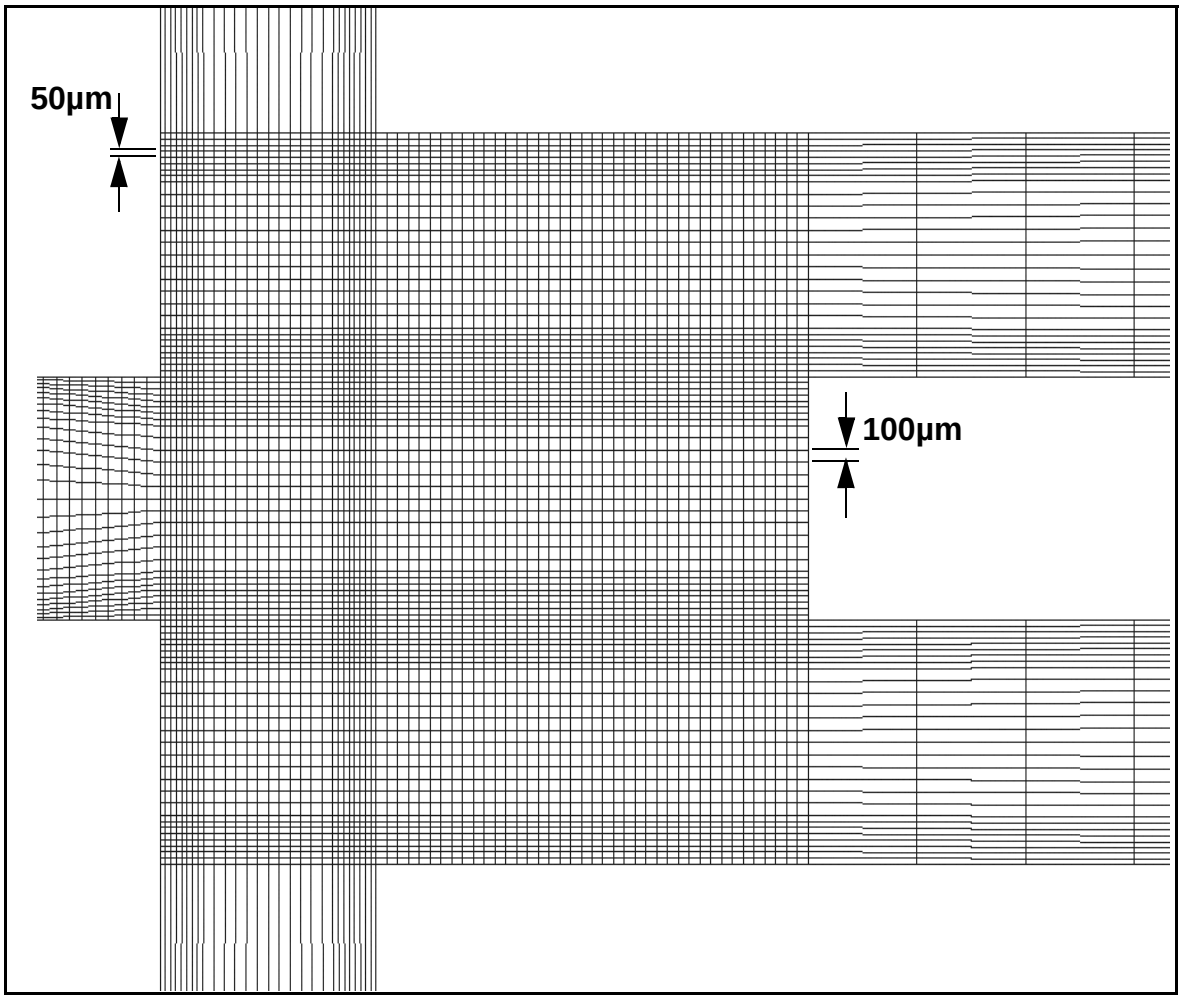


Abbildung 5.9: Diskretisierung des Modells der Analysekammer

Als Randbedingungen für die Simulation wird angenommen, dass es sich um eine stationäre, laminare Strömung einer inkompressiblen, newtonschen Flüssigkeit (d. h. die Viskosität ist unabhängig von der Geschwindigkeit) handelt. Thermische Effekte (z. B. Reibungswärmeverluste) werden nicht berücksichtigt. Für die Kammerwände wird eine „no-slip“-Bedingung (siehe Kapitel 4.2.2) festgelegt, was in diesem Fall bedeutet, dass das Fluid am Rand eine Geschwindigkeit von $v_{max} = 0\,\mathrm{m/s}$ hat. In der Einphasensimulation wird ein Druckgradient zwischen Einlaufzone und Auslaufzone von 10.000Pa angelegt. Abbildung 5.10 stellt die Druckverhältnisse sowie Geschwindigkeitsverhältnisse zweier unterschiedlicher Höhen z des mikrofluidischen Probenträgers dar.

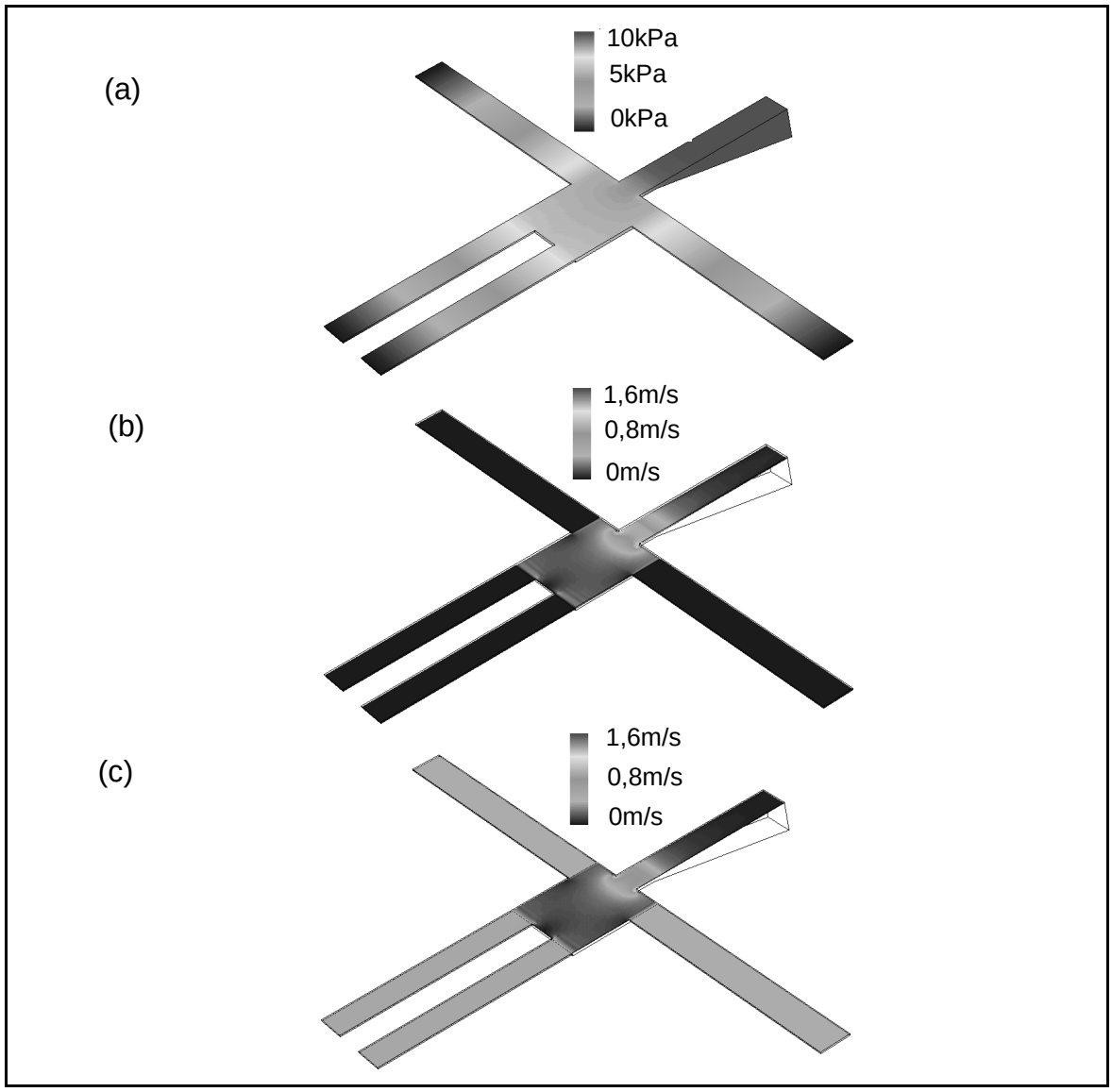


Abbildung 5.10: (a) Druckverlauf in der Kammer,
(b) Geschwindigkeitsplot auf halber Höhe $z_{0,5Ak}$ der Analysekammer,
(c) Geschwindigkeitsplot auf halber Auslaufzonenhöhe $z_{0,5Alk}$

Analysiert man Abbildung 5.10 (a) bezüglich des Druckverlaufs an den einzelnen Kammerabschnitten gegenüber dem Befülldruck, so ist durch einen Vergleich mit den analytischen Werten aus Abbildung 5.7 erkennbar, dass die Ergebnisse der Simulation mit den analytischen Werten gut übereinstimmen. Auch die sich ergebenden maximalen Geschwindigkeiten werden durch analytische Werte nachvollzogen, so dass davon auszugehen ist, dass diese Simulation ein realistisches Ergebnis liefert.

5.2.3 Entwicklung eines Modells für die Zweiphasensimulation

5.2.3.1 Euler-Euler-Verfahren

Für die nummerische Simulation von Zweiphasenströmungen stehen mehrere Verfahren zur Verfügung (Kapitel 4). Beim Euler-Euler-Verfahren werden die Partikel zwar räumlich ausgedehnt abgebildet, die Simulation muss allerdings zeitlich aufgelöst erfolgen. Bei dieser transienten Analyse muss angegeben werden, welche Zeitschritte in der Simulation durchgeführt werden sollen. Werden die Zeitschritte zu groß gewählt, konvergiert die Simulation nicht, werden sie zu klein gewählt, besteht die Möglichkeit, dass sich der Tropfen in der betrachteten Zeitspanne kaum bewegt. Abbildung 5.11 zeigt eine Simulation in welcher ein fluidischer Partikel durch einen geraden zweidimensionalen Kanal bewegt wird. Aufgrund des aufwändigen Setups bei der Simulation, werden für die Berechnung eines einzigen Partikels auf eine Länge von 10mm bereits mehrere Stunden benötigt.

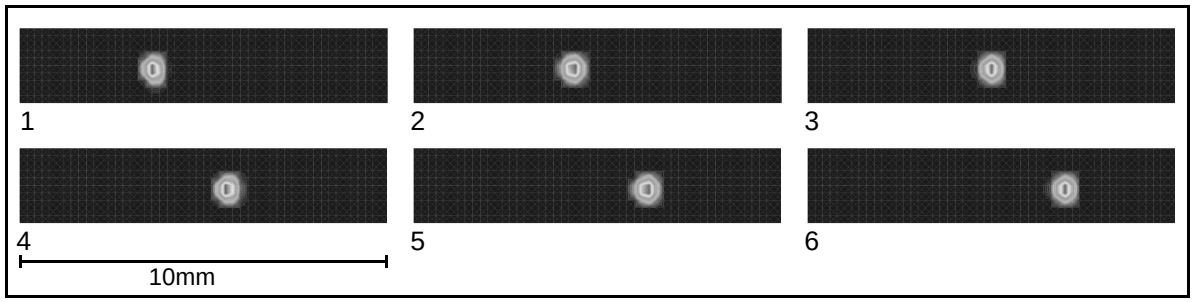


Abbildung 5.11: Sequenz der Simulation (1-6) eines ausgedehnten Partikels in einem geraden Kanal mit dem Volume-of-Fluid-Modell

5.2.3.2 Euler-Lagrange-Verfahren

Bei Anwendung des Euler-Lagrange-Verfahrens werden die Partikel als 0-dimensionale, punktförmige Masse-, Wärme- und Impulsquellen betrachtet. Eine räumlich ausgedehnte Simulation erfolgt derzeit nicht.

Das Euler-Lagrange-Verfahren erlaubt jedoch die Darstellung der Trajektorien der Partikel, da die Impulsübertragung vom Fluid auf die Partikel berechnet werden kann. So können auch Trägheitskräfte berücksichtigt werden, welche auftreten, wenn die Partikel sich auf Kurvenbahnen bewegen. Dies ist insofern bedeutsam, als sich die Auslaufzonen des mikrofluidischen Probenträgers gegenüber der Einlaufzone sowie seitlich davon befinden und demnach gekrümmte Bahnen der Beads bei der Befüllung zu erwarten sind.

Abbildung 5.12 verdeutlicht die Berechnung der Trajektorien unter Einbeziehung der Trägheitskräfte. Links ist eine Simulation mit leichten PMMA-Beads und rechts mit

Blei-Beads in einem druckgetriebenen Flüssigkeitsstrom (Wasser) dargestellt. Der Lateralversatz der Blei-Beads ist aufgrund der Trägheitskräfte deutlich höher.

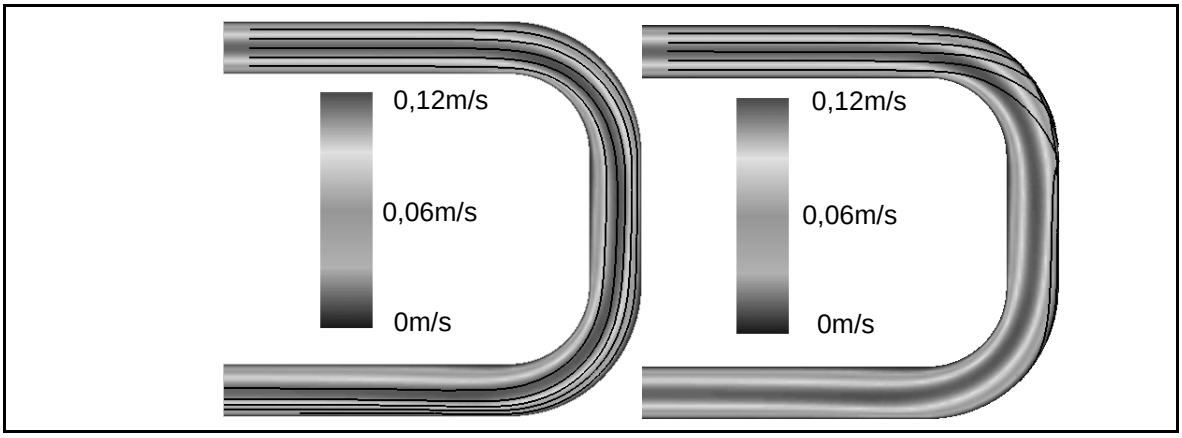


Abbildung 5.12: Zentrifugaler Lateralversatz von PMMA-Beads (links) und von Blei-Beads (rechts) in einem gebogenen Kanal

Bei Partikelaggregationen treffen die Partikel auf geometrische Barrieren innerhalb der Analysekammer. In Abbildung 5.13 ist dargestellt, wie sich die Partikel in der Simulation basierend auf dem Euler-Lagrange-Verfahren verhalten, wenn sie auf eine Barriere treffen.

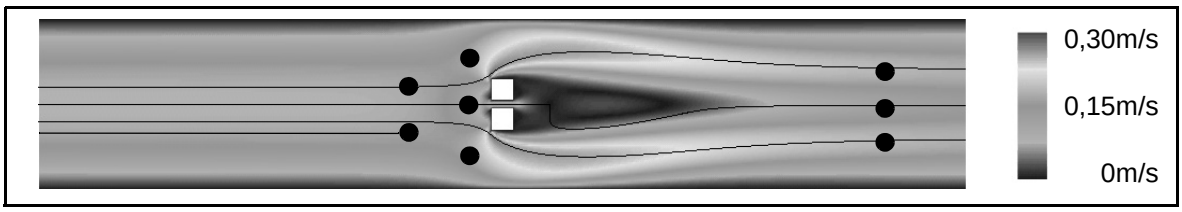


Abbildung 5.13: Zweidimensionaler Kanal mit einem Spalt von 100µm (geometrischen Barriere). Die simulierten Partikel (deren Trajektorien schwarz dargestellt sind) haben einen Durchmesser von 176µm

Das Durchdringen eines Spaltes von 100µm als geometrischer Barriere bei einer Beadgröße von 176µm, läßt zunächst einen Fehler in der Simulation vermuten, zumal der Partikel nach der Barriere von seinem Weg abgelenkt wird. Der Grund dafür liegt darin, dass Partikel bei Anwendung des Euler-Lagrange-Verfahrens nicht ausgedehnt simuliert, sondern als punktförmige Masse-, Wärme- und Impulsquellen betrachtet werden. Die Ablenkung des Partikels ist darauf zurückzuführen, dass das Partikel hinter der Barriere in Bereiche ruhenden Fluides gelangt und dort durch nummerische Abweichungen in der Geschwindigkeit eine Veränderung in seiner Bahnrichtung bekommt. Dieser Sachverhalt verdeutlicht, dass dieses Verfahren für die Aggregation von Beads an Engstellen und damit für das Befüllen einer Analysekammer nicht geeignet ist.

5.3 Entwicklung eines Konzeptes zur Integration der Aggregation der Beads in der Analysekammer in das Modell zur Zweiphasensimulation

Wie aus Kapitel 3.3 hervorgeht, ist der hydraulische Widerstand zentrale Größe zur Berechnung der fluidischen Vorgänge in der Analysekammer. Die Widerstände, die sich auf die geometrische Auslegung der Einlaufzone, der Analysekammergeometrie, sowie der Ausläufe beziehen, können analytisch hergeleitet werden.

Die Integration des sich während des Befüllvorganges ändernden hydraulischen Widerstandes ist dagegen nicht herleitbar. Das Euler-Lagrange-Verfahren bietet die Möglichkeit, die Trajektorien der Beads darzustellen, kann aber keine Aggregation von Partikeln berechnen, da die Partikel als punktförmige Massequellen ohne räumliche Ausdehnung simuliert werden.

Das Euler-Euler-Verfahren bildet Partikel ausgedehnt ab, benötigt aber zu deren Darstellung sehr hohe Rechenleistungen und ist damit für eine Simulation einer grossen Anzahl von Beads ungeeignet.

Dagegen bietet der Ansatz zur Betrachtung von Strömungsvorgängen durch ein poröses Medium nach Darcy die Möglichkeit, den hydraulischen Widerstand, resultierend aus den Beadaggregationen, dynamisch zu berechnen. Eine Möglichkeit die Trajektorien der einzelnen Beads darzustellen, besteht hier allerdings nicht.

Verfahren / Bewertungskriterium	Euler - Euler	Euler - Lagrange	Poröse Medien
Betrachtung	Betrachtung der Strömungsgrößen an einem festen Ort	Teilchenbetrachtung	Beadaggregation als poröses Material
Trajektorien darstellbar	Ja	Ja	Nein
Darstellung der Beads	Räumliche Ausdehung der Partikel simulierbar	Beads als 0-dimensionale Punktequelle	Ja, Beadaggregation als poröses Material
Hydrodynamischer Widerstand aufgrund der Aggregation der Beads	ja	nein	ja
Rechneraufwand	Sehr groß; Phasen werden als Fluid dargestellt	hoch	mittel
Eignung zur Simulation einer großen Anzahl von Beads	Nein	Ja	Keine Abbildung der Beads in der Suspension

Abbildung 5.14: Bewertung der unterschiedlichen Simulationsmodelle bzgl. der Eignung zur Modellbildung für die Analysekammer

In einer Kombination des Euler-Lagrange-Verfahrens mit dem Ansatz der Betrachtung der Beadaggregation als poröses Medium werden alle relevanten Größen für die Befüllung der Analysekammer abbildbar. In dem Modell werden diejenigen Stellen mit einer Zweiphasensimulation berechnet, in denen die Partikel in der Analysekammer an den Auslaufzonen zum Stillstand kommen. Dazu werden die Trajektorien der Beads benötigt. Diese werden über das Euler-Lagrange-Verfahren bestimmt. Diese Stellen werden für nachfolgende Simulationen als poröses Medium betrachtet und damit der Einfluss der aggregierten Beads auf den hydraulischen Widerstand der Analysekammer berücksichtigt. Um den geometrischen Ort des porösen Mediums zu berechnen, werden in die Analysekammer Transformationszonen integriert, welche in den Randbereichen der Analysekammer liegen (hell in Abbildung 5.15a). Diese Transformationszonen werden bei der Simulation überwacht. An der Koordinate, an der die Trajektorie die Transformationszone schneidet (Abbildung 5.15b), wird ein Bereich zuvor definierter Größe (entspricht der Größe der Beads) als Transformationszelle (Abbildung 5.12, Einzelheit 1) bestimmt.

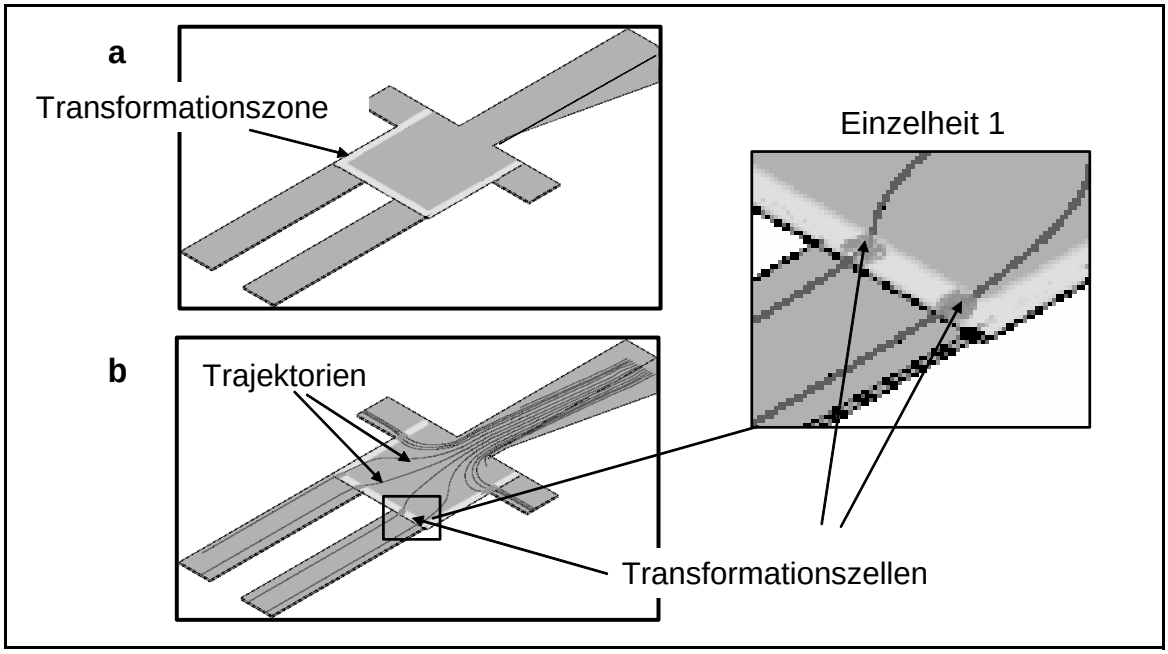


Abbildung 5.15: Modell zur Simulation der Aggregation von Beads als poröses Medium
Start: Kanal, in dem bereits poröses Medium ist.
a: Zweiphasensimulation, wobei der helle Bereich die möglichen Aggregationsorte der Partikel kennzeichnet und auf den Durchfluss von Partikeln überwacht werden muss
b: Zelle ermitteln, durch die in der Simulation ein Bead geflossen ist

Diese Transformationszelle wird in einem nächsten Schritt in ein poröses Medium umgewandelt (Abbildung 5.16). Danach wird der Verlauf der Transformationszone neu definiert.

