



Fakultät für Physik

Kontinuierliche Trennung chiraler Objekte ohne chemische Selektoren

vorgelegt von Sonja Wegener

Von der Fakultät für Physik genehmigte

Bachelor-Arbeit

zur Erlangung des Grades eines Bachelor of Science.

Gutachter:

Dr. Jan Regtmeier

Prof. Dr. Peter Reimann

Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst habe. Dabei wurden keine weiteren als die angegebenen Hilfsmittel verwendet.

Bielefeld, 27. September 2010

Sonja Wegener

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Grundlagen	3
2.1	Hydrodynamik viskoser Fluide	3
2.1.1	Navier-Stokes-Gleichung	4
2.1.2	Laminare Strömung bei kleinen Reynoldszahlen	5
2.1.3	Druckgetriebene Strömung	5
2.1.4	Brown'sche Bewegung und Diffusion	7
2.2	Chiralität	7
2.3	Chirale Trennung	9
2.4	Selektorfremie chirale Trennung	10
3	Materialien und Methoden	13
3.1	Chemikalien und Materialien	13
3.2	Herstellung des Masterwafers	14
3.3	Mikrofluidikchips	15
3.4	Chirale Teilchen	17
3.5	Versuchsaufbau	17
4	Resultate und Diskussion	19
4.1	Produktion der Kanäle	19
4.2	Produktion der Teilchen	21
4.3	Ergebnisse der Trennversuche	24
4.3.1	15x9 Teilchen	24
4.3.2	10x6 Teilchen	27
4.3.3	Gepulste Trennung	28
5	Zusammenfassung und Ausblick	30
	Danksagung	35

1 Einleitung

Chiralität bezeichnet die Eigenschaft eines Moleküls oder Gegenstandes, nicht mit seinem spiegelbildlichen Objekt zur Deckung gebracht werden zu können [1]. In der Pharmazie ist die Chiralität von hoher Bedeutung, da Enantiomere, d.h. zueinander chirale Moleküle, unterschiedlich wirken können [2]. Im Extremfall sorgt ein Molekül für den gewünschten Effekt, während das andere schädlich für den Organismus ist [3]. Das bekannteste Beispiel in diesem Zusammenhang ist Thalidomid (Contergan®), welches zahlreiche Missbildungen bei Kindern nach der Einnahme gegen Übelkeit in der Schwangerschaft hervorrief [2].

Als Konsequenz steigt die Anzahl der enantiomerenrein verfügbaren Arzneistoffe [4]. Neben stereoselektiver Synthese ist dafür auch eine Trennung von Enantiomeren bei der Produktion notwendig. Chirale Trennung zu Analysezwecken wird dazu eingesetzt, Enantiomerenverhältnisse zu bestimmen. Somit hat sie Anwendungen sowohl in der Entwicklung, Optimierung und Überwachung geeigneter Reaktionen zur Medikamentenherstellung als auch zur Qualitätskontrolle [5]. Die eingesetzten Trennverfahren beruhen auf der selektiven Wechselwirkung chiraler Hilfsreagenzien mit den Enantiomeren (für Beispiele siehe [6]). Der Nachteil der chiralen Selektoren ist, dass diese auf die Struktur des zu trennenden Moleküls abgestimmt sein müssen. Da aber kein allgemeines Schema zur Vorhersage passender Selektoren existiert, müssen für neue Analyten in der Regel experimentell geeignete Trennmethoden bestimmt werden [5].

Daher gibt es theoretische Überlegungen, chirale Trennungen ohne chirale Selektoren durchzuführen. Nach einem Modell von de Gennes rutschen makroskopisch große, chirale Kristalle auf einer schiefen Fläche in unterschiedliche Richtungen [7]. Kostur et al. wollen eine Trennung mit Hilfe örtlich variabler Vortizitäten hervorrufen [8]. Eichhorn schlägt eine Trennung von Stereoisomeren auf Grund ihrer unterschiedlichen typischen Geschwindigkeiten in asymmetrischen Flussprofilen vor [9]. Die experimentelle Umsetzung dieser Ideen ist allerdings meist schwierig.

