Mikrofluidische Komponenten für die Medizintechnik und Biotechnologie

Von der Fakultät für Maschinenbau
der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina zu Braunschweig
zur Erlangung der Würde
einer Doktor-Ingenieurin (Dr.-Ing.)
genehmigte

Dissertation

von

Dipl.-Ing. Anne Balck
aus Lahnstein

eingereicht am: 05.01.2012
mündliche Prüfung am: 21.03.2012

Referenten: Prof. Dr. rer. nat. Stephanus Büttgenbach
Prof. Dr. rer. nat. Rainer Krull
Vorsitzender: Prof. Dr. rer. nat. Andreas Dietzel

2012

Berichte aus der Mikro- und Feinwerktechnik

herausgegeben von Prof. Dr. rer. nat. S. Büttgenbach

Band 32

Anne Balck

Mikrofluidische Komponenten für die Medizintechnik und Biotechnologie

Shaker Verlag
Aachen 2012

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek
Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über http://dnb.d-nb.de abrufbar.

Zugl.: Braunschweig, Techn. Univ., Diss., 2012

Copyright Shaker Verlag 2012
Alle Rechte, auch das des auszugsweisen Nachdruckes, der auszugsweisen oder vollständigen Wiedergabe, der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen und der Übersetzung, vorbehalten.

Printed in Germany.

ISBN 978-3-8440-1011-4
ISSN 1433-1438

Shaker Verlag GmbH • Postfach 101818 • 52018 Aachen
Telefon: 02407 / 95 96 - 0 • Telefax: 02407 / 95 96 - 9
Internet: www.shaker.de • E-Mail: info@shaker.de

Jede Lösung eines Problems ist ein neues Problem.

Johann Wolfgang von Goethe

Wir haben keine Probleme, wir haben Herausforderungen!

Geflügeltes Wort im SFB578

Vorwort und Danksagung

Die vorliegende Arbeit entstand während meiner Tätigkeit als wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Mikrotechnik (IMT) der Technischen Universität Braunschweig. Sie wurde im Rahmen der Sonderforschungsbereiche 516 "Konstruktion und Fertigung aktiver Mikrosysteme" und 578 "Integration gen- und verfahrenstechnischer Methoden zur Entwicklung biotechnologischer Prozesse" von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) und im Rahmen des Verbundprojektes "Mikrosysteme für den Einsatz in Medizin- und Biotechnologie" vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) gefördert.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. rer. nat. Stephanus Büttgenbach für das entgegengebrachte Vertrauen und seine Unterstützung im Laufe dieser Arbeit. Während der Beschäftigung am IMT konnte ich hoch interessante Forschungsgebiete kennenlernen und sehr interdisziplinär arbeiten. Auch die Arbeit in der Lehre und nicht zuletzt die Möglichkeit bei Projekt- und Gerätebeantragungen sowie bei der Planung und Realisierung eines neuen Labors mitzuwirken haben mich sehr fasziniert.

Mein herzlicher Dank gilt auch Prof. Dr. rer. nat. Andreas Dietzel für die Übernahme des Vorsitzes der Promotionskommission und Prof. Dr. rer. nat. Rainer Krull für die Übernahme des Koreferats.

Das Teilprojekt T1 des Sonderforschungsbereichs 516 wurde zusammen mit dem Lehrstuhl für Mikromechanik, Mikrofluidik/Mikroaktorik der Universität des Saarlandes und der Firma Tricumed Medizintechnik GmbH durchgeführt. Hier möchte ich mich im Besonderen bei Herrn Prof. Dr. rer. nat. Helmut Seidel, Herrn Dipl.-Ing. Christian Kirsch und Herrn Dr. Volker Zacharias für die gute Zusammenarbeit bedanken.