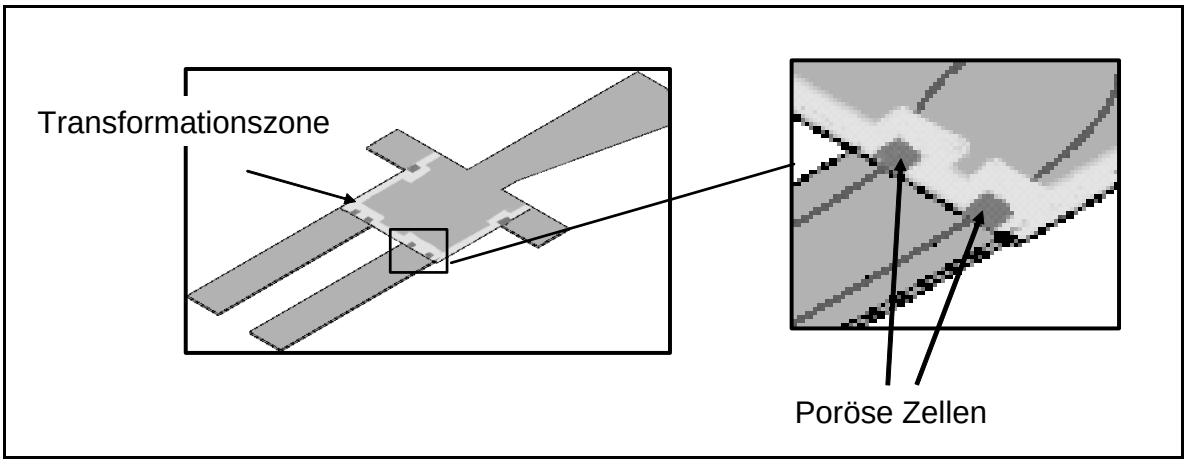


Abbildung 5.16: Umformung der identifizierten Zelle in poröses Medium und neue Festlegung der Transformationszone

Durch die iterative Anwendung der Einzelschritte wird die Aggregation der Beads als Anwachsen der porösen Zellen dargestellt, da bei jedem Durchdringen der Transformationszone eine Zelle porös markiert wird und für die nächste Simulationsrunde belegt ist. Dadurch wird die dynamische Betrachtung der Aggregation der Beads in der Analysekammer unter Einbeziehung der Erhöhung des hydraulischen Widerstandes realisiert.

Bei dieser Art der Simulation ist, neben den internen Iterationen (Lösungsalgorithmen), die in FIDAP implementiert sind, und der Erstellung der Geometrien durch GAMBIT, noch ein äußeres Iterationsverfahren nötig. Für die Realisierung dieses Modells muss ein gesondertes, externes Programm erstellt werden, das die Simulationsergebnisse analysiert, die Randbedingungen für eine neue Simulation entsprechend verändert und darauf aufbauend auch wieder iterativ neue Simulationen startet. Dieses Programm wird in JAVA realisiert. Abbildung 5.17 fasst den Prozeß der Beadaggregation zusammen und ordnet die einzelnen Schritte den Bausteinen FIDAP und JAVA zu.

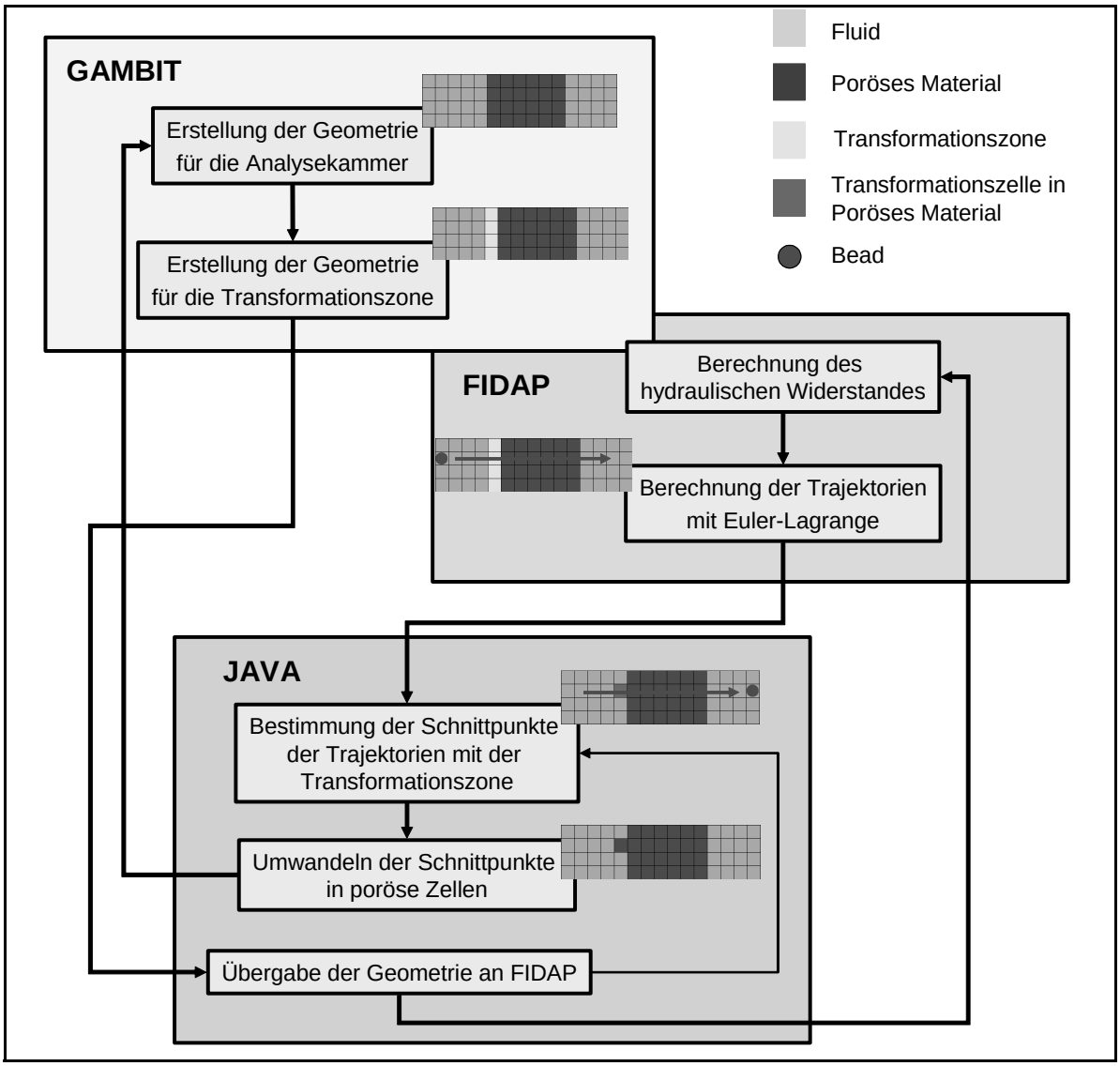


Abbildung 5.17: Schema der Steuerung der Simulation zur Abbildung von Zweiphasenströmungen in Kombiation mit porösen Medien

Zur Evaluierung des Lösungsansatzes müssen zum einen die entsprechenden Algorithmen abgebildet werden, zum anderen müssen die einzelnen Parameter aus der Darcy Gleichung, die das fluidische Verhalten des porösen Mediums wiedergeben, ermittelt werden.

In FIDAP wird zur Lösung von Strömungen durch poröse Medien die Navier-Stokes-Gleichung mit den Anpassungen von H. Darcy, P. Forchheimer und S. Ergun (siehe Kapitel 4.2.5) eingesetzt. Bei der vorliegenden zweidimensionalen laminaren Zweiphasenströmung werden hierzu folgende Parameter benötigt:

- d_{Bead} als Beaddurchmesser
- ϕ als Porosität
- α-Faktor zur Anpassung der Navier-Stokes-Gleichung durch Darcy

Der Beaddurchmesser d_{Bead} ist zu 176µm definiert. Die Porosität ϕ wird, ausgehend von einer hexagonalen Beadordnung und den in Kapitel 5.1 definierten Abmessungen nach Gleichung 4.8 berechnet zu:

$$\phi = 0,48$$

Der α-Faktor /Flu_01/ ist nach Gleichung 5.20 definiert zu:

$$a = \frac{\eta}{\eta_e} \tag{5.20}$$

mit η, Viskosität des Fluids (hier: Wasser) und η_e, die effektive Viskosität des fluidischen Bereiches im porösen Medium. Dieser Faktor muss durch einen Abgleich experimenteller Daten mit Simulationsdaten bestimmt werden.

6 Realisierung der Versuchsplattform und Bestimmung einzelner Parameter

6.1 Konzeption eines Testkörpers und der Versuchsplattform

Für die Verifizierung des Modells zur Berechnung der Beadströmung im mikrofluidischen Probenträger wird eine Versuchsplattform benötigt. Die Anforderungen an die Versuchsplattform resultieren maßgeblich aus den in Kapitel 3 abgeleiteten Anforderungen. Diese sind:

- Reproduzierbare Herstellung von 1 - 5%igen Beadsuspensionen
- Erzeugung eines druckgesteuerten Volumenstroms Q von 0,2L/h bis 2,5L/h über den Druck
- Differenzdruck von 0Pa - 60.000Pa
- Aufnahme unterschiedlicher mikrofluidischer Probenträger bzw. Testkörper
- Optische Analyse der Befüllung der Analysekammer (Auszählen der Beads zur Errechnung des Befüllgrades und optische Aufnahme des Befüllvorganges)
- Messung von Druck

In Kapitel 5.3, wurde das Lösungskonzept entwickelt, die Beadströmung im mikrofluidischen Probenträger mittels des Euler-Lagrange-Verfahrens zu berechnen. Die Beadaggregation in der Analysekammer wird als sich abhängig von der Zeit aufbauendes poröses Medium abgebildet. Wie in 5.3 ausgeführt, benötigt FIDAP den α-Faktor als Parameter. Dieser muss für Beads als poröses Medium experimentell bestimmt werden.

Da hieraus weitere Anforderungen an die Versuchsplattform resultieren können, soll zunächst das Konzept zur Ermittlung des α-Faktors für aggregierende Beads entwickelt werden.

6.1.1 Entwicklung eines Konzeptes zur Bestimmung des α-Faktors

Der α-Faktor ist nach Gleichung 5.20 definiert. Für die Simulation der Strömung durch das poröse Medium, dargestellt durch eine Beadaggregation, muss ein gültiges Zahlentupel η_e und α gefunden werden, bei dem die Simulationsergebnisse mit experimentellen Resultaten übereinstimmen. Dabei gelten folgende Anforderungen:

- Die ermittelten Werte η_e und α müssen bei unterschiedlichen Höhen des porösen Mediums zu einer Übereinstimmung zwischen Simulationsergebnis und

realen Daten führen. Das bedeutet, der Testkörper muss eine unterschiedliche Anzahl an Beadreihen aufnehmen
- Laminare Strömungsbedingungen
- Stationäre Bedingungen

Das Einbringen eines porösen Mediums in einen Messkanal führt bei konstantem Druck zu einer Änderung des Volumenstroms. Diese Größe kann als Maß für die Übereinstimmung zwischen Simulation und Experiment genutzt werden. Sie wird im Experiment jedoch von Druckschwankungen in der Versuchsplattform beeinflusst, was zu einer größeren Standardabweichung führt.

Um dieses zu vermeiden, wird ein Referenzkanal eingeführt. Dieser besitzt die gleiche Geometrie wie der Messkanal und ist diesem parallelgeschaltet. Als Messgröße zur Bestimmung der Übereinstimmung zwischen Experiment und Simulation wird die Flussrate bestimmt. Die Flussrate ist definiert als Verhältnis zwischen Volumenstrom des Messkanals und Volumenstrom des Referenzkanals. Die Flussrate ist damit eine zeitunabhängige Größe. Es genügt die Bestimmung des jeweiligen Flüssigkeitsvolumens, welches durch den Mess- bzw. Referenzkanal fließt. Hierzu muss der Testkörper Auffangbehälter aufweisen. Dies führt zu dem in Abbildung 6.1 entwickelten Konzept eines Testkörpers.

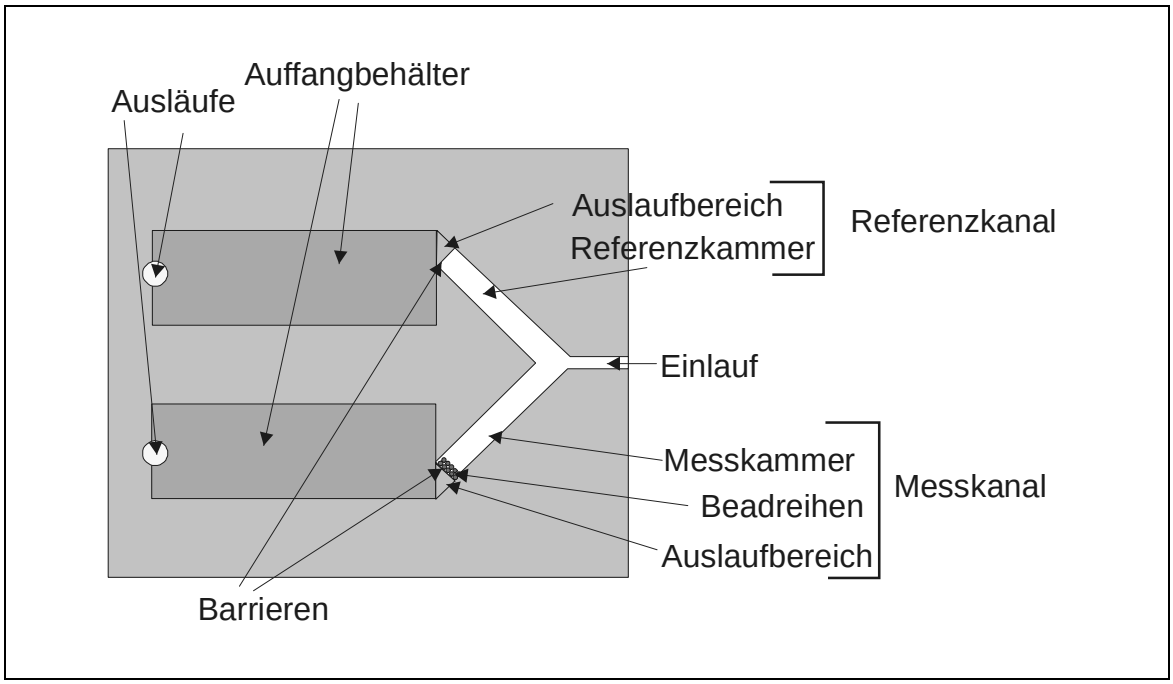


Abbildung 6.1: Schema des Testkörpers zur Untersuchung aggregierter Beads als poröses Material

Der Testkörper besteht aus zwei Kanälen, die über einen gemeinsamen Einlauf gleichzeitig befüllt werden. Der Messkanal besitzt eine Aggregationskammer und eine Auslaufzone geringerer Höhe. Der Referenzkanal besteht aus einer Referenzkammer und einer Auslaufzone. Die Abmaße der Kammern ergeben sich aus dem Durchmesser der eingesetzten Beads von 176µm. Die Beadreihen werden manuell eingebracht, um Fehlstellen zu vermeiden und die Stabilität der Schüttung zu gewährleisten. Die Zählung der Beads, bzw. der Beadreihen in der Analysekammer erfolgt manuell.

Hieraus folgen zusätzliche Anforderungen an die Versuchsplattform. Diese sind:

- Messung der Flussrate unmittelbar vor dem mikrofluidischen Probenträger bzw. dem Testkörper in dem Bereich von 0,2 L/h bis 2,5 L/h
- Geringer Einfluss durch die Druckbeaufschlagung (z. B. Schwankungen)
- Aufnahme des Testkörpers zur Bestimmung des α-Faktors

6.1.2 Konzeption der Versuchsplattform

Abbildung 6.2 zeigt das Konzept der Versuchsplattform.

Die Erzeugung des Volumenstroms Q erfolgt über das Konzept des „pressure driven flow“. Dabei wird der Druck innerhalb von Flüssigkeitsreservoiren reibungsfrei auf die Flüssigkeit übertragen. Ausgehend von einem sehr (unendlich) großen Druckbehälter kann so von einer konstanten, schwankungsarmen Druckbeaufschlagung ausgegangen werden. Mögliche negative Einflüsse durch eine mechanische Durckbeaufschlagung (Pumpe) werden dadurch vermieden.

Zusätzlich weist das Konzept zwei Reservoire auf. Ein Reservoir für Di-Wasser sowie eines für die Beadsuspension. Die Reservoire können unabhängig voneinander mit Druck beaufschlagt werden. Damit ist es möglich, Beadsuspensionen unterschiedlicher Dichte innerhalb der Versuchsplattform zu erzeugen. Das Beadreservoir ist mit einem Propeller ausgestattet, um eine Sedimentation der Beads im Reservoir und damit Dichteschwankungen zu vermeiden.

Zusätzliche Druck- und Flussratensensoren vor der Schnittstelle zum Testkörper bzw. dem mikrofluidischen Probenträger erlauben die Erfassung der notwendigen Daten.

Für die optische Auslesung wird eine digitale 3-Chip Videokamera mit Makrooptik eingesetzt, welche im Durchlichtverfahren die Befüllung der Testkörper aufzeichnet.

Die Versuchsplattform erlaubt die Aufnahme der Testkörper sowie des in Kapitel 5.1 entwickelten mikrofluidischen Probenträgers.

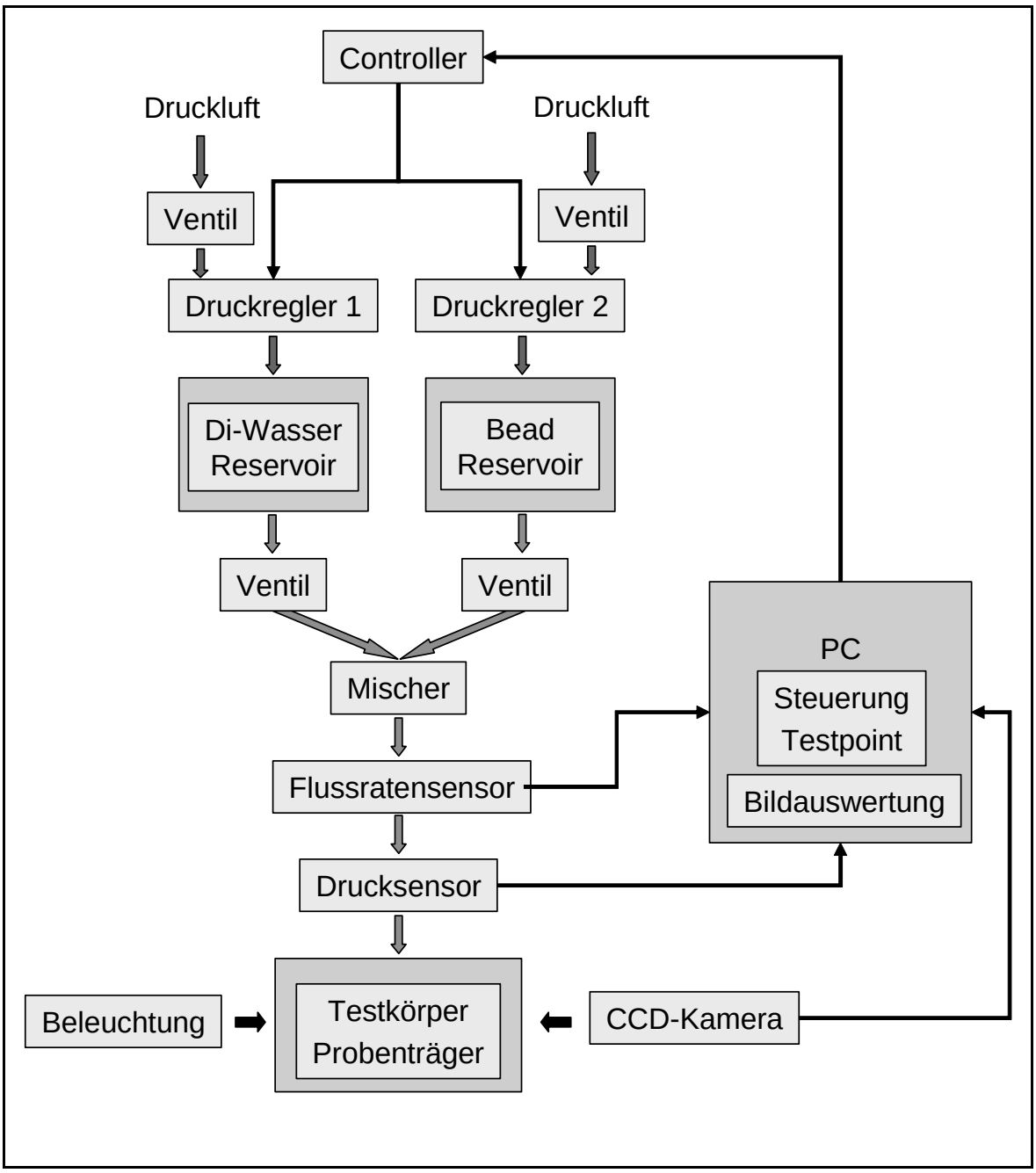


Abbildung 6.2: Blockschaltbild der Versuchsplattform:
Die Flüssigkeit wird durch Druckbeaufschlagung eines Reservoirs in Bewegung gesetzt

6.2 Realisierung des Testkörpers und der Versuchsplattform

6.2.1 Realisierung des Testkörpers

Für die experimentellen Untersuchungen wird der in Abbildung 6.3 dargestellte Testkörper gefertigt.

Der Testkörper besitzt einen Referenzkanal, einen Messkanal sowie an jedem Kanal eine Auslaufzone. Die Auslaufzonen von Referenz- und Messkanal sind seitens der geometrischen Abmessungen identisch und weisen somit den gleichen hydraulischen Widerstand auf. Mess- und Referenzkanal besitzen ebenfalls die gleichen geometrischen Abmessungen.