Experimentell trennten Makino et al. chirale Partikel in einem Scherfluss zwischen rotierenden Scheiben [10]. Die verwendeten chiralen Testpartikel waren allerdings makroskopisch groß (etwa einem Würfel mit Kantenlänge 2 mm entsprechend) und manuell mit einem Messer hergestellt. In einer Arbeit von Marcos et al. [11] wurde gezeigt, dass sich schraubenförmige Bakterien durch die Strömung in einem Mikrofluidikkanal ablenken lassen. Das zugehörige Modell sieht vor, dass die Richtung dabei von der Chiralität abhängig ist. Im Experiment wurden aber nur rechtsdrehende Bakterien (mit 16 μm Länge, 150 nm Dicke und 200 nm Durchmesser) verwendet, da in der Natur keine linksdrehenden vorkommen.

In dieser Arbeit sollen chirale Partikel in der Größe von einigen μm ohne chiralen Selektor in einem Mikrofluidikkanal durch Bruch aller relevanten Symmetrien getrennt werden. In den verwendeten Kanälen befindet sich eine Anordnung zur Flussachse gekippter Pfostenreihen, an denen die chiralen Teilchen unterschiedlich abgelenkt und damit kontinuierlich

getrennt werden sollen (siehe Abbildung 1). Das hier umgesetzte System basiert auf zuvor simulativ optimierten Strukturen [12, 13].

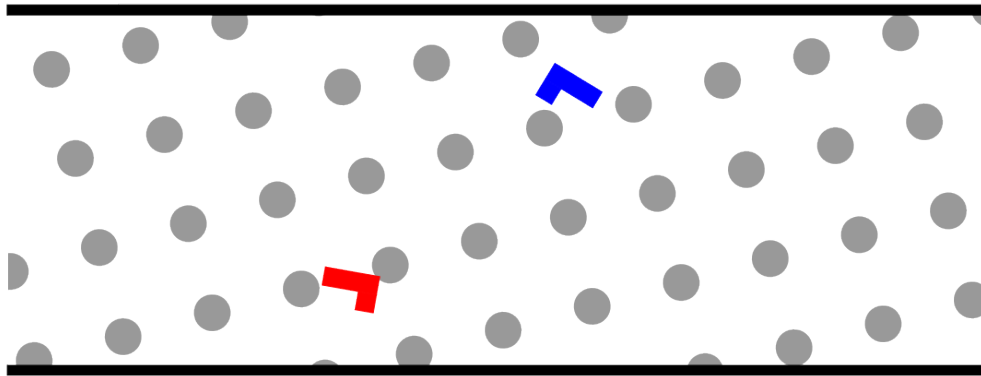


Abbildung 1 – Schemazeichnung der verwendeten Kanäle mit Pfortenstrukturen. Die eingezeichneten Teilchen sollen je nach Chiralität verschieden abgelenkt werden. Zeichnung nicht maßstabsgetreu.

Die Arbeit beginnt in Kapitel 2 mit einer kurzen Zusammenstellung der relevanten Grundlagen der Mikrofluidik und der chiralen Trennung. Zusätzlich werden das dieser Trennung zugrunde liegende Modell und die Simulationsergebnisse kurz beschrieben. Es folgt in Kapitel 3 eine Auflistung der verwendeten Chemikalien und Materialien sowie eine Beschreibung der Herstellungsprozesse und des Aufbaus. In Kapitel 4 werden die Resultate der Arbeit dargestellt und diskutiert. Zuletzt folgt Kapitel 5 mit einer Zusammenfassung und einem Ausblick.

2 Grundlagen

In der Mikrofluidik werden sehr kleine Flüssigkeitsmengen bis zu 1 nL oder 1 pL betrachtet [14]. Die zum Verständnis der Experimente notwendigen Grundlagen sollen in diesem Teil erläutert werden. Zunächst ist dies die Hydrodynamik (Kapitel 2.1), insbesondere die Navier-Stokes-Gleichung für viskose Fluide (Abschnitt 2.1.1) und Folgerungen daraus. In Kapitel 2.2 und 2.3 folgen ein Überblick über Chiralität in der (organischen) Chemie sowie über übliche Verfahren zur Trennung chiraler Moleküle. Anschließend wird das für diese Arbeit zu Grunde gelegte Modell zur chiralen Trennung ohne chemische Selektoren in Kapitel 2.4 beschrieben.

2.1 Hydrodynamik viskoser Fluide

In diesem Kapitel werden die hydrodynamischen Grundlagen erläutert, die das Verhalten von Flüssigkeiten in Mikrofluidikkanälen beschreiben.