Für die gemeinsame Arbeit im Sonderforschungsbereich 578 am Teilprojekt D2 danke ich besonders Herrn Prof. Dr. rer. nat. Stefan Dübel, Herrn Dr. rer. nat. Michael Hust, Frau Dr. rer. nat. Laila Al-Halabi und Herrn Dipl.-Biotechnol. David Fröde vom Institut für Biochemie und Biotechnologie. Dem Deutschen Roten Kreuz und ganz speziell Herrn Dr. rer. nat. Thorsten Volgmann gebühren für die Unterstützung mit Fachwissen und Buffy-Coats ganz herzlicher Dank.

Herrn Dr. Michael W. Wolff vom Max-Planck-Institut für Dynamik komplexer technischer Systeme (Magdeburg, Deutschland) danke ich für die Unterstützung bei der Entwicklung des Viruspartikel-Sensors.

Des Weiteren bedanke ich mich auch bei allen meinen Kollegen am IMT für die gute Zusammenarbeit und Unterstützung. Insbesondere möchte ich mich jedoch bei Frau Dr.-Ing. Monika Leester-Schädel und bei Frau Dr.-Ing. Monika Michalzik für die tolle Zusammenarbeit an den gemeinsamen Projekten sowie für das Korrekturlesen dieser Dissertation bedanken. Bei Herrn Dr.-Ing. Björn Hoxhold bedanke ich mich für die Unterstützung und Einarbeitung in die FGL-Technologie und Herrn Dr. Ala'aldeen Al-Halhouli für die Unterstützung mit seinem Wissen über Simulationen und partikelbeladene Fluide. Frau Bettina Thürmann gilt mein Dank für die Geduld bei der Herstellung unzähliger Quarzsensoren, Pyrexglas-Membranen, Silizium-Bodenlayern u. v. m.. Auch möchte ich Frau Matheis, Herrn Büsing, Herrn Schieseck und Frau Vierheller meinen Dank für ihren unermüdlichen Einsatz aussprechen. Auch allen Studenten, die meine Arbeit in Form von Studien-, Diplomarbeiten sowie HiWi-Tätigkeiten unterstützt haben, gilt mein Dank.

Frau Dipl.-Ing. Alexa Jordan bin ich für die schöne gemeinsame Zeit im Frauenbüro II, sowie den fruchtbaren Austausch und die Korrekturen sehr dankbar.

Von ganzem Herzen möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken, die mich schon mein ganzes Leben lang so tatkräftig und wohlwollend unterstützen.

Last but not least bedanke ich mich bei meinem Mann Peter für seine Hilfe, Geduld und seinen liebevollen Einsatz rund um die Betreuung unserer Kinder. Nur weil ich sie bei ihm in den besten Händen wusste, konnte diese Arbeit überhaupt entstehen.

Abstract

In this doctoral thesis three projects with medical and biotechnological background are presented. In these projects different micro fluidic components have been developed.

The first one described is an innovative low-energy 2–port/2–way microvalve with a bistable shape memory alloy actuator. It is especially designed to be integrated in implantable high precision dose infusion pumps typically used for patients with chronic pain. For this purpose many requirements like sterilizablility, long lifespan and an activation concept that avoid the risk of unintentional activation have to be fulfilled. As a main aim a substantial reduction of energy consumption was also achieved, because the valve only spends energy for switching and is able to keep each position without further energy supply.

The second and third project deal with sensor systems based on quartz crystal micro balance (QCM) technology. The QCM detection process consists of measuring a direct frequency shift due to a mass deposition of an analyte on the surface, therefore allowing operation without expensive markers. For both applications the QCM was embedded in a fluid system made of inexpensive and biocompatible polydimethylsiloxane. Anyway they have completely different application areas and requirements.

One sensor system is designed for point-of-care diagnostic for detection of inflammation parameters in blood serum. Therefore in addition to the quartz sensor a blood cell separation unit as well as an affinity chromatography unit were developed and optimized. All three parts were integrated in a lab-on-a-chip. The blood separation unit works without additional energy supply, because it is based on Zweifach-Fung-effect, centrifugal and dean forces. The affinity chromatography unit consists of a chamber filled with beads and is used to purify and concentrate the analyte. For this purpose the beads as well as the sensor surface have to be coated with a sensitive layer. In addition a valve system have been assembled likewise a software to control the valves and pumps to run the detection automatically.