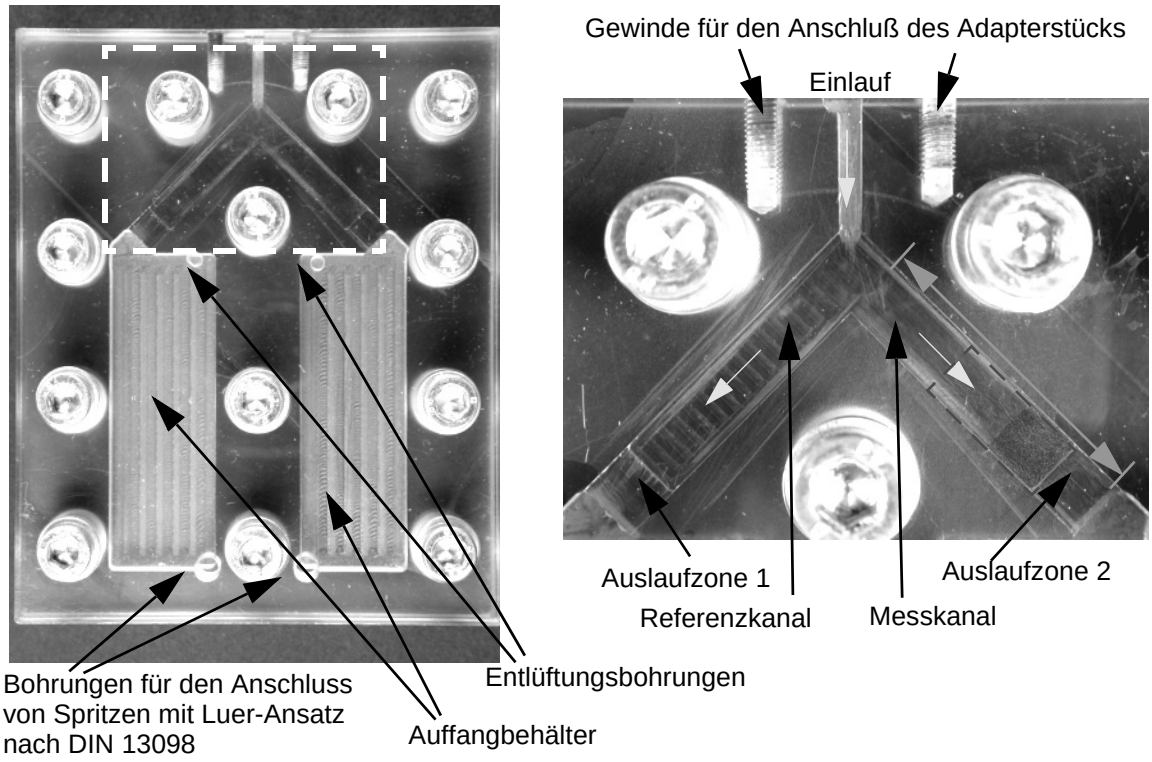


Abbildung 6.3: Fotografie des Testkörpers zur Untersuchung der Eigenschaften von Beads als poröses Medium. Der im linken Bild weiss gestrichelt umrandete Teil ist im rechten Bild nochmals vergrößert dargestellt, wobei hier in der Aggregationskammer bereits aggregierte Beads (30 Beadreihen bzw. 1234 Beads) sind. Die einfachen Pfeile geben die Flussrichtung an. Die hydraulischen Widerstände der Kammern werden auf der Länge des Doppelpfeiles berechnet

Die Deckelplatte hat, wie in Abbildung 6.3 zu sehen, vier Durchbohrungen. Die zwei unteren Bohrungen dienen als Anschlüsse für je eine Einwegspritze mit Luer-Ver-

schluss nach DIN 13098, deren Kanülenanschlüsse genau in die Bohrungen passen. Die zwei oberen Durchbohrungen dienen zur Entlüftung des Auffangbehälters. Am Einlauf des Testkörpers wird ein Adapterstück montiert, um die Kammern druckgetrieben zu befüllen.

Mit dieser Messanordnung besteht die Möglichkeit, Flussratenverhältnisse zu bestimmen, indem der Referenzkanal frei bleibt und im Messkanal sich die Beads in der Aggregationskammer ansammeln. Dies hat den Vorteil, dass damit keine zeit- bzw. druckabhängigen Variablen zu berücksichtigen sind. Zudem sind die Flussratenverhältnisse proportional zu den hydraulischen Widerstandsverhältnissen.

6.2.2 Realisierung der Versuchsplattform

Abbildung 6.4 zeigt die Realisierung der Versuchsplattform.

Zwei identisch aufgebaute Reservoire werden mit Di-Wasser und mit der Beadsuspension befüllt. Die beiden Fluide werden mit einem Gasdruck beaufschlagt, der unabhängig vom jeweils anderen Reservoir mit einer Genauigkeit von 0,5% über je einen Druckregler (Type 640, MKS GmbH, Deutschland) geregelt wird. Um eine gleichmäßige Beadsuspension im Beadbehälter während der Versuche zu erreichen und das Sedimentieren der Beads in diesem Behälter zu verhindern, wird die Beadsuspension durch einen Propeller durchmischt. Schnittstelle zwischen den beiden Reservoiren und dem Gesamtsystem bildet eine Mischkammer. In dieser werden die beiden fluidischen Leitungen aus den beiden Behältern zusammengeführt. Die Leitungen werden einzeln über Ventile zu- oder abgeschaltet. Die Einstellung der gewünschten Dichte der Beadsuspension erfolgt über die getrennte Druckbeaufschlagung der beiden Reservoire.

Zur Messung der Flussraten und des tatsächlich an der Kammer anliegenden Drucks sind noch ein Flussratensensor (HSG-IMIT, Deutschland) und ein Drucksensor (WU 10, WIKA GmbH, Deutschland) im System integriert. An dieses System werden dann entweder Testkörper oder Probenträger über ein Adapterstück angeschlossen. Die Testkörper oder Probenträger werden horizontal befüllt, um durch Schwerkraft hervorgerufene Effekte auszuschliessen. Der Befüllvorgang wird mit einem 3 CCD-Camcorder (Canon XL 1) aufgezeichnet. Das externe Controlling wurde mittels der Software TestPoint der Firma Keithley umgesetzt.

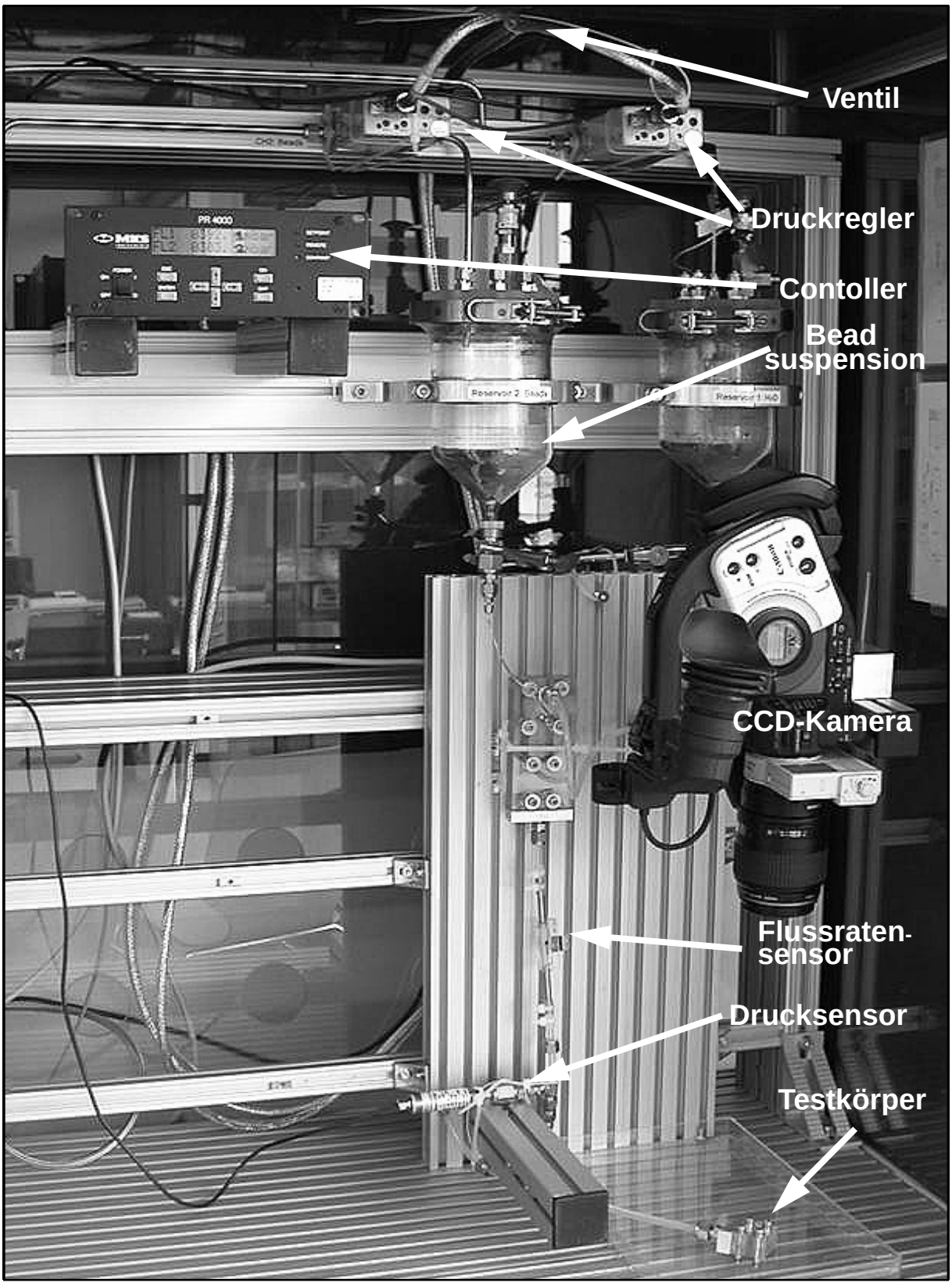


Abbildung 6.4: Versuchsplattform zur Beadbefüllung von Probenträgern und Testkörpern

6.3 Bestimmung des α-Faktors für die Simulation von Strömungen durch poröse Medien

6.3.1 Versuchsdurchführung zur Bestimmung des Flussratenverhältnisses

Zur experimentellen Bestimmung der Flussraten in Abhängigkeit der Höhe des porösen Mediums werden Versuchsdurchgänge mit einer unterschiedlichen Anzahl an Beadreihen durchgeführt. Die ersten 30 Beadreihen werden manuell hergestellt, um Fehlstellen zu vermeiden. Dazu werden die Beads unter einer Stereolupe mit einer Präzisionspinzette in den offenen Kanal gelegt. Weitere Beadreihen werden durch Einspülen der Beads mit einer Pipette hinzugefügt. Anschliessend wird der Testkörper mit dem Deckel verschlossen. Es werden Versuche mit 0, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 50 und 110 Beadreihen durchgeführt. In Abbildung 6.5 sind die Anordnungen der jeweiligen Beadreihen in der Aggregationskammer des Messkanals dargestellt. Die Anzahl der in der Aggregationskammer vorhandenen Beads wird manuell ermittelt, um die genaue Anzahl der Beadreihen zu differenzieren.

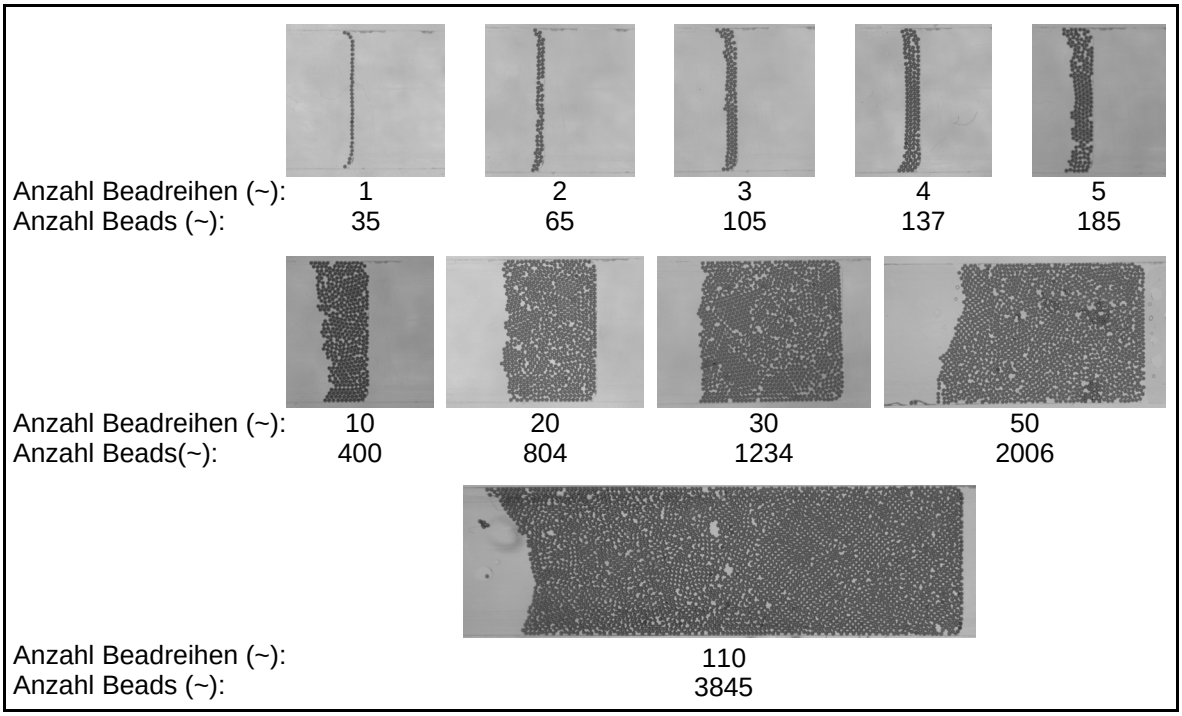


Abbildung 6.5: Aggregationskammer des Messkanals mit aggregierten Beads und der jeweiligen Anzahl an Beadreihen

Die durch die jeweilige Kammer geflossene Wassermenge wird mittels Einmalspritzen gemessen, welche an den unteren Anschlüssen angebracht werden.

Für jede in Abbildung 6.5 zu sehende Beadlage werden jeweils sechs Befüllversuche durchgeführt, die Wassermengen gemessen und daraus ein Flussratenverhältnis gebildet. Als Referenz werden die Messungen im Referenzkanal durchgeführt. In Abbildung 6.6 sind die ermittelten Ergebnisse tabellarisch aufgeführt. Die ermittelte Standardabweichung der 6 Messpunkte im Messkanal liegt unter 5%.

Anzahl Beadreihen (+/- 5%)	Anzahl Beads	Flüssigkeitsvolumen Messkanal [mL]	Flüssigkeitsvolumen Referenzkanal [mL]	Flussratenverhältnis Messkanal/ Referenzkanal	Standardabweichung	Werte aus der Simulation
0	0	4,750	4,750	1,000	0,000	1,000
1	35	3,417	4,625	0,739	0,082	0,596
2	65	2,375	4,500	0,528	0,026	0,506
3	105	2,083	4,625	0,450	0,014	0,438
4	137	2,042	4,708	0,434	0,047	0,383
5	185	1,875	4,583	0,409	0,011	0,357
10	400	1,417	4,417	0,321	0,034	0,211
20	804	0,917	4,708	0,195	0,014	0,124
30	1234	0,708	4,875	0,145	0,018	0,089
50	2006	0,542	4,833	0,112	0,027	0,057
110	3845	0,458	5,167	0,089	0,025	0,027

Abbildung 6.6: Versuchsergebnis zu der Messung des hydraulischen Widerstands aggregierter Beads. Die Daten sind aus jeweils 6 Versuchen zu jeder Beadkonfiguration gemittelt

In Abbildung 6.7 ist das Flussratenverhältnis über der Anzahl Beadreihen aufgeführt und in Abbildung 6.8 ist das Flussratenverhältnis über der Anzahl der einzelnen Beads dargestellt.

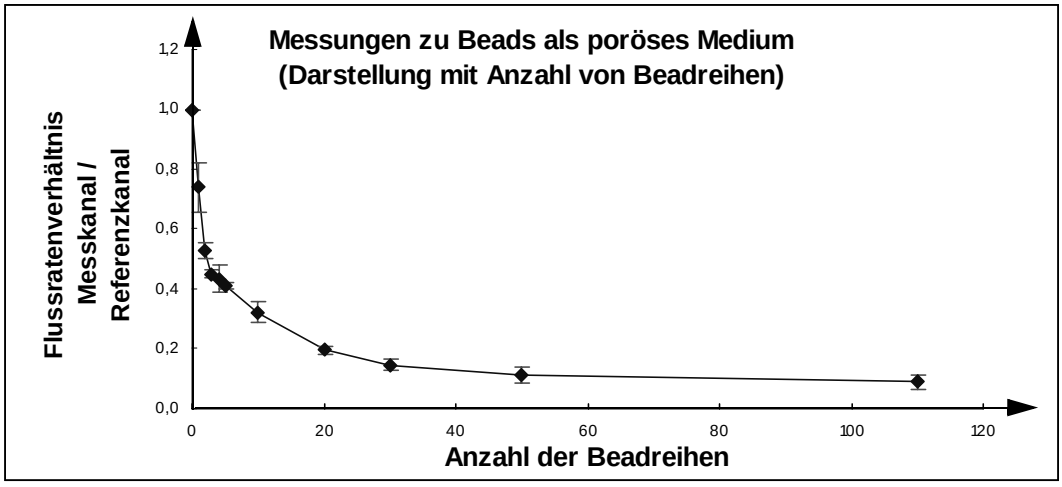


Abbildung 6.7: Graphische Darstellung des Flussratenverhätnisses in Abhängigkeit der Anzahl Beadreihen

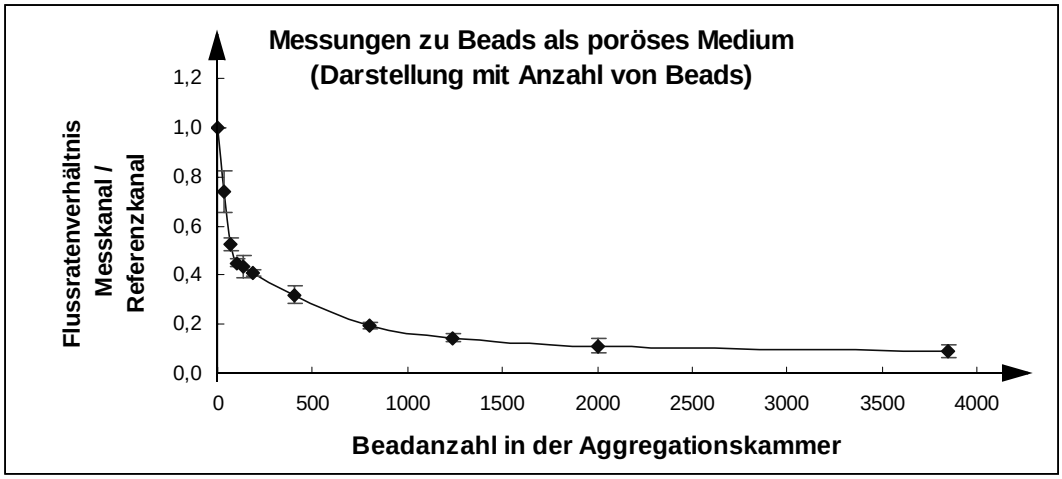


Abbildung 6.8: Graphische Darstellung des Flussratenverhätnisses in Abhängigkeit der Anzahl Beads

Aus Vergleich von Abbildung 6.7 und Abbildung 6.8 folgt, dass das Ergebnis bei einer Betrachtungsweise über Beadreihen, trotz der teilweise vorhandenen Fehlstellen, dem Ergebnis entspricht, wie es sich auch bei der Betrachtung von einzelnen Beads ergibt. Befinden sich keine Beads in der Aggregationskammer, fließt durch den Messkanal die gleiche Menge Di-Wasser wie durch den Referenzkanal. Eine Beadreihe im Messkanal verringert den Fluss in der Aggregationskammer um 26%. Der Fluss verringert sich erneut um ca. 25%, wenn eine zweite Beadreihe hinzukommt. Eine dritte Beadreihe hat einen geringeren Einfluss. Der Fluss reduziert sich um weitere 7%. Zwischen 3 und 20 Beadreihen verringert sich der Fluss je Beadreihe durchschnittlich um je 1,4%. Jede weitere Beadreihe führt nur mehr zu einer geringen Abnahme des Flusses.

6.3.2 Durchführung der Simulation und Ableitung der Parameter α und η_e

Zur Durchführung der Simulationsexperimente wird der Testkörper in GAMBIT diskretisiert. Das jeweilige poröse Medium wird als Ausgangsbedingung im Messkanal abgebildet. Abbildung 6.9 zeigt die Simulationsgeometrie für den Testkörper. Der in Grau dargestellte Bereich stellt das poröse Medium dar und hat in der Darstellung eine Größe von 30 Beadreihen. Um die Simulation mit den experimentellen Ergebnissen abgleichen zu können, wird bei der Simulation das Flussratenverhältnis ermittelt.

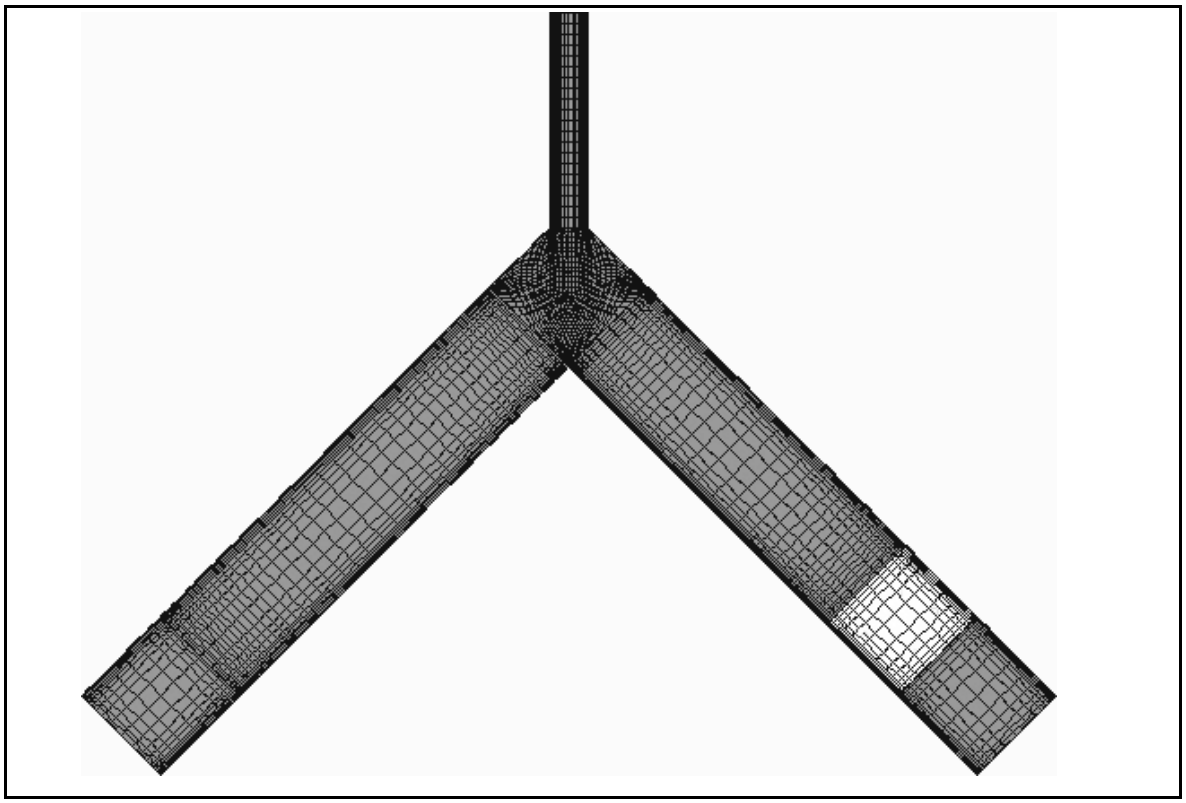


Abbildung 6.9: Simulation des Testkörpers: CAD-Modell und Diskretisierung. Der helle Bereich des Messkanals gibt den Ort des porösen Mediums an. In dem hier abgebildeten Fall entspricht dieser Bereich einer Anzahl von ca. 30 Beadreihen

Ziel ist es dabei, ein passendes Zahlentupel für η_e und α zu finden, welches in späteren Simulationen eingesetzt wird. Deshalb werden Simulationen für 6 verschiedene effektive Viskositäten η_e, von 0,0001Pas bis 1Pas und mit 19 verschiedenen α-Werten von 0,0001 bis 100.000 durchgeführt.