Für Anwendungen mit kleinsten Flüssigkeitsmengen gelten andere Oberflächen-/ Volumenverhältnisse und Längenskalen als für makroskopische Systeme. Typisch sind sehr kleine Reynoldszahlen und laminare Strömungen. Brown'sche Bewegung und Teilchen-Teilchen-Wechselwirkungen sind auf dieser Größenskala ebenfalls nicht mehr vernachlässigbar.

Die *Viskosität* ist ein Maß dafür, wie Fluide Scherkräfte weitergeben. Diese Eigenschaft wird durch innere Reibung zwischen den Fluidteilchen verursacht.

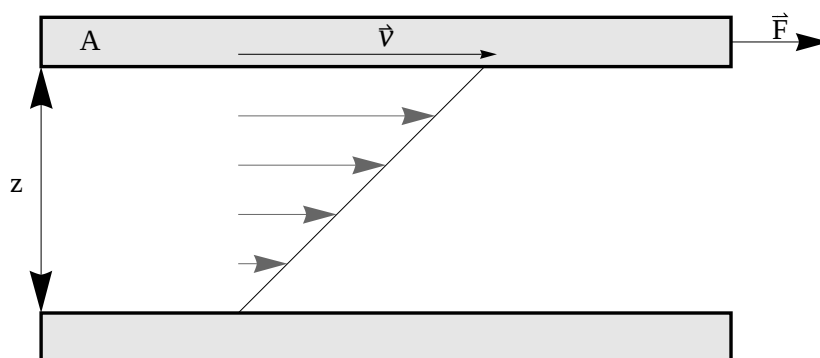


Abbildung 2 – Versuch zur Bestimmung der Viskosität. Die untere Platte ruht. Im Abstand z darüber wird eine zweite Platte der Fläche A durch eine Kraft $\vec{F}$ mit der Geschwindigkeit $\vec{v}$ bewegt. In der Flüssigkeit bildet sich ein linearer Geschwindigkeitsgradient aus, die sogenannte ebene Couette-Strömung [15].

Um die Viskosität eines Fluids zu bestimmen, verwendet man einen Versuchsaufbau mit zwei parallelen Platten der Fläche A im Abstand z , zwischen denen das Fluid eingeschlossen ist (siehe Abbildung 2). Die obere Platte wird durch eine horizontal wirkende Kraft $\vec{F}$ mit konstanter Geschwindigkeit $\vec{v}$ gezogen, während die untere Platte in Ruhe bleibt. Im Fall einer stationären Strömung beobachtet man, dass die Geschwindigkeit linear von unten ansteigt. Dieses Flussprofil bezeichnet man als ebene Couette-Strömung. Es ergibt sich

dabei der Zusammenhang [16]

$$\vec{F} = \eta \frac{\vec{v} A}{z}.$$

Die Proportionalitätskonstante η ist per Definition die dynamische Viskosität. Bei gegebener Plattenfläche und -abstand bewegen sich viskosere Fluide bei gleicher Kraft langsamer, so dass man die Viskosität anschaulich als Zähigkeit bezeichnet.

2.1.1 Navier-Stokes-Gleichung

Viskose Fluide werden durch die Navier-Stokes-Gleichung (siehe z.B. [17] oder [18])

$$\rho \left(\frac{\partial \vec{v}}{\partial t} + (\vec{v} \cdot \vec{\nabla}) \vec{v} \right) = -\vec{\nabla} p + \eta \Delta \vec{v} + \left(\zeta + \frac{\eta}{3} \right) \vec{\nabla} (\vec{\nabla} \cdot \vec{v})$$

mit ρ der Dichte des Fluids, $\vec{v}$ dem Geschwindigkeitsfeld, t der Zeit und p dem Druck im Fluid beschrieben. Die beiden skalaren Zähigkeitskoeffizienten $\eta > 0$ (Viskosität, siehe oben) und $\zeta > 0$ (Volumenviskosität) werden als konstant angenommen.

Bei Bedarf kann die rechte Seite der Navier-Stokes-Gleichung noch um weitere Terme ergänzt werden, wenn etwa Brown'sche Bewegung oder Volumenkräfte wie die Schwerkraft oder elektrische Kraft miteinbezogen werden müssen.

Die analytische Lösung der Navier-Stokes-Gleichung ist meistens nicht möglich. So werden Lösungen der Navier-Stokes-Gleichung hauptsächlich numerisch erhalten.