The other sensor system is made for online product detection in influenza vaccines production. In this processes viruses are commonly quantified via offline conducted assays. In order to minimize the amount of work and time for quantification this micro sensor system was designed to quantify Mardin Darby Canine Kidney (MDCK) cell derived influenza virus particles in clarified culture broth. This sensor has a special surface-coating based on Euonymus Europaeus Lectin.

Kurzfassung

In dieser Dissertation wurden drei verschiedene Projekte („bistabiles Mikroventil auf Silizium-Basis“, „Lab-on-a-Chip für die Point-of-Care-Diagnostik“ und „Viruspartikel-Sensor“) bearbeitet und in deren Rahmen mehrere verschiedene Bauelemente entwickelt. Allen gemeinsam ist sowohl ihre Zuordnung zur Mikrofluidik als auch ihr Einsatzfeld, das sich im Bereich der Medizintechnik und Biotechnologie befindet.

Das bistabile 2/2-Wege-Mikroventil wurde mit einem Formgedächtnis-Legierungs(FGL)-Aktor realisiert und ist für den Einsatz in einer implantierbaren Medikamentenpumpe ausgelegt. Durch die Eigenschaft, dass beide Schaltzustände des Ventils (offen und geschlossen) jeweils energielos gehalten werden können und nur für den Umschaltvorgang Energie benötigt wird, ist es sehr sparsam. Dies ist gerade im Implantat-Bereich von großer Bedeutung, da dort Energie nur in sehr begrenztem Umfang zur Verfügung steht.

Die Detektionsmethoden des hier beschriebenen Lab-on-a-Chip und des Viruspartikel-Sensors basieren auf der Quarzmikrowaagen-Technologie. Diese massensensitive Nachweismethode kommt ohne kostspielige Marker aus, da der nachzuweisende Stoff direkt über Frequenzänderung detektiert wird, die durch die Anbindung an einen Quarzresonator ausgelöst wird. Hierfür wurde jeweils eine geeignete Anbindungsmethode des Zielmoleküls an den Quarzresonator gefunden und dieser in ein entsprechend den Anforderungen ausgelegtes mikrofluidisches System eingebettet.

Für das Lab-on-a-Chip wurden zusätzlich zur Quarzmikrowaage, eine Affinitätschromatographie-Kammer und eine Blutzellen-Abtrennung auf Polydimethylsiloxan-Basis entwickelt, optimiert und eingebunden. Diese Komponenten sind notwendig um eine Detektion von C-reaktivem Protein (CRP) aus Blutplasma zu ermöglichen. Die Blutzellen-Abtrennung übernimmt den Schutz des Systems vor Verunreinigung durch Blutzellen, welche Messfehler und Verstopfungen auslösen können. Die Affinitätschromatographie-Kammer bindet das CRP und ermöglicht es so die Probe von anderen Proteinen, die die Messung auf dem Sensor stören könnten, zu befreien. Durch eine Ablösung des CRP aus der Kammer in einem kleinen Volumen kann die Konzentration erhöht und somit das Detektionsminimum des Sensors verbessert werden.