Entsprechend der im Experiment eingebrachten Anzahl an Beadreihen, werden im geometrischen Modell des Testkörpers im Messkanal poröse Zonen unterschiedlicher Höhen als Startbedingung definiert (Abbildung 6.10).

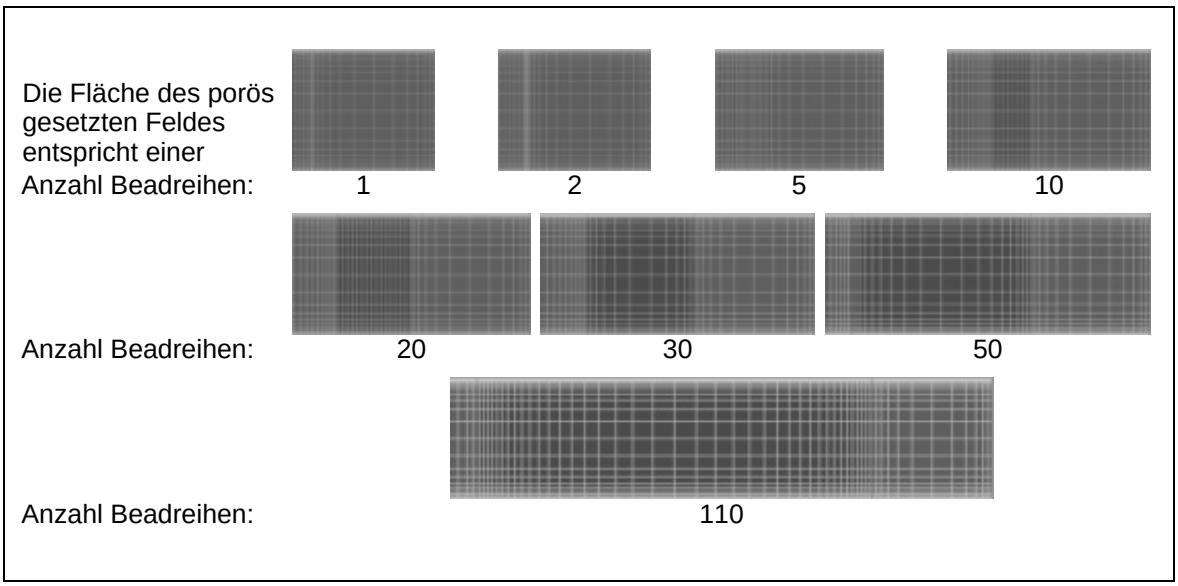
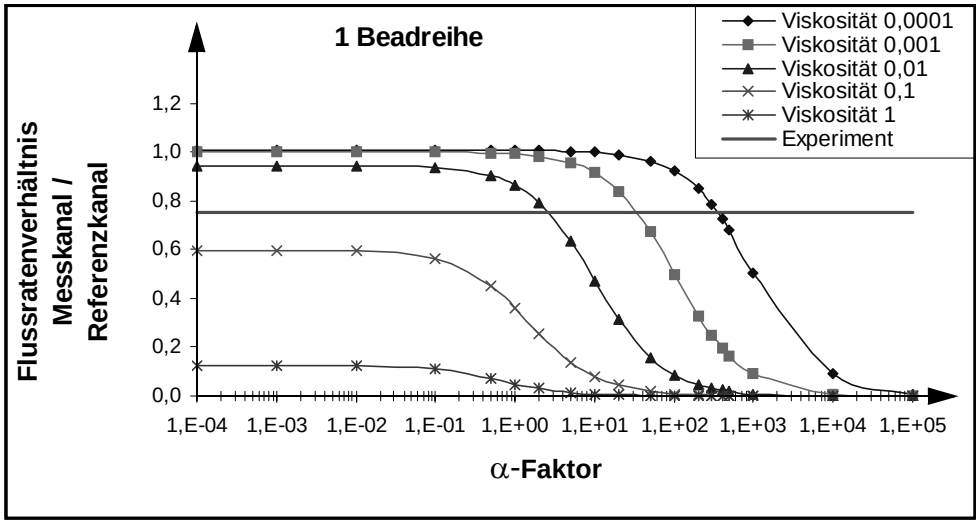
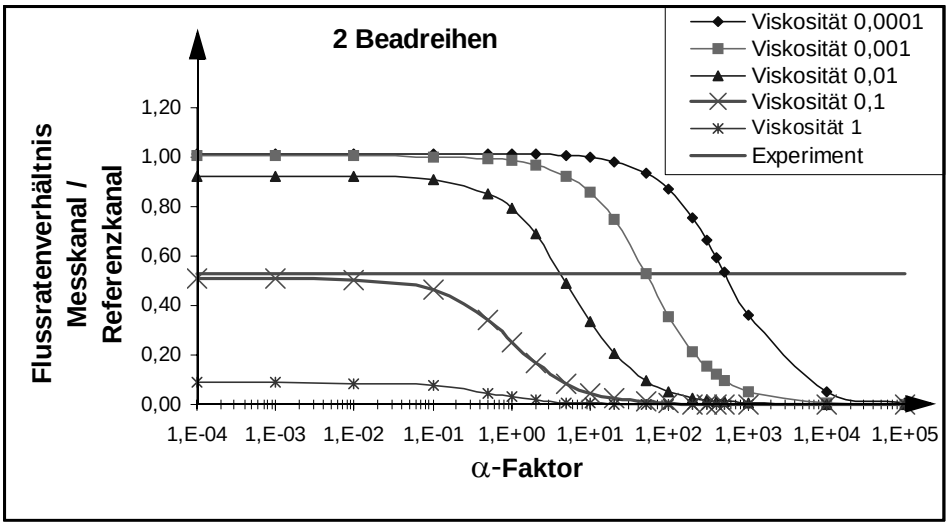
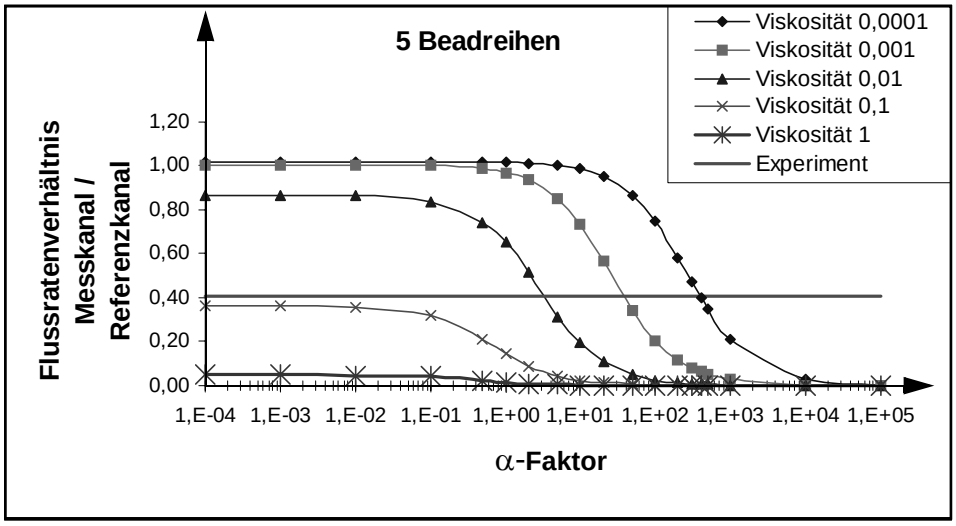


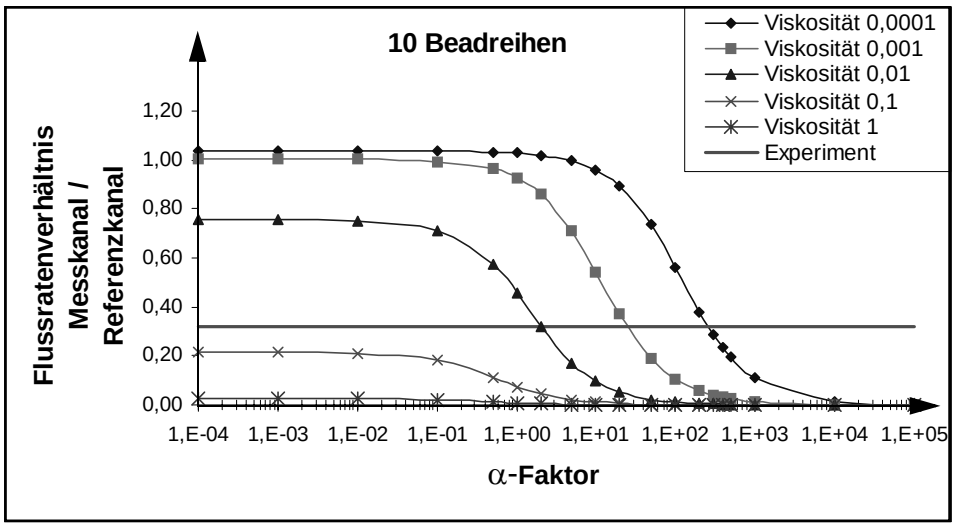
Abbildung 6.10: Ausschnitt des Messkanals der Simulationsgeometrie des Testkörpers. Der dunkle Bereich stellt das poröse Medium dar. Die Größe des porösen Mediums entspricht dem der experimentell aggregierten Beadreihen

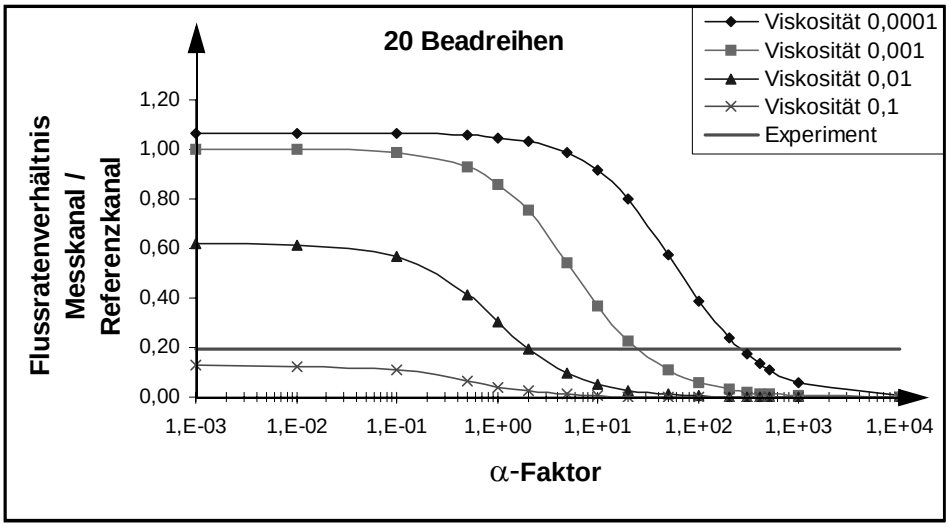
Abbildung 6.11 stellt die Ergebnisse der Simulationen und der experimentellen Daten dar. Es ist jeweils das Flussratenverhältnis über dem α-Faktor aufgetragen. Die einzelnen Kurven zeigen die Ergebnisse für die verschiedenen effektiven Viskositäten η_e. Der experimentell ermittelte Wert für das jeweilige Flussratenverhältnis ist als gerade Linie dargestellt und wird den Daten aus Abbildung 6.6 entnommen. Jedes Diagramm stellt die Ergebnisse für eine definierte Anzahl an Beadreihen und damit einer unterschiedlichen Höhe des porösen Mediums dar.

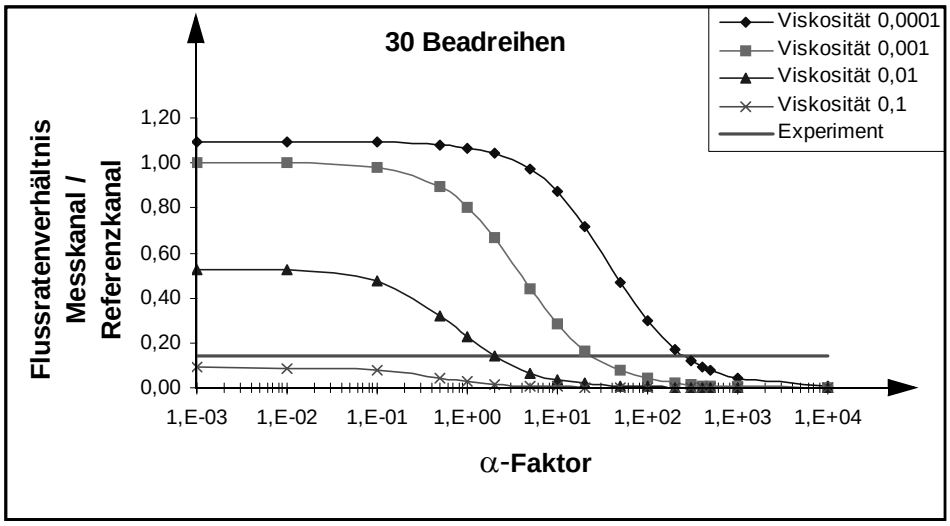


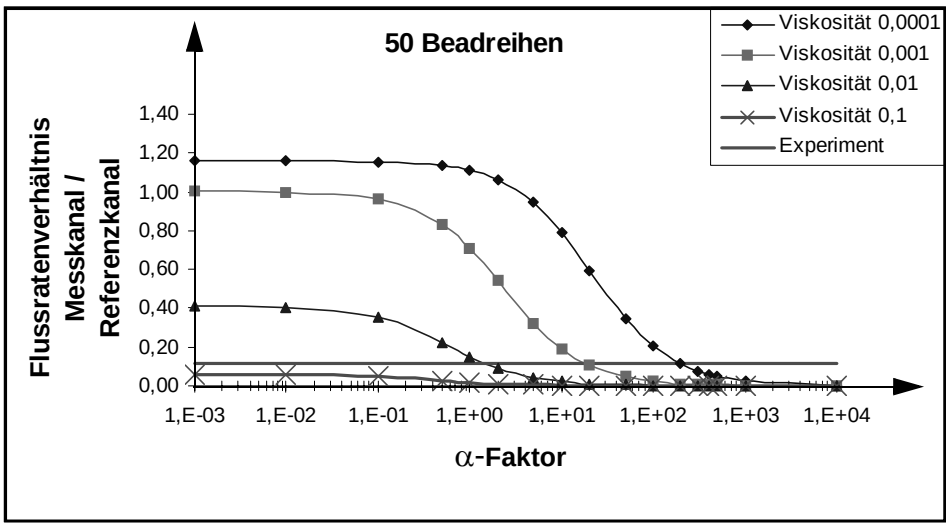

2 Beadreihen
Viskosität 0,0001
Viskosität 0,001
Viskosität 0,01
Viskosität 0,1
Viskosität 1
Experiment
Flussratenverhältnis Messkanal / Referenzkanal
1,20
1,00
0,80
0,60
0,40
0,20
0,00
1,E-04 1,E-03 1,E-02 1,E-01 1,E+00 1,E+01 1,E+02 1,E+03 1,E+04 1,E+05
α-Faktor


5 Beadreihen
Viskosität 0,0001
Viskosität 0,001
Viskosität 0,01
Viskosität 0,1
Viskosität 1
Experiment
Flussratenverhältnis Messkanal / Referenzkanal
1,20
1,00
0,80
0,60
0,40
0,20
0,00
1,E-04 1,E-03 1,E-02 1,E-01 1,E+00 1,E+01 1,E+02 1,E+03 1,E+04 1,E+05
α-Faktor


10 Beadreihen
Viskosität 0,0001
Viskosität 0,001
Viskosität 0,01
Viskosität 0,1
Viskosität 1
Experiment
Flussratenverhältnis Messkanal / Referenzkanal
1,20
1,00
0,80
0,60
0,40
0,20
0,00
1,E-04 1,E-03 1,E-02 1,E-01 1,E+00 1,E+01 1,E+02 1,E+03 1,E+04 1,E+05
α-Faktor


20 Beadreihen
Viskosität 0,0001
Viskosität 0,001
Viskosität 0,01
Viskosität 0,1
Experiment
Flussratenverhältnis
Messkanal /
Referenzkanal
1,20
1,00
0,80
0,60
0,40
0,20
0,00
1,E-03
1,E-02
1,E-01
1,E+00
1,E+01
1,E+02
1,E+03
1,E+04
α-Faktor


30 Beadreihen
Viskosität 0,0001
Viskosität 0,001
Viskosität 0,01
Viskosität 0,1
Experiment
Flussratenverhältnis
Messkanal /
Referenzkanal
1,20
1,00
0,80
0,60
0,40
0,20
0,00
1,E-03
1,E-02
1,E-01
1,E+00
1,E+01
1,E+02
1,E+03
1,E+04
α-Faktor


50 Beadreihen
Viskosität 0,0001
Viskosität 0,001
Viskosität 0,01
Viskosität 0,1
Experiment
Flussratenverhältnis
Messkanal /
Referenzkanal
1,40
1,20
1,00
0,80
0,60
0,40
0,20
0,00
1,E-03
1,E-02
1,E-01
1,E+00
1,E+01
1,E+02
1,E+03
1,E+04
α-Faktor

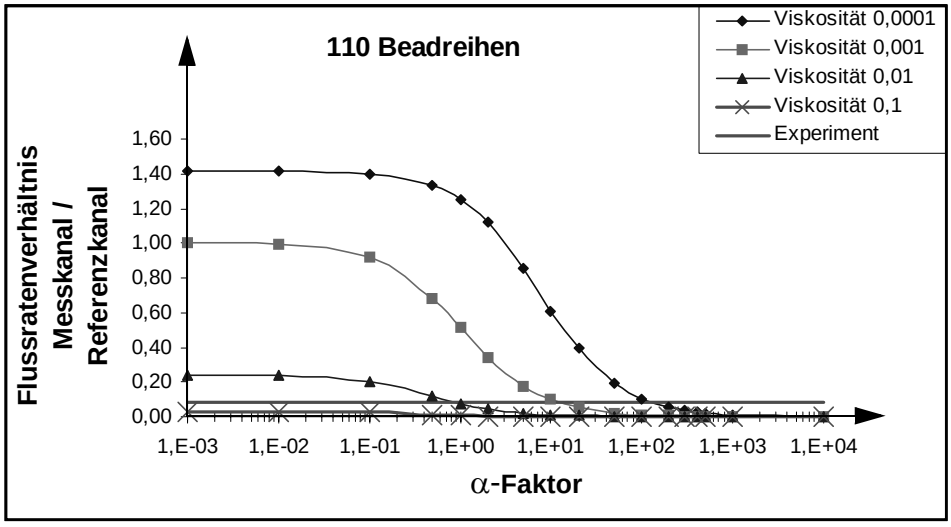


Abbildung 6.11: Bestimmung des α-Faktors: Diagramme aus den Ergebnissen der einzelnen Simulationen. Die Flussraten wurden für verschiedene α-Faktoren bestimmt.
Jede Kurve repräsentiert eine spezifische Viskosität. Die experimentellen Ergebnisse der Flussraten sind als gerade Linien dargestellt. Die einzelnen Diagramme zeigen die Ergebnisse für unterschiedliche Anzahlen an Beadreihen

Bei einer effektiven Viskosität η_e zwischen 0,1Pas und 0,01Pas und Werten des α-Faktor $\leq 10^{-2}$ ist bei allen Flußratenverhältnissen eine sehr gute Übereinstimmung mit den experimentellen Ergebnissen (gerade Linie) zu erreichen. Mit dem festen Wert η_e= 0,1Pas ist eine gute Übereinstimmung erzielbar.

Abbildung 6.12 fasst die Daten der Diagramme aus Abbildung 6.11 zusammen und zeigt die Daten der Simulation direkt mit den experimentellen Daten bei einer effektiven Viskosität von η_e= 0,1Pas und einem α-Faktor von 0,01 für alle gemessenen Flußratenverhältnisse.

Mit den ermittelten Werten für den α-Faktor und der effektiven Viskosität des porösen Mediums η_e resultiert aus Gleichung 5.20 eine Viskosität des Fluids zu 0,001Pas. Dieses Ergebnis stimmt mit den physikalischen Eigenschaften von Wasser überein.

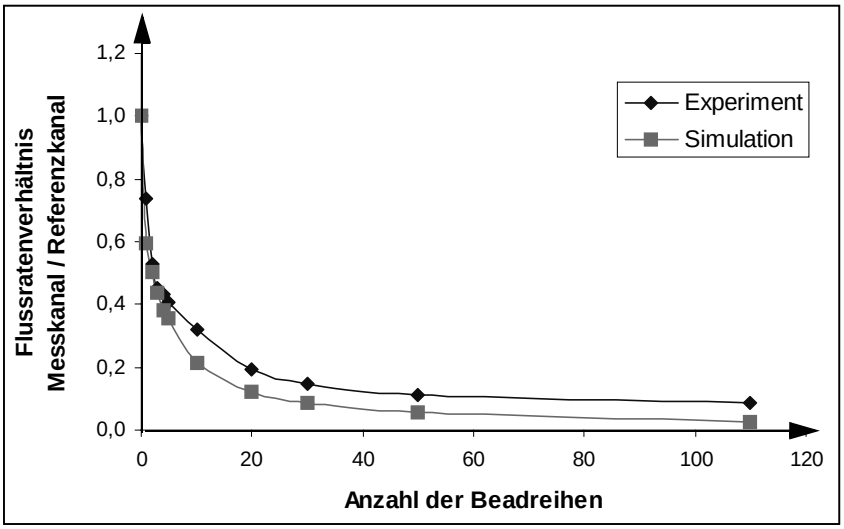


Abbildung 6.12: Experimentelle Ergebnisse im Vergleich zu den Simulationsergebnissen bei einer effektiven Viskosität von 0,1Pas und einem a-Faktor von 0,01.

Für alle weiteren Simulationen mit Beads als porösem Medium wird eine effektive Viskosität η_e= 0,1Pas und ein α-Faktor gleich 0,01 gewählt.
Nach Gleichung 3.13 sind Flussraten und hydraulische Widerstände umgekehrt proportional zueinander. Damit werden auf Basis der erzeugten Ergebnisse die hydraulischen Widerstandsverhältnisse errechnet.

Zunächst wird der hydraulische Widerstand der Kanäle mit definierter Länge (Abbildung 6.3**,** Doppelpfeil) berechnet. Die Kanäle setzen sich aus zwei in Serie geschalteten Bereichen zusammen. Diese sind die Aggregations- bzw. Referenzkammer und die Auslaufzone (Abbildung 6.13).