Eine weitere Vereinfachung für inkompressible Fluide folgt direkt aus der Kontinuitätsgleichung $\vec{\nabla} \cdot \vec{v} = 0$. Der letzte Term verschwindet folglich, und die Gleichung vereinfacht sich zu:

$$\frac{\partial \vec{v}}{\partial t} + (\vec{v} \cdot \vec{\nabla}) \vec{v} = -\frac{1}{\rho} \vec{\nabla} p + \frac{\eta}{\rho} \Delta \vec{v}.$$

Die Bedingung für Inkompressibilität ist eine sehr viel kleinere charakteristische Strömungsgeschwindigkeit als Geschwindigkeit der Druckwellen im betrachteten Fluid [15]. Für die meisten praktischen Anwendungen können Wasser und andere Flüssigkeiten als inkompressibel angenommen werden [14]. Es reicht somit in diesem Fall nur einen Koeffizienten $\nu = \frac{\eta}{\rho}$ für die Zähigkeit anzugeben. Die kinematische Viskosität ν beträgt für Wasser $\nu = 10^{-6} \frac{\text{m}^2}{\text{s}}$ bei einer Temperatur von 20°C [17].

Zur Lösung der Bewegungsgleichung werden noch Randbedingungen benötigt, die an den begrenzenden Wänden erfüllt sein müssen. Hier werden so genannte No-Slip-Randbedingungen angenommen [14]. Dies bedeutet, dass das Geschwindigkeitsfeld direkt an der begrenzenden Wand mit der Geschwindigkeit der Wand an dieser Stelle übereinstimmt.

2.1.2 Laminare Strömung bei kleinen Reynoldszahlen

Zur Charakterisierung einer Strömung reicht die Angabe von wenigen Parametern: der typischen Strömungsgeschwindigkeit der Flüssigkeit v_0 , der typischen Längenskala L_0 des Systems sowie der Dichte ρ und des Viskositätskoeffizienten η . Definiert man nämlich

$$\vec{r}' = \frac{\vec{r}}{L_0} \text{ und } \vec{v}' = \frac{\vec{v}}{v_0}$$

sowie

$$t' = \frac{t}{\left(\frac{L_0}{v_0}\right)} \text{ und } p' = \frac{p - p_0}{\frac{1}{2}\rho v_0^2}$$

mit p_0 dem hydrostatischen Druck, so lässt sich die inkompressible Navier-Stokes-Gleichung in die folgende Form transformieren [15]:

$$\frac{\partial \vec{v}'}{\partial t'} + \left(\vec{v}' \cdot \vec{\nabla}' \right) \vec{v}' = -\vec{\nabla}' p' + \frac{1}{Re} \Delta' \vec{v}'.$$

Dabei stellen $\vec{\nabla}'$ bzw. Δ' den Gradienten bzw. den Laplace-Operator bezüglich der reduzierten Ortsvariable $\vec{r}'$ dar. Den einzigen darin vorkommenden dimensionslosen Parameter

$$Re = \frac{\rho v_0 L_0}{\eta}$$

bezeichnet man als Reynoldszahl, die das Verhalten von Strömungen beschreibt. Verschiedene Systeme mit der gleichen Reynoldszahl verhalten sich ähnlich. Bei kleinen Reynoldszahlen $Re < 2300$ nimmt man eine laminare Strömung an, für $Re > 2300$ liegt eine turbulente Strömung vor [14].

Die typischen Werte für Mikrofluidikchips sind $L_0 = 10 \mu\text{m}$ und $v_0 = 100 \mu\text{m/s}$. Geht man dabei von einer Flüssigkeit wie Wasser aus, ergibt sich eine Reynoldszahl von $0.001 \ll 2300$, und damit eine laminare Strömung.

2.1.3 Druckgetriebene Strömung

In einem zylinderförmigen Mikrofluidikkanal mit angenommenen No-Slip Randbedingungen führen Druckunterschiede, die beispielsweise durch eine pneumatische Pumpe erzeugt werden, zu einer Strömung, die ein sogenanntes Hagen-Poiseuille Flussprofil (Abbildung 3) aufweist. Die Geschwindigkeitsverteilung der Flüssigkeit ist entlang des Kanals in x-Richtung gleich und zeigt eine parabolische Form mit einem Geschwindigkeitsmaximum in der Mitte. Während sich dieser Fall auf Grund der Rotationssymmetrie analytisch lösen lässt (z.B. [17]), ist es komplizierter, andere Geometrien zu berechnen.