Inhaltsverzeichnis

Verzeichnis der verwendeten Formelzeichen und Abkürzungen V

Formelzeichen V

Abkürzungen VIII

1 Einleitung 1

2 Mikrofluidische Grundlagen 3

2.1 Einphasenströmung 3

2.2 Mehrphasenströmung 5

3 Bistabiles Mikroventil auf Silizium/Pyrexglas-Basis 7

3.1 Einleitung 7

3.2 Theorie 7

3.2.1 Anwendung, Rahmenbedingungen und Anforderungen 7

3.2.2 Definition Bistabilität 9

3.2.3 Stand der Forschung und Technik 9

3.3 Konzept/Design/Arbeitsweise 12

3.4 Materialien und Prozesse 14

3.4.1 Formgedächtniswerkstoffe 14

3.4.2 Strukturierung von Silizium 18

3.4.3 Strukturierung von Pyrexglas 21

3.4.4 Strukturierung von Nickel-Titan-Formgedächtnislegierung 23

3.4.5 Aufbau- und Verbindungstechnik 24

3.5 Versuchsmusterprüfstände 27

3.5.1 Versuchsaufbau zur Membrancharakterisierung 27

3.5.2 Versuchsaufbau zur Bestimmung der Leckagerate in Anhängigkeit von der Kraft 28

3.5.3 Versuchsaufbau zur Charakterisierung der Formgedächtnisaktoren 31

3.6 Charakterisierung und Optimierung 33

3.6.1 Optimierung der Membranebenen 33

3.6.2 Optimierung der Ein- und Auslassebene 39
3.6.3 Optimierung des Formgedächtnis-Aktor-Designs 42
3.6.4 Energieversorgung des Formgedächtnis-Aktor-Designs 47
3.7 Zusammenfassung der Ergebnisse und Ausblick 48
4 Mikrofluidische Komponenten auf Polydimethylsiloxan-Basis 51
4.1 Einleitung 51
4.2 Material und Prozesse 51
4.2.1 Replikatformen 51
4.2.2 Quarzresonator 54
4.2.3 Strukturierung von Glas 55
4.2.4 Verbindungstechnik 56
4.3 Bluttrennung im Mikromaßstab 57
4.3.1 Theorie 57
4.3.2 Anwendung, Rahmenbedingungen und Anforderungen 61
4.3.3 Stand der Forschung 62
4.3.4 Umsetzung unter Nutzung des Zweifach-Fung-Effektes 65
4.3.5 Umsetzung unter Nutzung der Zentrifugalkraft und Deankräfte 74
4.3.6 Kombination der Effekte 76
4.4 Affinitätschromatographie-Kammer 79
4.4.1 Theorie 79
4.4.2 Stand der Forschung 81
4.4.3 Anwendung, Rahmenbedingungen und Anforderungen 81
4.4.4 Umsetzung 81
4.4.5 Charakterisierung 83
4.5 Quarzmikrowaage 84
4.5.1 Theorie 84
4.5.2 Stand der Forschung und Technik 87
4.5.3 Anwendung, Rahmenbedingungen und Anforderungen 88

4.5.4 Umsetzung 88
4.5.5 Charakterisierung 91
4.6 Anwendungen 93
4.6.1 Lab-on-a-Chip für die Point-of-Care-Diagnostik 93
4.6.2 Viruspartikel-Sensor 107
5 Zusammenfassung und Ausblick 122
6 Literaturverzeichnis 127
6.1 Verwendete Literatur 127
6.2 Eigene Veröffentlichungen 139
6.3 Betreute Seminarvorträge, Studien- und Diplomarbeiten 141
7 Anhang 143
7.1 Verwendete Materialien und Chemikalien 143
7.2 Verwendete Ätzlösungen 147
7.3 Verwendeter sich selbst sortierender Monolayer 148
7.4 Verwendete Geräte 149
7.5 Ausführliche Fertigungsabläufe 152
7.5.1 Herstellung: Silizium-Membran (Trockener Silizium-Ätzprozess) 152
7.5.2 Herstellung: Ein- und Auslassebene (Nasschemischer Silizium-Ätzprozess) 153
7.5.3 Herstellung: Pyrexglas-Membran mit FGL-Halteelementen (nasschemischer Zweischritt-Pyrexglas-Ätzprozess) 155
7.5.4 Anodisches Bonden 157
7.5.5 Silizium-Direktbonden 158
7.5.6 Herstellung: Negativ-Form für das Replikatformen für die Layer des GES2 (zweistufige UV-Tiefenlithographie) 159
7.5.7 Herstellung: Quarzresonators (nasschemischer Quarz-Ätzprozess) 161
7.5.8 Herstellung: Glas-Layer für GES2 und Bluttrennsysteme (nasschemischer einstufiger beidseitiger Glas-Ätzprozess) 163