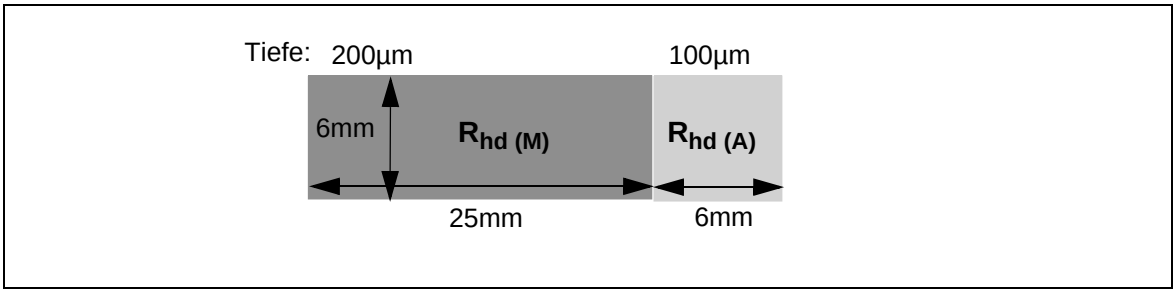


Abbildung 6.13: Schematische Darstellung des leeren Messkanals des Testkörpers (siehe Doppelpfeil in Abbildung 6.3)
$R_{hd\ (M)}$: hydraulischer Widerstand der Aggregationskammer
$R_{hd\ (A)}$: hydraulischer Widerstand der Auslaufzone

Der gesamte hydraulische Widerstand des leeren Kanals berechnet sich nach Gleichung 3.17 zu:

$$R_{hd(ges)} = R_{hd(M)} + R_{hd(A)} \tag{6.1}$$

Wenn beide Kanäle leer sind, gilt dieser Widerstand für die Kanalabschnitte sowohl im Messkanal als auch im Referenzkanal. In den Messkanal wird eine Beadreihe eingebracht, wie in Abbildung 6.14 schematisch gezeigt.

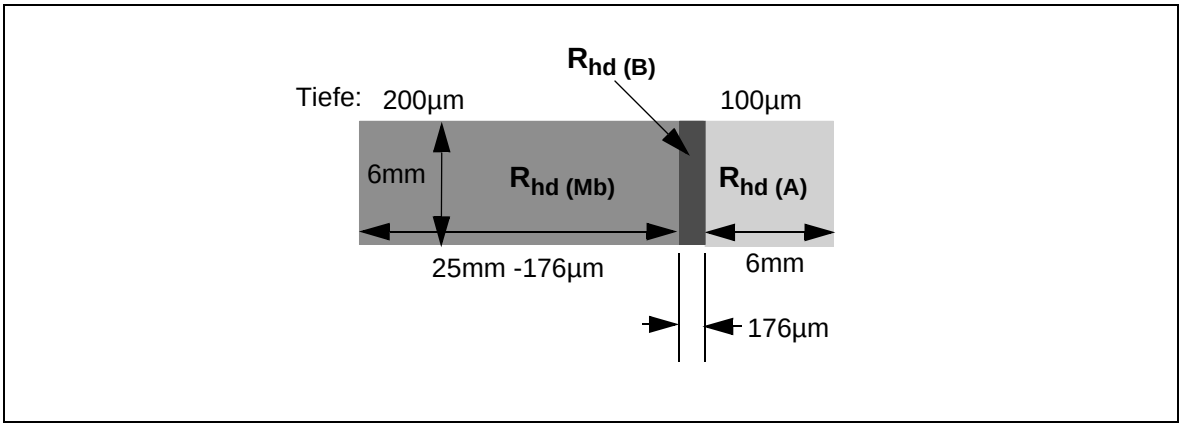


Abbildung 6.14: Schematische Darstellung des Messkanals mit einer Beadreihe
$R_{hd\ (Mb)}$: hydraulischer Widerstand des leeren Teils der Aggregationskammer
$R_{hd\ (B)}$: hydraulischer Widerstand des mit Beads gefüllten Teils der Aggregationskammer
$R_{hd\ (A)}$: hydraulischer Widerstand der Auslaufzone

Der hydraulische Gesamtwiderstand des Messkanals mit einem porösen Medium ergibt sich zu:

$$R_{hd(gesBead)} = R_{hd(Mb)} + R_{hd(B)} + R_{hd(A)} \tag{6.2}$$

Aus den Flussratenverhältnissen für eine Beadreihe, ermittelt in den Experimenten, folgt das umgekehrt proportionale Verhältnis der hydraulischen Widerstände:

$$\frac{I_{m(Mess)}}{I_{m(Referenz)}} = 0{,}739 = \frac{R_{hd(Referenz)}}{R_{hd(Mess)}} = \frac{1{,}3 \cdot 10^7 \cdot \frac{Pas}{kg}}{R_{hd(Mess)}} \tag{6.3}$$

Damit lässt sich der hydraulische Widerstand einer Beadreihe errechnen:

$$\Rightarrow R_{(B)} = 1{,}8 \cdot 10^7 \cdot \frac{Pas}{kg} - R_{hd(Mb)} - R_{hd(A)} = 5{,}3 \cdot 10^6 \cdot \frac{Pas}{kg} \tag{6.4}$$

Der Vergleich des Widerstandswertes einer einzelnen Beadreihe mit den in Kapitel 5.1.5 ermittelten Widerständen der Einlauf- und Auslaufzonen sowie der Analysekammer macht deutlich, wie groß der Einfluss der aggregierenden Beads in der Analysekammer ist.

7 Validierung und Bewertung

7.1 Zweiphasensimulation gekoppelt mit porösen Medien

7.1.1 Bestimmung von Einflussfaktoren auf das Ergebnis der Zweiphasensimulation

Nach Kapitel 5.3 besteht das Simulationsmodell zur Abbildung der Zweiphasenströmung und der Beadaggregation in der Analysekammer aus der Kombination zweier Lösungsverfahren. Die Abbildung der Zweiphasenströmung erfolgt über das Euler-Lagrange-Verfahren, die Beadaggregation wird als poröses Medium dargestellt. Vor der Realisierung des Gesamtkonzeptes erfolgt die Abbildung der Zweiphasenströmung im mikrofluidischen Probenträger sowie die Untersuchung kritischer Parameter. Der Zweiphasensimulation der Beads liegt dabei das in Abbildung 5.9 dargestellte diskretisierte CAD-Modell zugrunde. Kritische Parameter für das Verhalten der Beads in der Strömung sind der an der Einlaufzone angelegte Druck, der Einfluss des hydraulischen Widerstands der Auslaufzonen und die Dichte der eingesetzten Beads.

Zunächst wird der Einfluss des Druckes auf die Strömung der Beadsuspension betrachtet. Dazu werden die Flussraten in den Auslaufzonen analysiert. Als Maß für die Strömung in der Analysekammer gilt das Flussratenverhältnis der oberen (Zone 1 und 2) zu den unteren Auslaufzonen (Zone 3 und 4).

Aufgrund der Abmaße des mikrofluidischen Probenträgers hat das hydraulische Widerstandsverhältnis von Auslaufzone 1 und 2 zu Auslaufzone 3 und 4 einen Wert von 1,3. Die Simulationen werden mit Drücken zwischen 10 und 60.000Pa durchgeführt. Das Ergebnis dieser Simulationen ist in Abbildung 7.1 dargestellt.

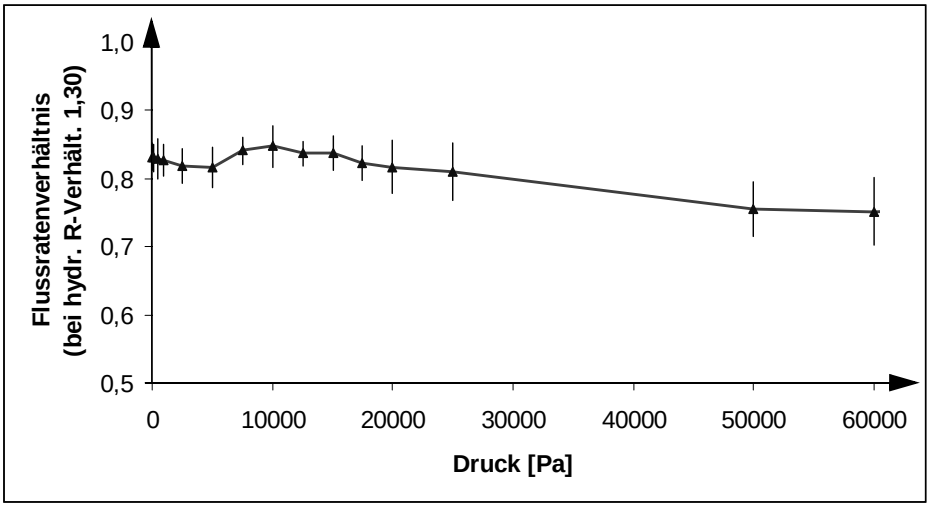


Abbildung 7.1: Untersuchung der Druckabhängigkeit der Strömung der Beadsuspension in der Analysekammer

Das Flussratenverhältnis schwankt um 0,8. Die Hauptströmung ist in Richtung Auslaufzone 3 und 4. Gleichzeitig ist das Flussratenverhältnis nahezu unabhängig vom angelegten Druck. Experimente bestätigen dieses Ergebnis.

Weiterer Parameter mit Einfluss auf das Flussratenverhältnis ist das Verhältnis der hydraulischen Widerstände der Auslaufzonen. Es werden Zweiphasensimulationen mit variablem Widerstandsverhältnis durchgeführt. Das Widerstandsverhältnis wird dabei von 0,05 bis 3 variiert. Gleichzeitig wird der Einfluss der Dichte des Beadmaterials betrachtet. Dazu werden Beads mit einer Dichte von $1,18\ g/cm^3$ (PMMA) und Beads mit einer Dichte von $2,5 g/cm^3$ (Borosilikat) in der Simulation eingesetzt. Je Simulationslauf werden 40 Beads an der Einlaufzone des mikrofluidischen Probenträgers eingebracht. Zur Erzeugung der Strömung wird eine Druckdifferenz von 10.000Pa angelegt. Die Auswertung erfolgt auf Basis der graphischen Darstellung der Beadtrajektorien in der Simulation. Dazu wird die jeweilige Anzahl der Beadtrajektorien in Auslaufzone 1 und 2 sowie Auslaufzone 3 und 4 bestimmt und ins Verhältnis gesetzt. In Abbildung 7.2 ist das Verhältnis der Beadanzahlen über dem Verhältnis des hydraulischen Widerstandes aufgeführt.

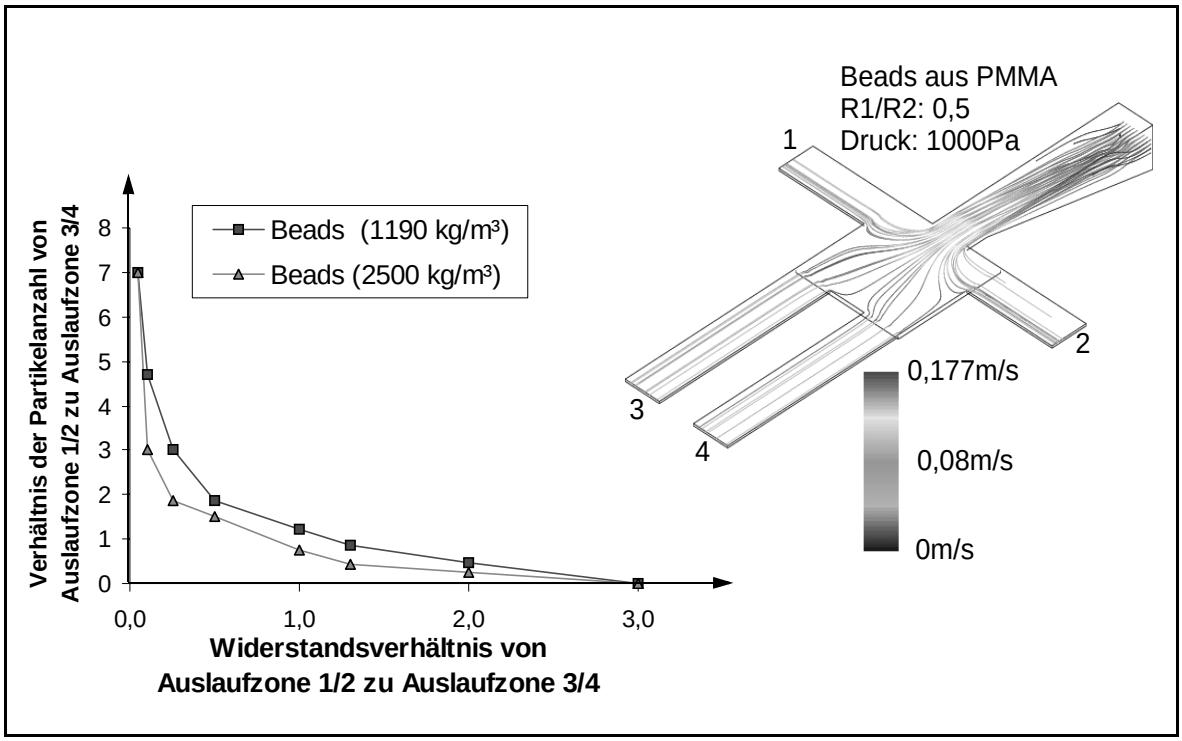


Abbildung 7.2: rechts: graphische Darstellung der Partikelbahnen von PMMA-Beads bei einem Widerstandsverhältnis von Auslaufzone 1 / 2 zu Auslaufzone 3 / 4 von 0,5.
links: Darstellung des Flussratenverhältnisses in Abhängigkeit vom Widerstandsverhältnis

Das Widerstandsverhältnis ist von direktem Einfluss auf das Flussratenverhältnis und damit auf die Strömungsrichtung der Beads. Wie aus Abbildung 7.2 folgt, führt ein doppelt so hoher hydraulischer Widerstand der Auslaufzonen 3 und 4 dazu, dass sich nahezu doppelt so viele Beads bei den Auslaufzonen 1 und 2 aggregieren als in den Auslaufzonen 3 und 4. Dies erhöht die Gefahr einer Verblockung der Einlaufzone. Der Einfluss der Dichte der Beads wird ebenso deutlich. Beads mit höherer Dichte strömen aufgrund der Trägheitskräfte in Richtung der Auslaufzonen 3 und 4. Der Einfluss der Dichte der Beads ist bei Widerstandverhältnissen > 2 vernachlässigbar. In Analogie zur Änderung der Widerstandsverhältnisse an den Auslaufzonen kommt es zu einer Erhöhung des hydraulischen Widerstands durch die Aggregation der Beads.

7.1.2 Realisierung des Gesamtmodells: Kopplung der Zweiphasensimulation mit der Strömung durch poröse Medien

In dem Gesamtmodell dient die Zweiphasensimulation zur Simulation des Verhaltens der Beads in der Strömung. Damit können die Stellen berechnet werden, an denen die Beads zum Stillstand kommen. Für nachfolgende Simulationen wird an diesen Stellen ein poröses Medium eingesetzt. Durch Wiederholung dieses Verfahrens wird somit die Aggregation der Beads mittels Simulation untersucht. Die iterativen Schritte sind in Abbildung 5.17 dargestellt.

Nach Ende eines Simulationslaufes werden die Parameter bestimmt und die entsprechenden Daten an FIDAP übergeben. Hierzu wird auf Basis von JAVA eine Routine programmiert, die alle nötigen Schritte abarbeitet. Das nachfolgende Flussdiagramm (Abbildung 7.3) stellt den Algorithmus des JAVA-Programmes dar. Das Programm GAMBIT bildet die geometrischen Operationen ab. Hierzu zählen das Gitter zur Diskretisierung des mikrofluidischen Probenträgers, die Definition der geometrischen Lage der Zellen, die Abbildung der als porös definierten Zellen und die geometrische Definition der als Transformationszone definierten Bereiche.

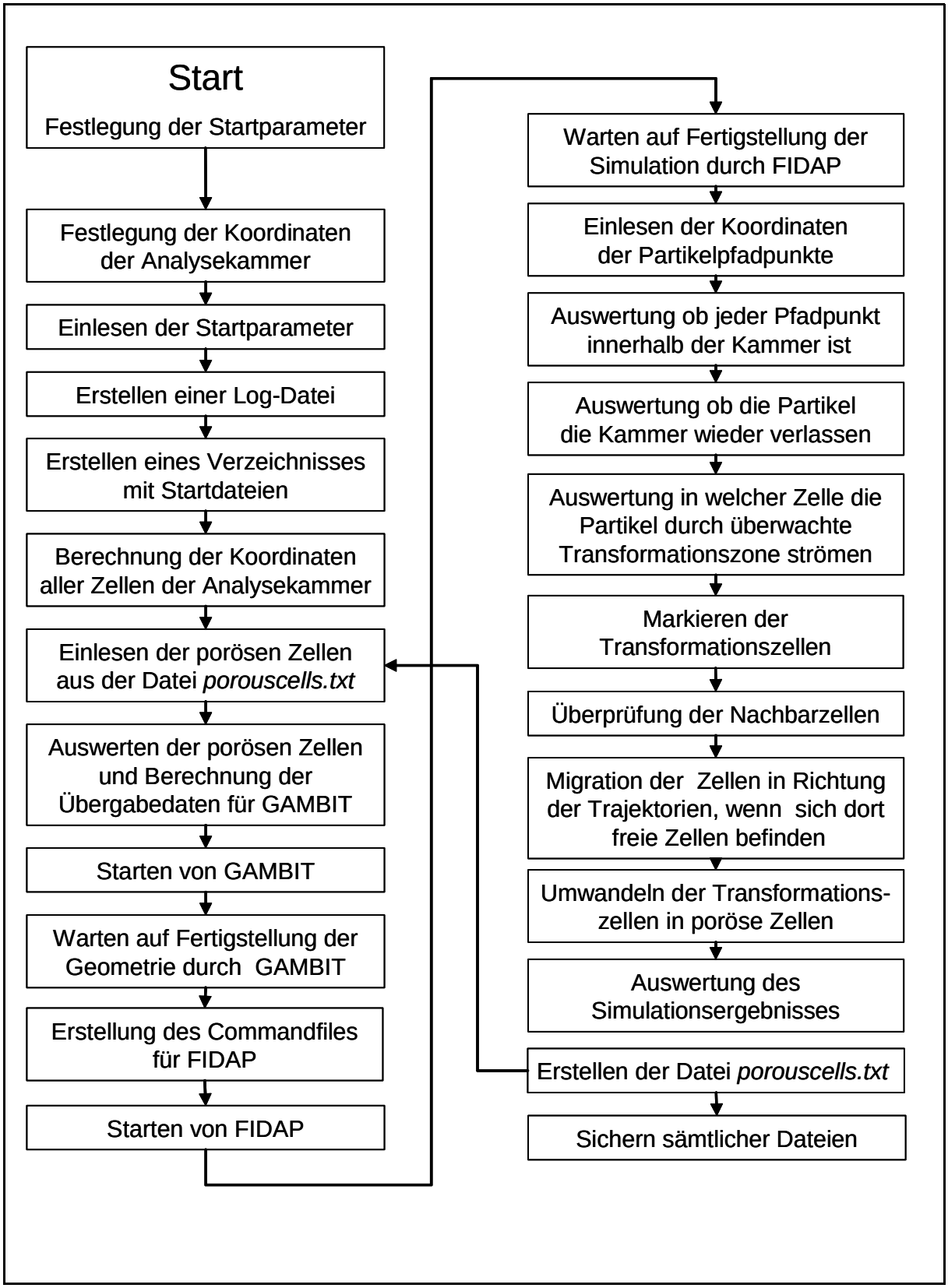


Abbildung 7.3: Flussdiagramm des JAVA-Programms zur iterativen Steuerung des ´ Simulationstools (GAMBIT und FIDAP)

In jeder Iteration wird somit eine Simulation, aufbauend auf den zuvor errechneten Ergebnissen, durchgeführt. Die Dauer einer Simulation pro Iterationsschritt beträgt zwischen 4 und 6 Stunden. Die Programme laufen auf einem 2,4GHz Pentium 4 mit 2 GB RAM. Wie in Kapitel 4.2 bereits beschrieben, werden die Partikel bei Zweiphasensimulationen transient (zeitabhängig) simuliert, wobei die Anzahl der Zeitschritte angegeben wird. Bewegt sich ein Partikel nahe an den Kammerwänden, wo die Fließgeschwindigkeit gegen null geht, so tritt vereinzelt der Sonderfall ein, dass die Zeitschritte nicht ausreichen, um die Partikeltrajektorie bis zum Verlassen der Kammer zu simulieren. Das bedeutet, dass Partikeltrajektorien in der Mitte der Kammer enden. Diese Partikel werden bei der Auswertung durch das JAVA-Programm erkannt und beim Setzen der porösen Medien nicht berücksichtigt. Pro Simulation wird eine definierte Anzahl an Partikeln gleichzeitig, gleichverteilt an zufällig generierten Punkten im Querschnitt der Einlaufzone eingebracht. Zusätzlich wird überprüft, dass keine Partikelquellen übereinanderliegen. Dadurch wird die Gesamtanzahl der Iterationen für eine Komplettbefüllung der Analysekammer verringert. Durch das Strömungsprofil der laminaren Strömung werden die Beads je nach ihren Ausgangskoordinaten unterschiedlich schnell beschleunigt, sodass eine gegenseitige Beeinflussung bei kleinen Beadzahlen vernachlässigbar ist. Vorversuche haben gezeigt, dass pro Iteration bis zu 18 Partikelquellen definiert werden können, ohne Einfluss auf das Simulationsergebnis zu nehmen.

Um das Auftreten von Beadaggregationen von mehr als 2 isolierten Beads in einer Reihe senkrecht zur Analysekammerwand, bzw. das Auftreten von Perlenschnureffekten zu vermeiden (siehe Pfeil in Abbildung 7.4), wurde ein Algorithmus implementiert, der die betroffenen porösen Zellen zu der nächsten freien Zelle, gemäß des Richtungsvektors der Trajektorien verschiebt. In dem Detailbild in Abbildung 7.4 rechts sind die beiden Transformationszellen (Z1 und Z2) schraffiert dargestellt, die von den Trajektorien geschnitten werden und im nächsten Schritt in ein poröses Medium umgewandelt werden. Das Programm überprüft, ob die Zellen Z3 und Z4 bereits von einem porösen Medium belegt sind. Sind beide nicht belegt, wird die Transformationszelle Z2 nach Z3 gemäß des Richtungsvektors der Trajektorie verschoben und in ein poröses Medium verwandelt.