Verzeichnis der verwendeten Formelzeichen und Abkürzungen

Formelzeichen

A_S	Austenit-Start-Temperatur [°C]
A_F	Austenit-Finish-Temperatur [°C]
A_{Ki}	Querschnittsfläche von Kanal i (i=1, 2, …) [m^2]
$A_{Ki,Ein}$	Querschnittsfläche des Eingangs von Kanal i (i=1, 2, …) [m^2]
$A_{Ki,Aus}$	Querschnittsfläche des Ausgangs von Kanal i (i=1, 2, …) [m^2]
a	Partikeldurchmesser [m]
$a_{Einlauf}$	Vorfaktor zur Berechnung der Einlaufstrecke [-]
A_{Piezo}	piezoelektrisch aktive Fläche [m^2]
b_{Ki}	Breite des Kanals i (i=1, 2, …) [m]
$b_{Ki,Ein}$	Breite am Eingang des Kanals i (i=1, 2, …) [m]
$b_{Ki,Aus}$	Breite am Ausgang des Kanals i (i=1, 2, …) [m]
C_0	statische Kapazität im BVD-Ersatzschaltbild [F]
C_q	dynamische Kapazität des Quarzes im BVD-Ersatzschaltbild [F]
$d_{h,Ki}$	hydraulischer Durchmesser des Kanals i (i=1, 2, …) wobei $d_{h,Ki} = \frac{2 \cdot b_{Ki} \cdot h_{Ki}}{b_{Ki} + h_{Ki}}$ [m]
d_q	Dicke des Quarzes [m]
d_{Vent}	horizontaler Abstand der Oberflächen von Ventilsitz und Rahmen [m]
E_{min}	minimale benötigte Energie [J]
g	Erdbeschleunigung [$m \cdot s^{-2}$]
h_{Ki}	Höhe des Kanals [m]
i	Zählvariable (i =1, 2, …) [-]
Δf	Frequenzänderung [Hz]
f_0	Resonanzfrequenz [Hz]
K_{Ki}	Dean-Zahl des Kanals i (i=1, 2, …) [-]
$L_{Einlauf}$	Einlaufstrecke [m]

L_{Ki}	Länge von Kanal i (i=1, 2, …) [m]
L_q	dynamische Induktivität des Quarzes im BVD-Ersatzschaltbild [H]
Δm	Angelagerte Masse [kg]
M_S	Martensit-Start-Temperatur [°C]
M_F	Martensit-Finish-Temperatur [°C]
n	Anzahl der Wiederholungen [-]
p	Druck [Pa]
p_{Ki}	Druck am Ausgang von Kanal i (i=1, 2, …) [Pa]
p_{atm}	Atmosphärendruck [Pa]
r_{Ki}	Radius der Kanalkrümmung von Kanals i (i=1, 2, …) [m]
R	Fließgeschwindigkeitsverhältnis [-]
R_a	mittlere Rauheit [m]
Re_{Ki}	Reynolds-Zahl des Kanals i (i =1, 2, …) [-]
Re_{krit}	Übergangsreynold-Zahl [-]
$Re_{P,Ki}$	Reynolds-Zahl des Partikels in Kanal i (i=1, 2, …) [-]
R_q	dynamischer Lastwiderstand des Quarzes im BVD-Ersatzschaltbild [Ω]
T	Temperatur [°C]
$v_{D,Ki}$	Betrag der Drehgeschwindigkeit des Fluids in Kanal i (i=1, 2, …) [$m \cdot s^{-1}$]
$\dot{V}_{gesamt}$	gesamter Volumenstrom [$m^3 \cdot s^{-1}$]
$\dot{V}_{Ki}$	Volumenstrom in Kanal i (i=1, 2, …) [$m^3 \cdot s^{-1}$]
v_{Ki}	mittlere Strömungsgeschwindigkeit in Kanal i (i=1, 2, …) [$m \cdot s^{-1}$]
$v_{Ki,Ein}$	mittlere Strömungsgeschwindigkeit am Eingang von Kanal i (i=1, 2, …) [$m \cdot s^{-1}$]
$v_{Ki,Aus}$	mittlere Strömungsgeschwindigkeit am Ausgang von Kanal i (i=1, 2, …) [$m \cdot s^{-1}$]
v_{krit}	mittlere Geschwindigkeit bei der die Übergangsreynold-Zahl erreicht wird [$m \cdot s^{-1}$]
z_{Ki}	hydraulische Höhe des Ausgangs von Kanal i (i=1, 2, …) [m]