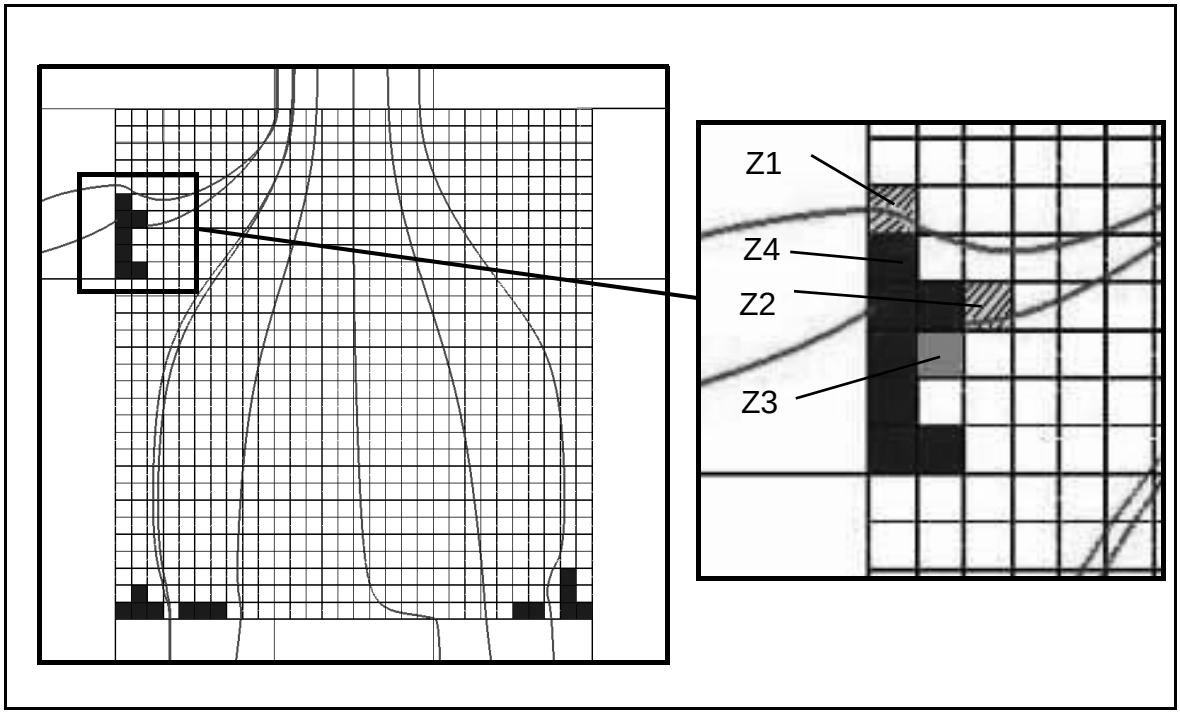


Abbildung 7.4: Grafische Darstellung der Ergebnisse mit Hilfe des dafür erstellten JA-VA-Programmes ohne Korrektur der Aggregation.
Die Linien stellen die Partikeltrajektorien dar. Die dunklen Felder sind poröse Zellen, die schraffierten stellen die Transformationszellen dar, in grau ist die Zelle dargestellt zu der die Transformationszelle verschoben wird

Für das gekoppelte Modell der Zweiphasensimulation mit den porösen Medien wird der in Abbildung 5.4 dargestellte mikrofluidische Probenträger verwendet. Durch Modifikationen und Veränderung der in GAMBIT erstellten Geometrie kann dieses Programm für weitere Kammergeometrien ausgebaut werden.

Die Simulation wird mit einer leeren Analysekammer (d.h. zu Beginn ist noch keine Zelle porös) gestartet und bis zur vollständigen Befüllung verfolgt. Ein Auszug der Ergebnisse ist in Abbildung 7.5 dargestellt.

In der Einlaufzone werden 18 Partikelquellen an zufällig berechneten Koordinaten generiert. Die dunklen Felder sind Zellen mit porösem Medium. Die Plots zeigen den simulierten Befüllungsvorgang der Analysekammer.

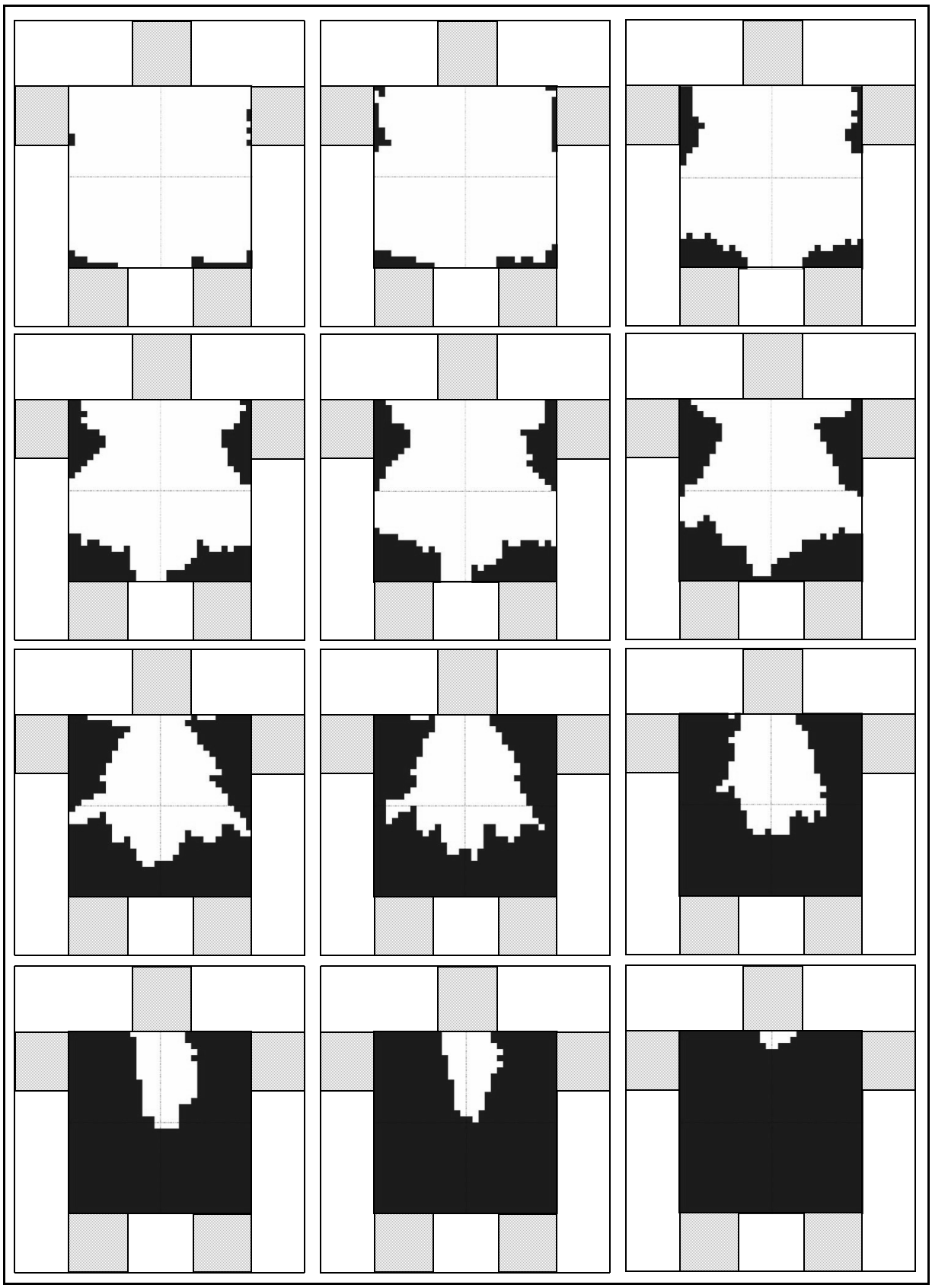


Abbildung 7.5: Grafische Darstellung der Ergebnisse aus einzelnen Iterationen der Partikelaggregation mit Hilfe des dafür erstellten JAVA-Programmes. Dunkle Felder sind Zellen mit porösem Medium, Graue Ein- und Auslaufzonen. Die Plots zeigen den simulierten Befüllungsvorgang der Analysekammer. PMMA-Beads, 10.000Pa

Durch die Auswertung der in Abbildung 7.5 gezeigten Simulationsergebnisse der einzelnen Iterationen wird bestätigt, dass das erstellte JAVA-Programm die Partikeltrajektorien richtig auswertet. An den entsprechenden Stellen wird zur Anpassung des hydraulischen Widerstandes in der Kammer ein poröses Medium in der letzten durchlaufenen, offenen Zelle eingefügt. Dadurch wird der Anteil des porösen Mediums in der Kammer immer größer. Eine vollständige Befüllung der Kammer wird durch die Simulation erreicht.

7.2 Experimentelle Verifizierung der Simulationsergebnisse

7.2.1 Realisierung des mikrofluidischen Probenträgers und Durchführung der Versuche

Zur Verifizierung des entwickelten Simulationsmodells wird dieses mit realen Befüllungsvorgängen abgeglichen. Bewertungsgrösse ist hierbei die Beadverteilung innerhalb der Analysekammer.

Für die Versuche wird derselbe mikrofluidische Probenträger verwendet, der als Vorlage für das Modell der Simulation dient. Die Befüllung des mikrofluidischen Probenträgers erfolgt mit einer 1%igen Suspension der Beads bei einem Druck von 10.000Pa (entspricht der Simulation). Die Befüllungszeit ergibt sich zu 1,2s. Die Befüllung der Analysekammer wird bei 24frames/s aufgezeichnet und die Bilder einzeln ausgewertet. Eine Auswahl an Aufnahmen aus der Filmsequenz ist in Abbildung 7.6 dargestellt.

Die Schüttung der Beads baut sich bei der Befüllung der Analysekammer ausgehend von den 4 Auslaufzonen kontinuierlich auf. Wobei zunächst eine stärkere Beadaggregation an den Auslaufzonen 3 und 4 zu verzeichnen ist, da hier der hydraulische Widerstand der Auslaufzonen geringer ist (siehe Kapitel 5.1.4 Konzeption eines mikrofluidischen Probenträgers). Ein "Zuwachsen" von der Seite der Einlaufzone her wird damit vermieden. Die reproduzierbare, leicht erhöhte Ausbringung auf der linken Seite ist auf Fertigungstoleranzen im Querschnitt der Auslaufzonen zurückzuführen, welche den hydraulischen Widerstand der Auslaufzonen beeinflussen. Eine vollständige Befüllung der Kammer wird reproduzierbar erreicht.

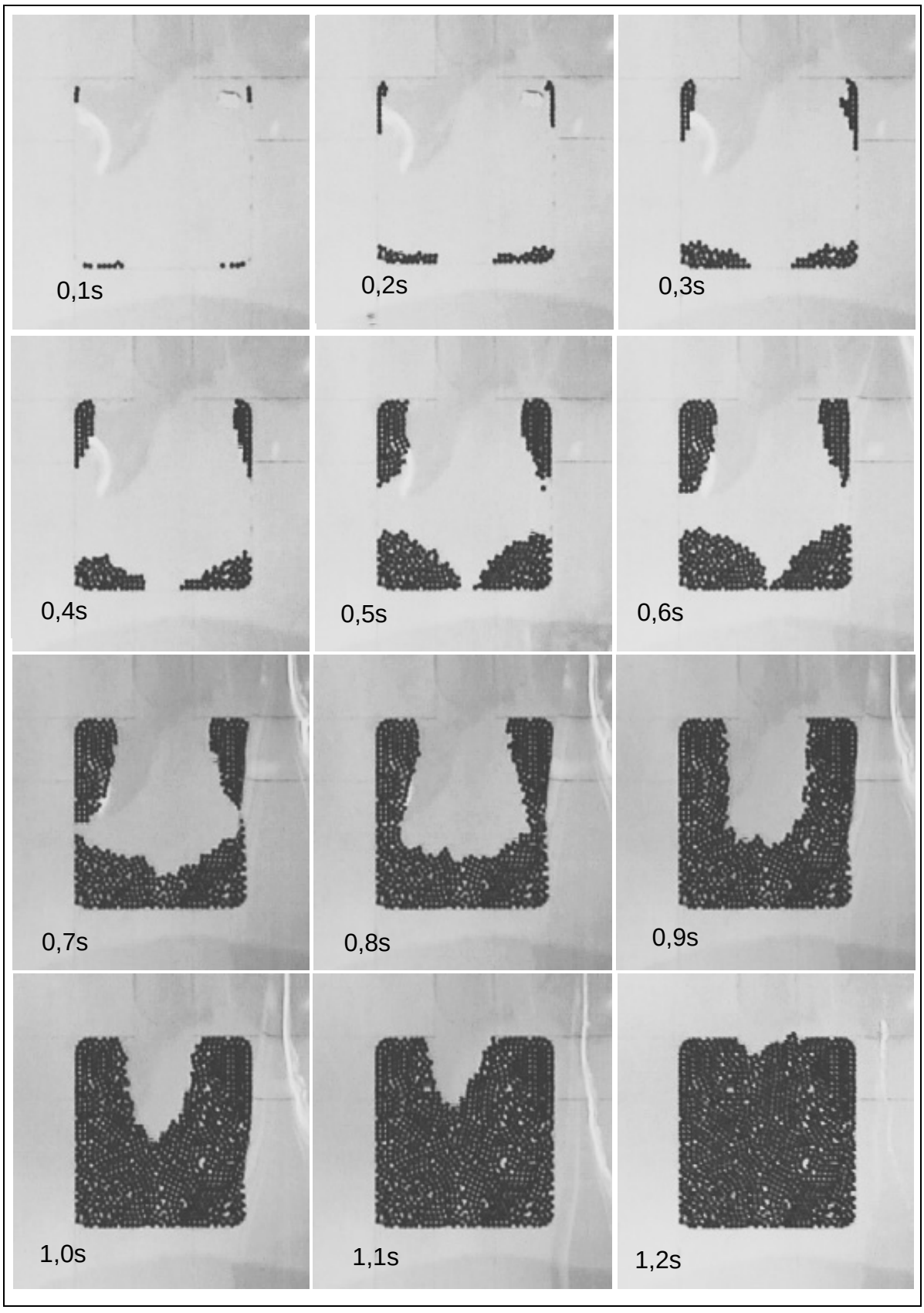


Abbildung 7.6: Filmsequenz eines Befüllvorganges der Analysekammer bei 10.000Pa mit einer 1%igen Beadsuspension

Bei der Analyse der Einzelbilder der Befüllsequenz zeigen sich Defekte wie Korngrenzen und Versatzlinien in der Schüttung (Kapitel 5), sodass keine vollständige hexagonale Schüttung erzielt wird. Ferner bilden sich Bereiche mit kubischer Schüttung aus (obere Ecken, Auslaufzonen 1 und 2, Abbildung 7.7). Daher wird die theoretische, maximale Befüllung der Kammer mit ca. 1300 Beads nicht erreicht. Experimentell werden mit diesem Design des mikrofluidischen Probenträgers im Schnitt 90% Befüllungsgrad erreicht /Kuh_03/.

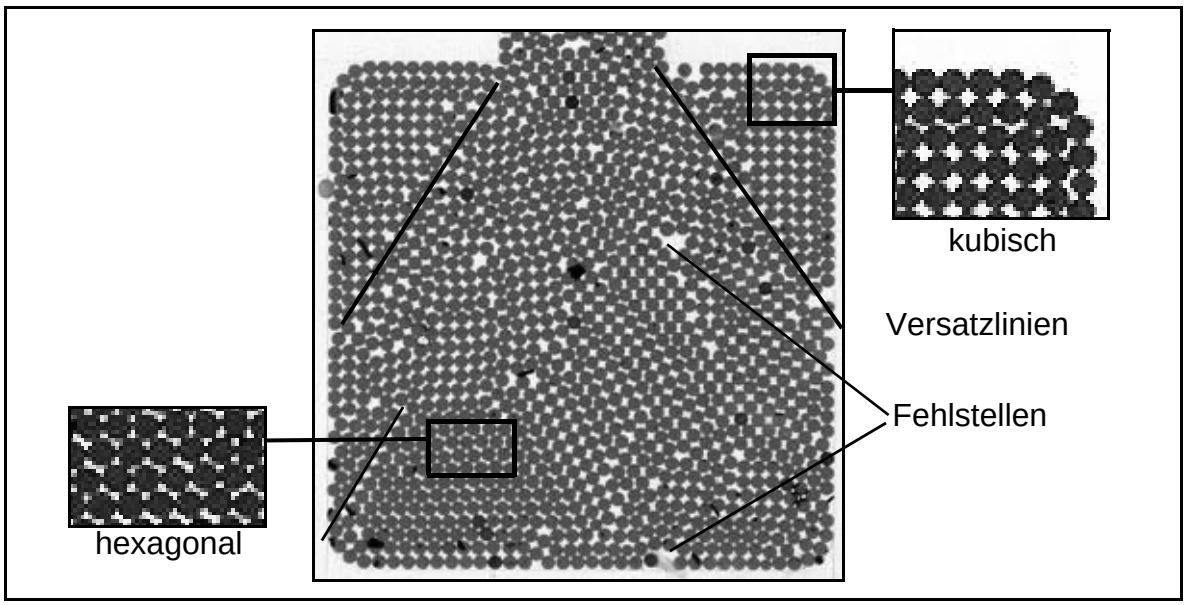


Abbildung 7.7: Schüttung von Beads in einer Analysekammer. Hexagonale, kubische Bereiche, Versatzlinien und Fehlstellen sind exemplarisch hervorgehoben

Eine Migration von Beads aus den Aggregationsbereichen vor den Auslaufzonen 1 und 2 nach unten zu den Aggregationsbereichen vor den Auslaufzonen 3 und 4, ist nur vereinzelt zu beobachten und kann somit im Simulationsmodell vernachlässigt werden.

7.2.2 Vergleich der experimentellen Daten mit der Simulation

Um eine quantitative und qualitative Aussage über die Übereinstimmung der Simulationsergebnisse mit den experimentell bestimmten Daten zu treffen, wird die Analysekammer in 4 Quadranten unterteilt (die Beads lagern sich vorzugsweise vor den 4 Auslaufzonen an). Durch Vergleich der jeweiligen Gesamtanzahl der Beads mit der Anzahl der als porös markierten Zellen, wird zu den einzelnen Iterationsstufen der Simulation der korrespondierende Zeitpunkt während der realen Befüllung der Analysekammer bestimmt. Abbildung 7.8 zeigt exemplarisch eine Gegenüberstellung einer experimentellen Befüllung mit dem entsprechenden Simulationsergebnis.

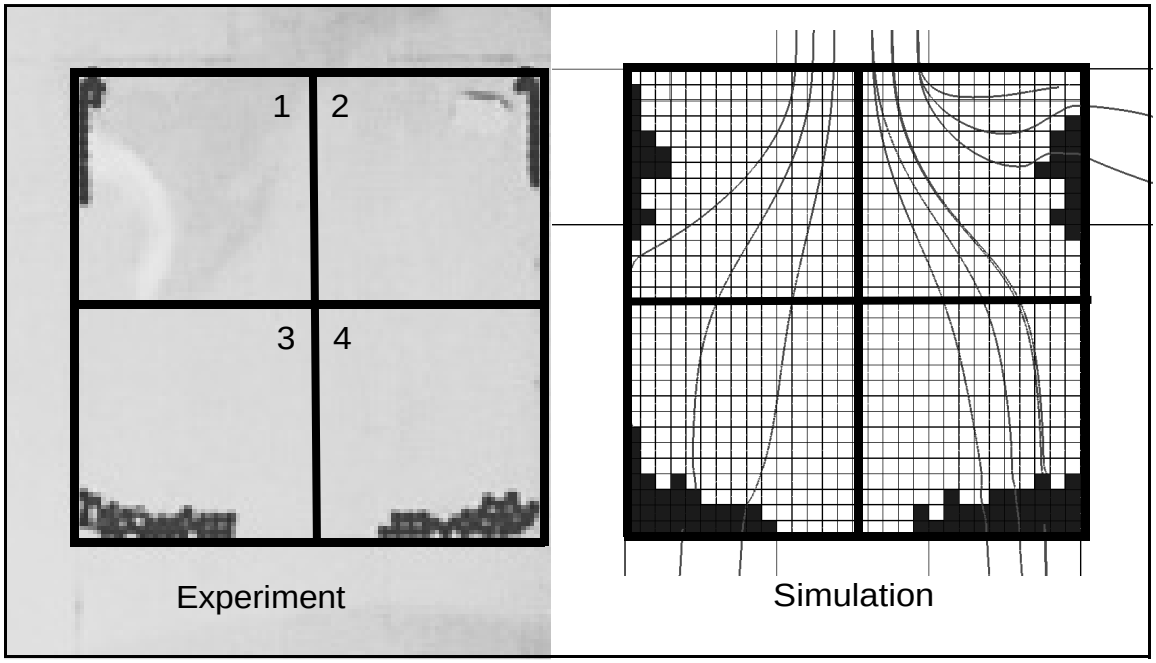


Abbildung 7.8: Quantitative Bestimmung der Befüllung der Analysekammer; links die experimentelle Befüllung, rechts das korrespondierende Ergebnis der Simulation;getrennte Auszählung der Beads in den 4 Quadranten

Durch Vergleich der Beadanzahlen in den einzelnen Quadranten mit der Anzahl der porösen Zellen in den einzelnen Quadranten wird das Simulationsergebnis evaluiert. Zur statistischen Absicherung werden 3 Experimente ausgezählt. Abbildung 7.9 führt die Ergebnisse der Auszählung der einzelnen Quadranten graphisch auf.

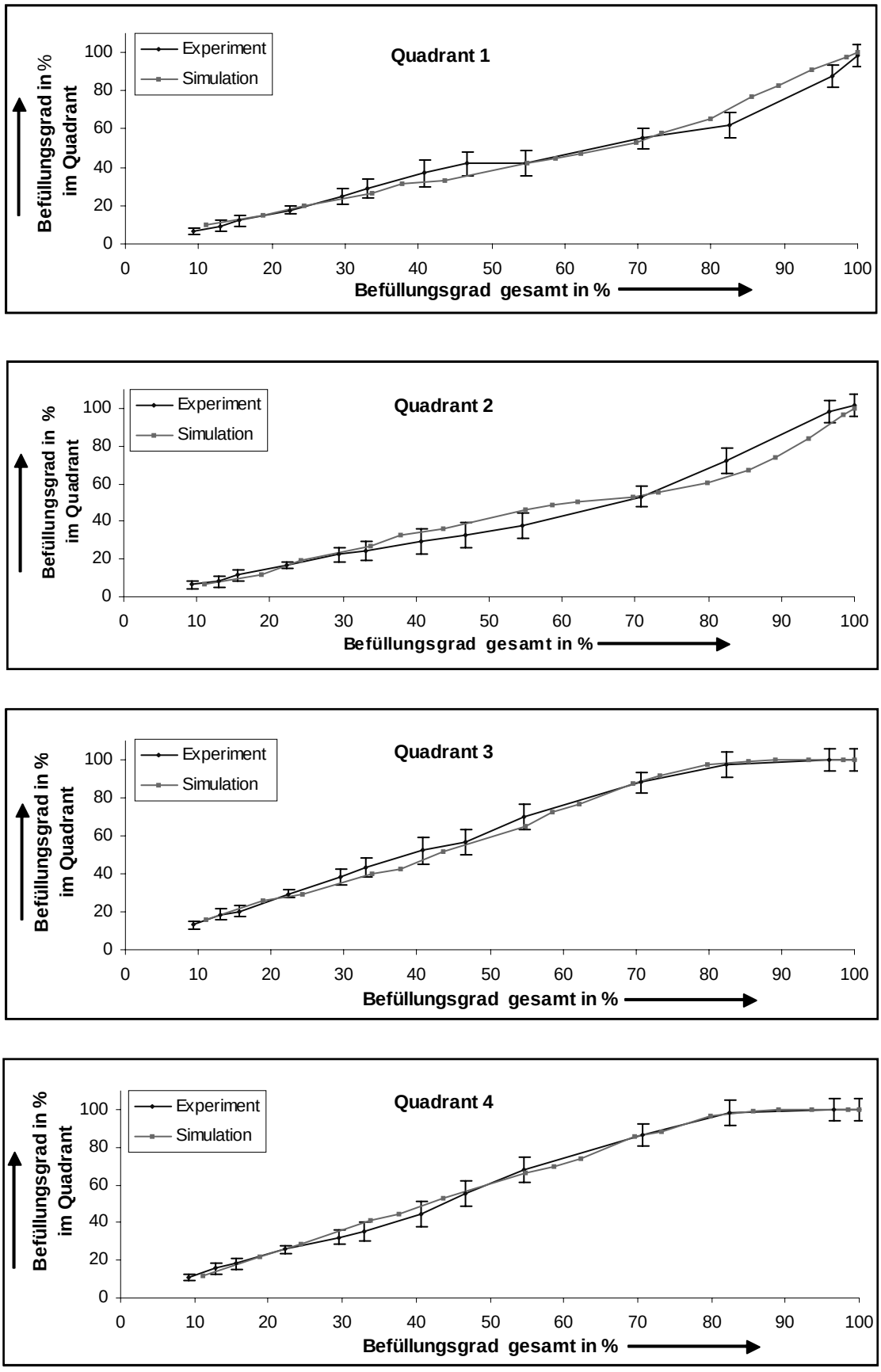


Abbildung 7.9: Verlauf der experimentellen Befüllung im Vergleich mit der simulierten Befüllung, nach Quadranten der Analysekammer aufgeteilt (s. Abbildung 7.8)

Da die Befüllung der Kammer im Experiment aufgrund von Schüttdefekten (siehe Kapitel 7.2.1) nicht vollständig ist, werden die Befüllungsgrade (in %) aufgetragen, bezogen auf die jeweilige maximale im Quadranten erreichte Beadanzahl.

Der Vergleich der Kurven der experimentellen Befüllung mit dem simulierten Befüllvorgang, zeigt eine hohe Übereinstimmung der Simulation mit dem realen Experiment. Die unteren beiden Quadranten 3 und 4 zeigen durchgehend eine hohe Übereinstimmung zwischen Experiment und Simulation.

Die Abweichungen der Kurven zwischen 30% und 60% Befüllungsgrad in den Quadranten 1 und 2 sind auf die in Kapitel 7.2.1 erwähnte erhöhte Aggregation der Beads im Quadrant 1 der Analysekammer im Experiment zurückzuführen, liegen aber noch im Bereich der Standardabweichung. Bei Füllgraden über 75% ist dagegen in der Simulation eine Bevorzugung des ersten Quadranten zu sehen, die zu der Abweichung zum Experiment beiträgt.

7.3 Diskussion und Zusammenfassung

Die Methode zur Auslegung von mikrofluidischen Bauteilen für beadbasierte Analysesysteme in der medizinischen Diagnostik besteht aus den 2 Bausteinen geometrische Auslegung und Strömungssimulation zur Evaluierung des geometrischen Designs.

Die geometrische Betrachtung basiert auf der Theorie der Aggregation von Teilchen. Die Anwendung der Gestaltungsrichtlinien hat zu einer Geometrie der Analysekammer geführt, die den Anforderungen stabile Schüttung und dichteste Packung gerecht wird. Das Modell der hydraulischen Widerstände dient dabei der Konkretisierung der Lage und Geometrie der Auslaufzonen. Der auf diese Weise konkretisierte und realisierte mikrofluidische Probenträger zeigt, dass die angesetzte Theorie dazu geeignet ist, einen funktionsfähigen mikrofluidischen Probenträger zu erhalten.

Die Experimente zur Befüllung des mikrofluidischen Probenträgers geben Hinweise darauf, dass es Schwächen im Design gibt. So kommt es zu keiner vollständigen, geordneten hexagonalen Schüttung. Durch die Wahl der 4 Auslaufzonen entstehen auch 4 Wachstumszonen, die aufeinander zuwachsen, was zu Korngrenzen führt. Ferner entsteht im Bereich der oberen Ausläufe tendenziell eine kubische Schüttung. Eine Optimierung des Designs zur Reduzierung dieser Effekte kann jedoch nicht mehr aufgrund der rein analytisch geometrischen Betrachtung erzielt werden.

Das Simulationsmodell zur Befüllung des mikrofluidischen Probenträgers als zweiter Baustein der Methode greift genau an dieser Stelle ein.

Durch die Simulation des Befüllvorgangs werden die haupsächlichen Schwachstellen des Designs deutlich. Hier zeigt sich das Anwachsen der Schüttung von 4 Bereichen aus, was auf eine Ausbildung von Korngrenzen und Versatzlinien in der Schüttung hindeutet und damit die Ausbildung einer stabilen hexagonalen Schüttung verhindert.

Weiterhin zeigt sich eine zu schnelle Befüllung der oberen beiden Quadranten, die zu einer vorzeitigen Verringerung des Einlaufquerschnittes führt.

In den Quadranten 1 und 2 kommt es zu einer ungleichen Befüllung, die nicht nur mit der zufälligen Generierung der Eintrittstellen der Beads erklärt werden kann. Vielmehr kommt es hier zu einem ungleichen Zuwachsen des Einlaufbereichs der Analysekammer vom Rand her und damit zur Verschiebung der Hauptströmungsrichtung aus der Symmetrieachse.

Die oberen Ecken von Quadrant 1 und 2 werden im Experiment deutlich schneller und besser befüllt als in der Simulation. Dies ist hier auf die Ausbildung turbulenter Bereiche in den oberen Ecken der Analysekammer und den Ecken am Übergang zwischen Einlaufzone und Analysekammer zurückzuführen, welche in der Simulation nicht abgebildet werden.

Obwohl Reibung und Impulsübertragung zwischen den Partikeln nicht berücksichtigt wird, wird die Befüllung der Analysekammer mit Beads ausreichend genau in der Simulation abgebildet, um eine weitere Optimierung des Designs abzuleiten und weitere Designmöglichkeiten zu verifizieren. Eine Änderung der Geometrie der Ausläufe kann hier zur Verbesserung der Ausbildung einer stabilen Schüttung führen. Insbesondere ist eine Verbreiterung der Ausläufe denkbar, wobei die hydraulischen Widerstände angepasst werden.

Durch das gute Zusammenspiel der beiden Bausteine der Methode wird ein Werkzeug zur Verfügung gestellt, das ohne zeit- und kostenaufwändige Herstellung von Prototypen und/oder Durchführung von Experimenten zu einem optimierten mikrofluidischen Probenträger führt.

Durch die vom Simulationswerkzeug unabhängige Programmierung der einzelnen Iterationen, lässt sich das Modell einfach an andere Geometrien von mikrofluidischen Probenträgern anpassen.

8 Zusammenfassung und Ausblick

8.1 Zusammenfassung

In der medizinischen Diagnostik gewinnen molekulare Methoden zunehmend an Bedeutung. Hierbei kommen festphasenbasierten Analyseverfahren eine besondere Bedeutung zu. Sie zeichnen sich durch hohe Parallelität, z. T. höhere Sensititivät sowie geringere Kosten aus. In dieser Arbeit wurden die festphasenbasierten Verfahren in zwei Verfahren unterschieden. Diese sind die auf planaren Probenträgern chipbasierten Verfahren und die beadbasierten Verfahren. Es wurde aufgezeigt, dass die beadbasierten Verfahren wesentliche Vorteile hinsichtlich Sensitivität, Flexibilität bei der Assayszusammenstellung sowie bei den Geräte- / Anlagenkosten aufweisen. Nachteile besitzen sie bei der möglichen Anzahl parallel durchzuführender Tests (Multiplexing). Damit sind beadbasierte Analyseverfahren prädestiniert für die medizinische Diagnostik und insbesondere für die existierenden Ansätze der Point-of-Care Diagnostik.

Anhand eines klassischen Affinitätsassay wurden die einzelnen Prozessschritte beadbasierter Verfahren analysiert. Dabei zeigte sich, dass die zentralen Funktionen der Handhabung, Prozessierung und Analyse (Detektion) in mikrofluidischen Probenträgern durchgeführt wird. Die Beads liegen dabei in Suspension vor, was bedeutet, dass in den mikrofluidischen Probenträgern eine Zweiphasenströmung vorliegt. Die Auslegung dieser Probenträger erfolgt zum heutigen Zeitpunkt (fast) ausschliesslich durch Experimente, was zu langen Entwicklungszeiten und hohem experimentellem Aufwand führt.

Basierend auf der Funktionsanalyse wurde ein vereinfachtes Modell eines mikrofluidischen Probenträgers, bestehend aus den Bereichen Einlaufzone, Analysekammer sowie Auslaufzone eingeführt. Anhand dieses Modells wurden die mikrofluidischen Randbedingungen analysiert und Anforderungen an eine Methode zur Auslegung mikrofluidischer Probenträger abgeleitet. Zwei zentrale Aufgabenstellungen wurden dabei identifiziert. Diese waren zum einen das Erzielen einer stabilen und damit reproduzierbaren Schüttung in der Analysekammer, zum anderen die Abbildung des Strömungsverhaltens der Beadsuspension unter Berücksichtigung des dynamischen hydraulischen Widerstandes aggregierender Beads. Für diese Aufgabenstellungen wurde der Stand der Technik recherchiert. Zur Erzielung einer stabilen Schüttung wurde eine Analogie zwischen der Bildung von Kristallstrukturen und dem Wachsen einer Beadschüttung aufgezeigt.

Aufbauend auf diesen Erkenntnissen wurden geometrische Betrachtungen angestellt, die anschliessend bei der Konzeption und Realisierung eines mikrofluidischen Probenträgers einflossen. Das Modell der hydraulischen Widerstände dient dabei der Konkretisierung der Lage und Geometrie der Auslaufzonen.

Zur Abbildung der Strömungsvorgänge wurden Voruntersuchungen mit den existierenden Modellen zur Berechung von Zweiphasenströmungen durchgeführt. Weder mit dem Euler-Euler-Verfahren, dem Euler-Lagrange-Verfahren, dem DPD-Verfahren, noch mit dem Ansatz des Moving Body Constraints konnten die Vorgänge in der Analysekammer abgebildet werden. Eine weitere Möglichkeit der Abbildung des hydraulischen Widerstandes von Schüttungen wurde mit dem von Darcy erforschten und entwickelten Modell zur Berechnung des Widerstandes von Strömungen durch poröse Medien identifiziert.

Durch Kombination des Euler-Lagrange-Verfahrens zur Berechnung der Fluidtrajektorien in der Einlaufzone, der Analysekammer sowie der Auslaufzone, mit dem Berechnungsmodell für die Strömung durch poröse Medien, wurde ein Gesamtkonzept entwickelt. Das Gesamtkonzept berücksichtigt neben den Fluidtrajektorien auch den als Funktion der Zeit wachsenden hydraulischen Widerstand in der Analysekammer. Dieses mikrofluidische Gesamtmodell wurde in dem Simulationswerkzeug FIDAP in Kombination mit GAMBIT, zur Erstellung der Simulationsgeometrie, abgebildet. Zur Bestimmung des Einzelparameters: "Porösität einer Beadschüttung" wurde ein spezieller Testkörper sowie eine Versuchsplattform konzipiert und realisiert. Diese Versuchsplattform wurde im Folgenden auch zur Verifikation des Gesamtmodells eingesetzt.

Die Verifikation des Simulationsmodells wurde durch Abgleich der Simulationsergebnisse mit realen Befüllungsergebnissen durchgeführt. Hierzu wurde die Analysekammer des zuvor konzipierten und realisierten mikrofluidischen Probenträgers in 4 gleich große Quadranten unterteilt. Zu unterschiedlichen diskreten Befüllungszeitpunkten wurde sowohl die Gesamtzahl der Beads in der Analysekammer als auch deren Verteilung auf die 4 Quadranten bestimmt. Die zugehörigen Abbildungen mit der jeweils gleichen Anzahl an Beads wurden in den Simulationsstudien ermittelt. Der Vergleich der Beadverteilungen in den 4 Quadranten diente als Maß für die Übereinstimmung zwischen Simulationsstudie und Experiment.

Damit wurde der Nachweis erbracht, dass die Abbildung von Zweiphasenströmungen in mikrofluidischen Probenträgern für die beadbasierte medizinische Diagnostik, basierend auf einer Kombination aus Euler - Lagrange und "Porösen Medien", möglich ist.

Bei der Durchführung der Experimente wurden Schwachstellen des Designs des mikrofluidischen Probenträgers offensichtlich, die bei einer rein analytisch geometrischen Auslegung nur mit hohem experimentellem Aufwand beseitigt werden können.

Das Simulationsmodell zur Evaluierung des Bauteildesigns zeigte die Schwachstellen ebenso auf. Damit können abgeänderte Bauteildesigns ohne experimentellen Aufwand evaluiert werden.

8.2 Ausblick

Die beschriebene Methode leistet einen Beitrag zur effizienteren Auslegung von mikrofluidischen Bauteilen für Zweiphasenströmungen. Aufgrund des speziellen Einsatzgebietes ist die entwickelte Methode zunächst beschränkt auf zweidimensionale Monolagen. Die Ausdehnung der Methode auf dreidimensionale Aggregationsvorgänge sowie auf Anwendungen bei denen zusätzlich zur Strömung weitere Effekte, z. B. Zentrifugalkräfte auftreten, erscheint sinnfällig und notwendig. Dies gilt insbesondere vor dem Hintergrund, dass die Entwicklung von Bio-Disk Systemen, bei denen im CD-Format Zentrifugations-Vorrichtungen /Bre_03/, /Gus_04/ zum Einsatz kommen, vorangetrieben wird. Bei der Durchführung erster realer Assays /Gru_05/ wurden hierbei weitere Effekte wie Luftblasen oder aufgrund der Toleranz des Beaddurchmessers auftretende geringfügige Abweichungen von der Monolage festgestellt. Beim Einsatz kleinerer Beads wurden Auswirkungen von Adhäsionskräften beobachtet. Abhängig vom Ergebnis einer Sensitivitätsanalyse des Bauteildesigns hinsichtlich dieser Effekte kann deren Berücksichtigung in dem Simulationsmodell das Ziel weiterführender Arbeiten darstellen.

In der vorliegenden Arbeit wurde der Nachweis erbracht, dass aggregierende Beads als poröses Medium entsprechend klassifiziert werden können und dass die Bestimmung des Porösitätswerts k aufgrund der geometrischen Dimension stattfinden kann. Weitere Untersuchungen bezüglich der Klassifikation und das Anlegen einer anwendungsbezogenen Bibliothek sind notwendig, um den breiten Einsatz von Simulationswerkzeugen zur Auslegung mikrofluidischer Probenträger für beadbasierte Analysesysteme in der medizinischen Diagnostik zu ermöglichen.

9 Summary

Method for designing microfluidic parts for bead based analytical systems in medical diagnostics

Molecularbiological techniques are increasingly important in the fields of medicine, pharmaceutics and biology. Affinity based techniques use highly specific molecular interactions between two molecules, like binding of antigens by antibodies or complementary DNA strands. Detecting whether targets have bound to the probes or not is done in most cases with fluorescent labels.

In medical diagnostics the miniaturisation of affinity assays, based on proteins or nucleic acids is a major goal. First miniaturized assay systems, based on molecularbiological techniques, are commercially available. However, these systems are made for the analysis of a limited number of parameters and are demanding ín use. Advanced miniaturised, highly integrated test systems, so called "miniaturised total analysis systems" (µ-TAS) are in development. These systems are able to integrate process steps such as washing, detection, liquid handling etc..

Major components of these systems are solid phase analysis systems, where the solid phase consists either of a planar surface or of a number of small particles or beads.

In medical diagnostics the number of different parameters to be tested in physical examination will be in the low-density area. Moreover, the tests are carried out using nucleic acids as well as proteins (antigen-antibody). Apart from the amount of parameters, the system has to provide a very high flexibility concerning the composition of the parameters tested. These requirements are met by bead based detection systems. Beads or microspheres are made of polymers or glass and have diameters from a few microns up to several hundred microns. In order to carry out an analysis of multiple parameters in parallel (multiplexing) bead classes are used. These bead classes are identified with the help of colour or fluorescent colour. The detection of the bead classes as well as the signal of the fluorescent label is carried out with state of the art technology. These are FACS devices or CCD-cameras, where the beads are presented to the CCD camera with the help of microfluidics.

The handling of the beads is done with the help of microfluidic parts. The production

of these microfluidic parts is costly, since expensive production technologies such as etching technologies are used. However, the system depends on the error free functioning of the microfluidic part, which leads to intensive validiation procedures of the part design. This is usually done by means of experimenal evaluation of prototypes, since simulation tools have their limitations simulating two phase flows. Hence, the design phase of microfluidic parts is time consuming and cost intensive.

An integrated method, for the design and validiation of the microfluidic parts is missing.

For this reason, the objectives for this research project are to develop a method for the design and validation of microfluidic parts for bead based analytical systems for the use in medical diagnostics.

Therefore the field of application "bead based immunoassay" as a typical application within medical diagnostics was subjected to a comprehensive analysis. The specific process steps such as washing and detection were listed as well as determination of the number of different targets. Based on the analysis of these general requirements an abstract model of a microfluidic sample carrier was introduced. This sample carrier consists of 3 different areas; the inlet zone, the analytic chamber and the outlet zones. Furthermore, the general requirements arising from the field of application were broken down into these 3 areas.

It was shown, that the analytic chamber plays a crucial role. It has to ensure that the beads aggregate in a stable, reproducable order. Due to the aggregation of the beads within the analytic chamber, the microfluidic design of the sample carrier has to ensure a reliable filling of the analytic chamber without blocking the inlet zone and ensuring a completely full analytic chamber.

As a result, the fluidic constraints and boundary conditions were analysed. It has been derived, that the fluidic conditions could be simplified as a laminar, stationary fluidic problem. Moreover a hydraulic resistance model was introduced, describing the abstract model of the sample carrier. Due to the simplification of the fluidic conditions it was shown, that all parameters of the hydraulic resistance model can be determined through the geometric dimensions of the inlet zone, analytic chamber and outlet zones, except the dynamic increase of the hydraulic resistance caused by the aggregation of the beads within the analytic chamber. This analysis of the requirements and the fluidic constraints has led to the two key aspects of the development work:

- basic geometric design of the microfluidic sample carrier to achieve a stable

and reproducable arrangement of the beads within the analytic chamber

- development of a simulation model to test the fluidic design, taking the dynamically increasing hydraulic resistance due to the aggregation of beads into account.

Due to the analogy between the formation of crystals in material science and the aggregation of beads within the analytic chamber, rules and geometric constraints were analysed in terms of the cubic and hexagonal structure of crystals.

To create a simulation model, which takes the dynamically increasing hydraulic resistance due to the aggregation of beads into account, the different methods to create a model of a two phase flow were analysed. These were the Euler-Euler, the Euler-Lagrange, the DPD model and the moving body constraint. In addition the model to simulate the flow of a fluid through a porous media, by the equation of Darcy and Forchheimer, was analysed. Subsequently different simulation tools were described, according to the aformentioned models.

Based on the design rules derived from the formation of crystals, two different geometric designs of the analytic chamber were developed and discussed. The orthogonal rectangular chamber will lead to a hexagonal structure of the aggregated beads whereas the flipped rectangular chamber will lead to the cubic structure. Since the hexagonal structure results in a higher filling rate of the chamber and a more stable bead aggregation, it was decided to choose this design for the analytic chamber.

Based on the abstract model of the hydraulic resistances, the design of the rectangular orthogonal chamber and the available beads with a diameter of 176µm, a microfluidic sample carrier was developed. This microfluidic sample carrier has an inlet zone, connecting the macro-world to the micro-world of the analytic chamber. The analytic chamber has a width and length of 6mm*6mm and a depth of 200µm. Moreover it has two outlets on the opposite side of the inlet zone and two on the upper side of the analytic chamber. Due to the different length of the outlet zones a main flow direction was defined from the inlet zone to the opposing outlet zones.

For validation purposes regarding the design of the microfluidic sample carrier, a simulation model was developed. Based on pre-tests with the Euler-Euler and Euler-Lagrange model, it was decided to simulate the two phase flow with the help of Euler-Lagrange. Since Euler-Lagrange handles particles as a 0-dimensional source of mass and heat, the bead aggregation cannot be taken into account. Therefore the Euler-Lagrange-Model was combined with the model of porous media. Thereby the

Euler-Lagrange model is used to determine the trajectories of the beads within the inlet zone and the analytic chamber. The dynamically increasing hydraulic resistance within the analytic chamber, due to the aggregation of the beads, is modelled by a growing porous media.

Based on the features of the simulation tools, FIDAP, in combination with GAMBIT from Fluent inc. was chosen as simulation tool. GAMBIT defines the geometric conditions before the fluidic simulation performed by FIDAP starts.

For the simulation of the two phase flow in FIDAP several specific parameters had to be defined. These are the diameter d_{Bead} of the beads, the porosity ϕ for the hexagonal structure and an α- parameter, which adapts the Navier Stokes equation with the equation of Darcy.

The diameter of the beads is 176µm, the porosity was defined with ϕ=0,48 and the α- parameter is defined to $\alpha=\eta / \eta_e$, with η as viscosity of the fluid and η_e as effective viscosity of the fluidic area within the porous medium. The α-parameter and η_e have to be determined by comparing experimental results with simulation data. Therefore a microfluidic test chip as well as a fluidic test platform, able to be connected to the microfluidic test chip and to the microfluidic sample carrier, was designed and built. Simulation runs were conducted with different values of η_e (0,0001Pas to 1Pas), 19 different α-parameters (0,0001 to 100.000) and different heights of porous media within the test chip, beginning with one row of beads up to 110 rows of beads. Based on flow rates the obtained simulation data was compared with corresponding experimental results. A very good coincidence of simulation data with experimental results could be obtained with η_e = 0,1Pas and α = 0,01. Hence, these parameters have been defined for all other simulation runs.

Subsequently the simulation model, comprising the Euler-Lagrange model and the model of porous media was created.

Since the geometric conditions change by the increasing porous media through the aggregation of the beads, GAMBIT and FIDAP has to be restarted after a number of beads simulated. For these purposes, an external program is needed which defines the new geometric conditions before each of the new fluidic simulation runs. Therefore a specific transformation zone inside the analytic chamber was defined. At the geometric position where the bead trajectories computed by FIDAP cut the transformation zone a cell of porous media is inserted into the analytic chamber. On the base of these data a new geometric condition for the following simulations is defined by GAMBIT.

The external program, calculating the positions where additional porous media is inserted in the analytic chamber, loading the new geometric model from GAMBIT into FIDAP and starting the next simulation run, was written in JAVA. Additionally, an algorithm was integrated avoiding the possible formation of strings of porous cells. A complete filling of the analytic chamber was achieved with this simulation model. At each of the outlet zones, the porous medium starts to grow. Hence, the filling of the analytic chamber starts at 4 different positions simultanously.

In order to verify the simulation results, filling experiments were carried out using a microfluidic sample carrier with the same design as used in the simulation runs. Likewise, in the simulation, aggregation of the beads starts at the 4 outlets simultanously. Moreover hexagonal as well as cubic formations of the aggregated beads could be identified. Particularly at the outlet zones close to the inlet the cubic formation occured. In areas where the aggregated beads of the 4 different zones come into touch with each other, defects of the formation were identified. A filling rate of approximately 90% of the analytic chamber was achieved.