$\underline{Z}_f$	zusätzliche Impedanz des Quarzes bei Beladung mit Flüssigkeit im BVD-Ersatzschaltbild [Ω]
$\underline{Z}_S^n$	zusätzliche Impedanz des Quarzes bei Beladung mit der n-ten viskoelastischen Schicht im BVD-Ersatzschaltbild [Ω]
δ_{fl}	Eindringtiefe der Scherwelle bei newtonschen Flüssigkeiten
η_{fl}	dynamische Viskosität [$kg \cdot m^{-1} \cdot s^{-1}$]
λ_{Ki}	Rohrreibungsbeiwert von Kanal i (i=1, 2, …) [-]
μ_q	Schermodul des Quarzmaterials [$kg \cdot s^{-2} \cdot m^{-1}$]
ν_{fl}	kinematische Viskosität wobei $\nu_{fl} = \frac{\eta_{fl}}{\rho_{fl}}$ [$m^2 \cdot s^{-1}$]
ρ_{fl}	Dichte des Fluides [$kg \cdot m^{-3}$]
ρ_q	Dichte des Quarzmaterials [$kg \cdot m^{-3}$]
φ_{Ki}	Reibungsverlust von Kanal i (i =1,2, …) [$J \cdot kg^{-1}$]
ω	Kreisfrequenz [s^{-1}]

Abkürzungen

BMBF	Bundesministerium für Bildung und Forschung
BSA	Bovine Serum Albumin
BVD	Butterworth-van-Dyke
CRP	C-reaktives Protein
CVD	chemische Gasphasenabscheidung
DBT	Department of Biotechnology des Instituts für Biochemie und Biotechnologie der TU Braunschweig (Braunschweig, Deutschland)
DFG	Deutsche Forschungsgemeinschaft
DI	deionisiert
DRIE	Deep Reactive Ion Etching
ED	elektrische Beschichtung (electro deposition)
EEL	Euonymus Europaeus Lektin
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
FEM	Finite-Elemente-Methode
FG	Formgedächtnis
FGL	Formgedächtnislegierung
GBL	Gamma-Butyrolacton
HMDS	Hexamethyldisilazan
ICP	Inductive Coupled Plasma
Ig	Immunglobulinen
IgG	Immunglobulinen G
IMT	Institut für Mikrotechnik der Technischen Universität Braunschweig
kHAU	kilo Hemagglutination activity assay unit; Konzentrationsangabe für die verwendete Viruspartikel-Lösung
LMM	Lehrstuhl für Mikromechanik, Mikrofluidik/Mikroaktorik der Universität des Saarlandes (Saarbrücken, Deutschland)
LPCVD	chemische Gasphasenabscheidung bei Unterdruck (low pressure chemical vapour deposition)

LPEIA	latex piezoelectric immunoassay
MDCK	Mardin Darby Canin Kidney
PBS	phosphatgepufferte Salzlösung (phosphate buffered saline)
PEB	Post Exosure Bake
PDMS	Polydimethylsiloxan
PECVD	Plasmaunterstützte chemische Gasphasenabscheidung (plasma-enhanced chemical vapour deposition)
PGMEA	Propylenglykolmonomethylethylacetat
PVD	physikalische Gasphasenabscheidung
QCM	Quarzmikrowaage
REM	Replikatformen (Replica Molding)
SAM	sich selbst sortierender Monolayer (self assembling monolayer)
scFv	single chain fragment variable
SFB	Sonderforschungsbereich
SPR	Surface Plasmon Resonanz; Oberflächenplasmonenresonanz
TU	Technische Universität
UV	Ultraviolett