The simulation model has been validated by comparing the experimental results, obtained by filling the microfluidic sample carrier, and the simulation data. Therefore, the analytic chamber was divided into 4 quadrants of same size, each of them having one of the outlet zones. Based on the filling rate the corresponding data sets of the experimental filling and the simulated filling of the analytic chamber were determined. Next, the distribution of the beads to the four quadrants was compared. The simulation model showed a high correlation with the experimental data.

It was proved that, based on the model of the hydraulic resistance in combination with the design rules for the formation of stable, reproducible bead aggregations, a general geometric design for the microfluidic sample carrier can be achieved. This design can be validated with the help of a simulation model integrating the two phase flow as well as the increasing hydraulic resistance within the analytic chamber due to the aggregation of the beads.

In summary, a method has been developed allowing the design of microfluidic parts for bead based analytic systems in medical diagnostics without intensive experimental testing and evaluations.

10 Literaturverzeichnis

/Are_00/	[1]	Arenkov P, Kukhtin A, Gemmell A, Voloshchuk S, Chupeeva V, and Mirzabekov A. Protein microchips: use for immunoassay and enzymatic reactions. 2000. Anal Biochem 278: 123-131
/Ask_96/	[2]	Askeland, DR. Materialwissenschaften: Grundlagen, Übungen, Lösungen. Aus dem Amerikan. von Fahland W und Holzhäuser W.1996. Spektrum, Akademischer Verlag Heidelberg
/Aff_04/	[3]	URL: http://www.affymetrix.com, 2004 (Stand 11/2004)
/Ben_01/	[4]	Benoit V, Steel A, Torres M, Yu Y, Yang H, and Cooper J. Evaluation of Three-Dimensional Microchannel Glass Biochips for Multiplexed Nucleic Acid Fluorescence Hybridization Assays. 2001. Anal Chem, 73: 2412-2420
/Bie_01/	[5]	Bier FF and Kleinjung F. Feature-size limitations of microarray technology - a critical review. 2001. Fresenius´ Journal of Analytical Chemistry, 371(2): 151-156
/Bio_05/	[6]	URL: http://www.biosite.de/02_08.php (Stand 2/2005)
/Bor_00/	[7]	Borrebaeck CA. Antibodies in diagnostics - from immunoassays to protein chips. 2000. Immunol Today, 21(8): 379-82
/Bre_02/	[8]	Brenan CJ. DNA-based molecular lithography for nanoscale fabrication. 2002. IEEE Eng Med Biol Mag, 21(6): 164
/Bre_00/	[9]	Brenner S, Johnson M, Bridgham J, Golda G, Lloyd DH, Johnson D, Luo S, McCurdy S, Foy M, Ewan M, Roth R, George D, Elitr S, Albrecht G, Vermaas E, Williams SR, Moon K, Burcham T, Pallas M, DuBridge RB, Kirchner J, Fearon K, Mao J, and Corcoran K. Gene expression analysis by massively parallel signaturesequencing on microbead arrays. 2000. Nature Biotechnology, 18: 630 - 634
/Bre_03/	[10]	Brenner T, Zengerle R and Ducrée J. A Flow-Switch Based on Coriolis Force. 2003. Proceedings of µTAS, October 2003 in Lake Tahoe, USA
/Bro_89/	[11]	Bronstein, IN and Semendjajew, KA. Taschenbuch der Mathematik, 24. Auflage. 1989. Verlag Nauka, Moskau BSB B. G. Teubner Verlagsgesellschaft, Leipzig
/Bur_02/	[12]	Buranda T, Huang J, Pérez-Luna V , Sklar L and Lopez**.** Biomolecular recognition on well characterized beads packed in microfluidic channels. 2002. G Anal Chem, 74: 1149-1156
/But_00/	[13]	Butler JE. Solid supports in enzyme-linked immunosorbent assay and other solid-phase immunoassays. 2000. Methods 22: 4-23
/Cah_01/	[14]	Cahill DJ. Protein and antibody arrays and their medical applications. 2001.J Immunol Methods, 250: 81-91
/Cha_87/	[15]	Chan DW and Perlstein MT, (Eds.). Immunoassay: A Practical Guide. 1987. Academic Press San Diego

/Cho_02/ [16] Choi W, Oh KW, Thomas JH, Heineman WR, Halsall H B, Nevin JH, Helmicki AJ, Henderson HT and Ahn CH. An Integrated Microfluidic Biochemical Detection System for Protein Analysis with Magnetic Bead-Based Sampling Capabilities. 2002. Lab on a Chip, 2, (1): 27-30

/Cro_98/ [17] Crowe C, Sommerfeld M and Tsuji Y. Multiphase flows with droplets and particles. 1998. CRC Press

/Cza_97/ [18] Czarnik AW. Encoding methods for combinatorial chemistry. 1997. Curr Op in chem biol, 1: 60-66

/Cza_98/ [19] Czarnik AW. Illuminating the SNP genomic code. 1998. Modern Drug Discovery, 49-55

/Dar_56/ [20] Darcy H. Les Fontaines Publiques de la Ville de Dijon. 1856. Dalmont, Paris

/Die_93/ [21] Dietmann H. Werkstofftechnik, Vorlesungsmanuskript. 1993. Lehrstuhl für Materialprüfung, Werkstoffkunde und Festigkeitslehre. Stuttgart SS

/Dob_03/ [22] Dobmeier M. Hydrodynamischer Aufbau von Monolagen aus Bead-Suspensionen in mikrofluidischen Kammern. 2003. Diplomarbeit IMTEK / IPA, Freiburg, Stuttgart

/Duc_04/ [23] Ducreé J und Zengerle R. Microfluidics. 2004. Springer: Heidelberg, Berlin

/Erm_03/ [24] Ermanni P. Die Verarbeitung von FV-Duroplasten. Zürich, Eidgenössische Technische Hochschule, Vorlesungsskript. Online im Internet, URL:http://www.structures.ethz.ch/education/vertiefung/kernfaecher/composite/151-0307-V3.0-K03__Verarbeitung_von_FV-Duroplasten_.pdf [Stand 17.06.2004]

/Esp_97/ [25] Espanol P, Serrano M, und Zuniga I. Coarse graining of fluids and its relation with dissipative particle dynamics and smoothed particle dynamics.1997. Int. J. Mod. Phys. C, 8(4): 899-908

/Fee_03/ [26] Fee L and Fitzgerald DA, The marketplace for bead- and particle-based multiplexed assays continues its expansion. 2003. The Scientist, 17(18): 40

/Fer_00/ [27] Ferguson JA, Steemers F J and Walt DR. High-Density Fiber-Optic DNA Random Microsphere Array. 2000. Analytical Chemistry, 72: 5618

/Fit_02/ [28] Fitzgerald, DA. Riding the Microfluidic Wave. The lab miniaturization marketplace continues its expansion. 2002. The Scientist, 16(23), 40

/Ful_97/ [29] Fulton JR, McDade RL, Smith PL, Kienker LJ and Kettman JR Jr. Advanced multiplexed analysis with the FlowMetrix^{TM} System.1997. Clinical Chemistry,43: 1749-1756

/Fra_02/ [30] Frank T. 2002. Parallele Algorithmen für die numerische Simulation dreidimensionaler, disperser Mehrphasenströmungen und deren Anwendung in der Verfahrenstechnik. Habilitationsschrift, an der TU Chemnitz. Shaker Verlag, Aachen

/Fro_04/ [31] Frost and Sullivan. Point of Care Testing - Growth Opportunities in Europe. 2004. (Report B320)

/Flu_01/ [32] Fluent Inc. [Hrsg]: FIDAP 8 - FIPREP User's Manual. FIDAP-Dokumentation, März 2001

/Gab_01/ [33] Gabig M and Wegrzyn G. An introduction to DNA chips: principles, technology, applications and analysis. 2001. Acta Biochim Pol,48(3): 615-622

/Ger_98/ [34] Gerhold D and Rushmore T. DNA-Chips: promising toys have become powerful tools. 1999. TIBS, 24:168 -173

/Gru_03a/ [35] Grumann M, Schippers P, Dobmeier M, Häberle S, Geipel A, Brenner T, Zengerle R, Ducree J, Fritsche M and Kuhn C. Optimal two-dimensional aggregation of Beads in flat microfluidic chambers-simulation, experimental results and comparison of the crystal lattice theory. 2003. Proceedings of Nanotech Conference, Montreux

/Gru_03b/ [36] Grumann M, Schippers, P.; Dobmeier, M, Häberle, S, Geipel, A, Brenner, T, Zengerle, R, Ducrée, J, Kuhn, C. and M. Fritsche M. Formation of Monolayers by Flow of Bead Suspensions into Flat Microchambers. 2003. Proceedings of ASME International Mechanical Engineering Concress: Washington D.C. (USA)

/Gru_03c/ [37] Grumann M, Schippers P, Dobmeier M, Häberle S, Geipel A, Brenner T, Zengerle R, Ducree J, Kuhn C and Fritsche M. Stacking of beads into monolayers by flow through flat microfluidic chambers. 2003. Proc MicroTec, Munich, Germany, Berlin : VDE-Verlag, 545-550

/Gru_05/ [38] Grumann M, Riegger L, Nann T, Riegler O, Ehlert O, Mittenbühler K, Urban G, Pastewka L, Brenner T, Zengerle R, Ducree J. Parellization of chip-based fluorescence immuno-assays with quantum-dot labelled beads. 2005. Tansducers 05: International Conference on Solid State Sensors, Actuators and Microsystems in Seoul, Korea. Paper accepted

/Guo_02/ [39] Guo Z and Zhao TS. Lattice Boltzmann model for incompressible flows through porous media. 2002. The American Physical Society, Physical Review E 66, 036304

/Gus_04/ [40] Gustafsson M, Hirschberg D, Palmberg C, Jornvall H and Bergman T. Integrated sample preparation and MALDI mass spectrometry on a microfluidic compact disk. 2004. Anal Chem, 76(2): 345-350

/Han_01/ [41] Han M, Gao X, Su JZ and Nie S. Quantum-dot-tagged microbeads for multiplexed optical coding of biomolecules. 2001. Nat Biotechnol, 19(7): 631-635.

/Hen_98/ [42] Hennion MC and Barceló D., Strengths and limitations of immunoassay for effective and efficient use for pesticide analysis in water samples: A review. 1998. Anal Chim Acta, 362: 3-34

/Ho_04/ [43] Ho, CA. Modellierung der Partikelagglomeration im Rahmen des Euler/ Lagrange-Verfahrens und Anwendung zur Berechnung der Staubabscheidung im Zyklon. 2004. Dissertation an der Mathematisch-Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

/Hie_03/ [44] Hierlemann O, Brand C, Hagleitner H and Baltes H. Microfabrication techniques for chemical/biosensors. 2003. Proc. IEEE, 91: 839-863

/Hoo_92/ [45] Hoogerbrugge P und J Koelmann J. Simulating microscopic hydrodynamic phenomena with dissipative particle dynamics. 1992. Europys. Lett., 19(3):155-160

/Hua_02/ [46] Huang Y, Mather EL, Bell JL and Madou M. MEMS-based sample preparation for molecular diagnostics. 2002. Anal Bioanal Chem, 372(1):49-65

/Hui_03/ [47] Huikko K, Kostiainen R and Kotiaho T. Introduction to micro-analytical systems: bioanalytical and pharmaceutical applications. 2003. European Journal of Pharmaceutical Sciences 20(2): 149-171

/i-st_05/ [48] URL: http://www.i-stat.com/products/analyzers.asp (Stand 2/2005)

/Jan_97/ [49] Janeway CA and Travers P. 1997. Immunologie, 2. Aufl. Spektrum Akadem. Verl. Heidelberg

/Joo_02/ [50] Joos TO, Stoll D and Templin MF. Miniaturised multiplexed immunoassays. 2002. Current Opinion in Chemical Biology, 6(1):76-80

/Jos_04/ [51] Joseph DD. URL: http://www.aem.umn.edu/Solid-Liquid_Flows/ (Stand 11/04)

/Joy_02/ [52] Jocelyn H, Ng JM, Leodevico L, Ilag. Biomedical applications of protein chips. 2002. J Cell Mol Med. 6(3): 329-340

/Kas_97/ [53] Kasahara Y and Ashihara Y. Simple devices and their possible application in clinical laboratory downsizing. 1997. Clin Chim Acta, 267(1): 87-102

/Kat_01/ [54] Katsuma S and Tsujimoto G. Genome medicine promised by microarray technology. 2001. Expert Rev Mol Diagn, 1(4):377-382

/Kev_02/ [55] Braeckmans K, De Smedt SC, Leblans M, Pauwels R and Demeester J. Encoding microcarriers: present and future technologies. 2002. Nature Reviews Drug Discovery, 1: 447-456

/Kha_02/ [56] Khandurina J, Guttman A. Bioanalysis in microfluidic devices. 2002. J Chromatogr. 943:159-183

/Kop_97/ [57] Kopp MU, Crabtree HJ, Manz A. Developments in technology and applications of microsystems. 1997. Curr Opin Chem Biol, 1(3): 410-419

/Kri_97/ [58] Kricka LJ. The future of point-of-care testing. 1997. Clinical Chemistry, 43: 75

/Kri_98/ [59] Kricka LJ. Miniaturization of analytical systems. 1998. Clinical Chemistry, 44: 2008-2014

/Kuh_00/ [60] Kuhn C, Dobler, H, Lindner H and Weimer, A. Trends and Solutions in Microarray Production. 2000. Bioforum Int, 4: 12-14

/Kuh_01/ [61] Kuhn C, Kiener S and Fritsche M. Fluidic Microchip for Bead-based Assay Systems. 2001. Proceedings MipTec 2001, Basel, Switzerland

/Kuh_03/ [62] Kuhn C, Fritsche M, Kiener S, Stähler C, Stähler F and Stähler P. Fluidic Microchip for bead based Assay Systems. 2003. Bioforum International, 2:92-94

/Kus_91/ [63] Kussmaul K. Manuskript zur Vorlesung Werkstoffkunde I. 1991. Staatliche Materialprüfungsanstalt Stuttgart, SS

/Lan_91/ [64] Landau , LD and Lifschitz, EM. Lehrbuch der theoretischen Physik. 1991. 10 Bde.. Band 6 Hydrodynamik. 5. überarbeitete Auflage, 1991, Berlin Akademie Verlag

/Let_03/ [65] Lettieri G, Verpoorte E and de Rooij N. Affinity-based Bioanalysis using freely moving Beads as Matrices for heterogeneous Assays. 2001. µTas, 503 - 504

/Lio_03/ [66] Lion N, Rohner TC, Dayon L, Arnaud IL, Damoc E, Youhnovski N, Wu ZY, Roussel C, Josserand J, Jensen H, Rossier JS, Przybylski M, Girault HH. Microfluidic systems in proteomics ELECTROPHORESIS (2003) 24(21): 3533-3562

/Lut_03/ [67] Luthy T. Permeabilitätsmessungen. 2003. Zürich, Eidgenössische Technische Hochschule, Praktikumsaufgabe. URL: http:// www.imes.ethz.ch/st/teaching/fachvertiefung/composites/praktikum3/30-307-P3.pdf [Stand 12.06.2003]

/Mar_00/ [68] Marx J. DNA arrays reveal cancer in its many forms. 2000. Science, 289: 1670-1672

/Men_99/ [69] Mendoza LG, McQuary P, Mongan A, Gangadharan R, Brignac S and Eggers M. High-throughput microarray-based enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). 1999. Biotechniques, 27: 778-780

/Mül_76/ [70] Müller PC and Schiehlen WO. Lineare Schwingungen; Theoretische Behandlung von mehrfachen Schwingungen. 1976. Akademische Verlagsgesellschaft, Wiesbaden

/Ng_02/ [71] Ng JM, Gitlin I, Stroock AD and Whitesides GM. Components for integrated poly(dimethylsiloxane) microfluidic systems. 2002. Electrophoresis, 23(20): 3461-3473

/Nic_01/ [72] Nicewarner-Peña SR, Freeman G, Reiss BD, He , Peña DJ, Walton ID, Cromer R, Keating CD and Natan MJ. Submicrometer Metallic Barcodes. 2001. Science, 294: 137-141

/Ole_00/ [73] Oleschuk RD, Shultz-Lockyear LL, Harrison DJ. Trapping of Bead Based Reagents Within Microfluidic Systems: On-chip Solid Phase Extraction and Electrochromatography. 2000. Anal Chem, 72: 585

/Oli_02/ [74] Oliphant A, Barker DL, Stuelpnagel JR, Chee MS. Beadarray technology: enabling an accurate, cost-effective approach to high-throughput genotyping. 2002. Biotechniques. Suppl:56-8, 60-1.

/Pap_00/ [75] Pappas MG et al. Light-powered microchip for diagnostics, genomics and drug discovery. 2000. Luminescence Forum 6(3), 4

/Pat_02/ [76] Patton WF. Detection technologies in proteome analysis. 2002. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 771(1-2): 3-31

/Pri_97/ [77] Price CP and Newman DJ (Hrsg.). Principles and practice of immunoassay. 1997. Stockton Press, 2nd Edition, New York

/Ram_99/ [78] Ramsey JM. The burgeoning power of the shrinking laboratory. 1999. Nature Biotechnology, 17: 1061-1062

/Row_99/ [79] Rowe CA, Scruggs SB, Feldstein MJ, Golden JP and Ligler FS. An array immunosensor for simultaneous detection of clinical analytes. 1999. Anal Chem, 71: 433-439

/Rud_95/ [80] Rudden, MN and Wilson J. Elementare Festkörperphysik und Halbleiterelektronik. 1995. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford

/Sch_03/ [81] Schippers P. Entwicklung, Aufbau und Evaluierung eines Messplatzes zum Beobachten der Aggregation von Beads. 2003. Diplomarbeit IMTEK/ IPA; Freiburg, Stuttgart

/Sel_03/ [82] Selvaganapathy PR, Carlen ET and Mastrangelo CH. Recent progress in microfluidic devices for nucleic acid and antibody assays. 2003. Proc. IEEE, 954- 975

/Ste_03/ [83] Stevens PW, Wang CH and Kelso DM. Immobilized particle arrays: coalescence of planar- and suspension-array technologies. 2003. Anal Chem, 75(5): 1141-1146

/Stö_98/ [84] Stöcker H. Taschenbuch der Physik 3. Völlig überarbeitete und erweiterte Auflage 1998. Harri Deutsch: Frankfurt am Main

/Syd_03/ [85] Sydor JR, Scalf M, Sideris S, Mao GD, Pandey Y, Tan M, Mariano M, Moran MF, Nock S and Wagner P. Chip-based analysis of protein-protein interactions by fluorescence detection and on-chip immunoprecipitation combined with microLC-MS/MS analysis. 2003. Anal Chem, 75(22): 6163-6170

/Ten_00/ [86] Teng H and Zhao TS. An extension of Darcy`s law to non-Stokes flow in porous media. 2000. Elsevier Science Ltd., Chemical Engineering Science 55: 2727 - 2735

/Tij_85/ [87] Tijssen P. Practice and Theory of Enzyme Immunoassays. 1985. Elsevier Amsterdam

/Ver_03/ [88] Verpoorte E and De Rooij NF. Microfluidics meets MEMS. 2003. Proc. IEEE, 930- 953

/Ver_02/ [89] Versalovic J and Lupski JR. Molecular detection and genotyping of pathogens: more accurate and rapid answers. 2002. Trends Microbiol, 10(10 Suppl): 15-21

/Wal_00/ [90] Walt DR. Bead-based Fiber-Optic Arrays. 2000. Science 287, 451

/Wei_03/ [91] Weigl BH, Bardell RL and Cabrera CR. Lab-on-a-chip for drug development. 2003. Adv Drug Deliv Rev, 24;55(3):349-377

/Wie_01/ [92] Wiese R, Belosludtsev Y, Powdrill T, Thompson P and Hogan M. 2001. Simultaneous multianalyte ELISA performed on a microarray platform. Clin Chem, 47: 1451-1457

/Yan_03/ [93] Yang JC, Koh CG, Seul M, Cicciarelli J and Iwaki Y. Novel beadchip assay for panel reactive antibody typing. 2003. Human Immunology, 64(10), Supplement 1, 112

/Yin_03/ [94] Yingyongnarongkul BE, How SE, Diaz-Mochon JJ, Muzerelle M and Bradley M. Parallel and multiplexed bead-based assays and encoding strategies. 2003. Comb Chem High Throughput Screen, 6(7): 577-587

/You_00/ [95] Young RA: Biomedical discovery with DNA arrays. 2000. Cell ,102: 9-15

/Zhu_01/ [96] Zhu H. et al. Global analysis of protein activities using proteome chips. 2001. Science, 293: 2101-2105

11 Glossar

Affinitätsassay	Testsystem, das auf der molekularen Interaktion zwischen 2 Stoffen beruht
Analyt	Zu analysierende biologische Substanz
Antigen	Fremdkörper, gegen den der Körper spezifische Abwehrmoleküle bildet
Antikörper	Vom Körper gegen Fremdstoffe (Antigene) gebildetes Abwehrmolekül
Array	Zweidimensionale Anordnung von Sonden
DNA	Erbsubstanz
Elementarzelle	Kleinste Einheit eines Atomgitters, die alle Charakteristika eines Gesamtgitters aufweist
Enzym	Eiweiß, das biochemische Reaktionen katalysiert
Festphase	Feststoff, an den Moleküle chemisch gebunden werden
Flowcytometrie	Verfahren zur Analyse von Partikeln in einem Flüssigkeitsstrom mittels Fluoreszenz
Genomics	Forschung, die sich mit der Gesamtheit der Erbsubstanz eines Organismus beschäftigt
Immunoassay	Affinitätsassay auf der Basis von Antigen - Antikörperreaktionen
Kodierung der Beads	Kennzeichnung unterschiedlicher Beadklassen durch z. B. Farbe zur späteren Identifikation der Sonde. Grundvoraussetzung für das Multiplexing
Lab-on-a-chip	Hochintegriertes, fluidisches, miniaturisiertes Analysesystem
Liquid-Handling	Handhabung von Flüssigkeiten
Mikrotiterplatte	Standardisiertes Probenträgerformat
Molekularbiologie	Biologie die sich mit den Wechselwirkungen von (biologischen) Molekülen beschäftigt

Molekulare medizinische Diagnostik	Medizinische Diagnostik, die auf molekularbiologischen Verfahren beruht
Monolayer	Zweidimensionale Monolage von Teilchen
Multiplexing	Analyse einer Probe mit mehreren Sonden gleichzeitig
Nukleinsäuren	Bausteine der Erbsubstanz
Packungsdichte	Anzahl von Partikeln pro Volumen
Point-of-Care	Untersuchung am Gebrauchspunkt (z. B. im OP oder beim Arzt)
Probe	Zu analysierende Substanz
Protein	Eiweißmolekül
Proteomics	Forschung, die sich mit der Gesamtheit der Proteine eines Organismus beschäftigt
Serum	Flüssiger Bestandteil des Blutes
Sonde	Definiertes Molekül, das als Fänger in Affinitätsassays dient
Suspension	Mischung von Partikeln und Flüssigkeit
Trajektorien	Bewegungsbahnen von Partikeln