Typische Mikrofluidikkanäle sowie auch der im Rahmen dieser Arbeit verwendete Kanal haben einen rechteckigen Querschnitt, für den das Flussprofil nicht mehr analytisch berechnet, sondern nur mit Hilfe von Fourierreihen approximiert werden kann [19]. Für einen geraden Kanal mit Länge L , Höhe h und Breite w seien an allen Rändern No-Slip-Randbeding-

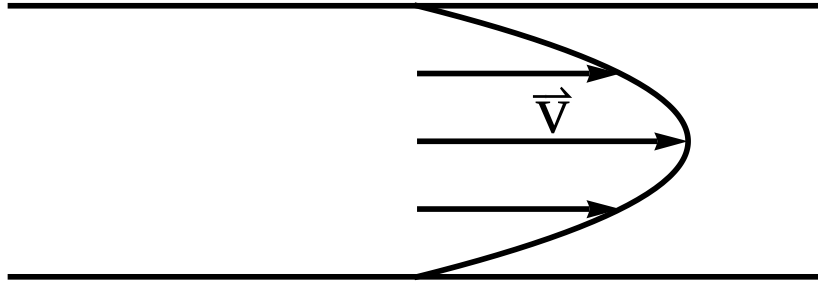


Abbildung 3 – Das parabelförmige Hagen-Poiseuille Flussprofil in einem langen, rigiden, zylindrischen Kanal [17].

ungen der Form

$$v\left(\pm \frac{w}{2}, z\right) = 0, \quad v(y, 0) = 0 \quad \text{und} \quad v(y, h) = 0$$

angenommen. Es zeigt sich dann das folgende Flussprofil:

$$v_x(y, z) = \frac{4h^2 \Delta p}{\pi^3 \eta L} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^3} \left[1 - \frac{\cosh\left(\frac{n\pi}{h} y\right)}{\cosh\left(\frac{n\pi}{h} \frac{w}{2}\right)} \right] \sin\left(\frac{n\pi z}{h}\right) \quad \text{für} \quad -\frac{w}{2} < y < \frac{w}{2}, 0 < z < h.$$

In dieser Form lässt sich trendartig das für runde Kanäle typische Hagen-Poiseuille Flussprofil entlang der z -Achse erkennen (siehe Abbildung 4). Entlang der Kanalbreite y ist die Geschwindigkeit fast konstant.

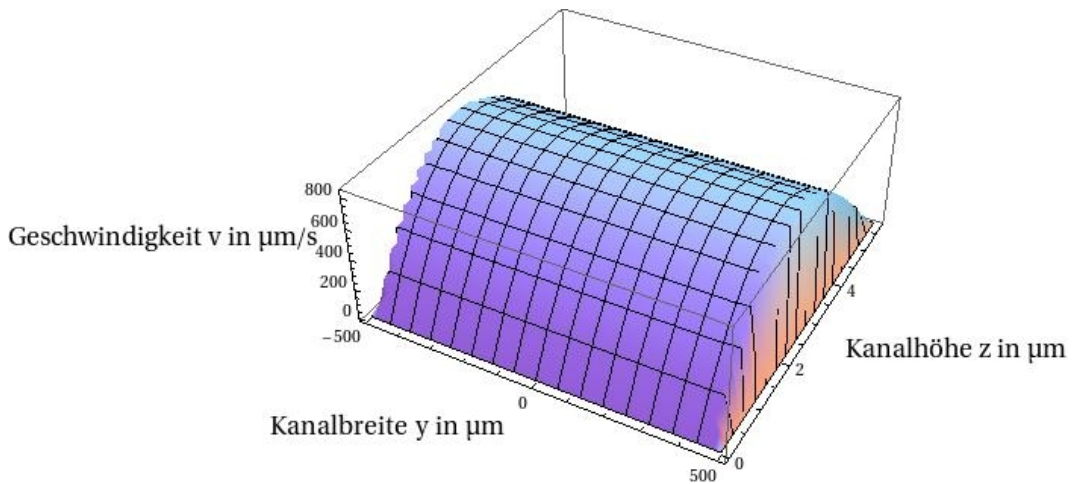


Abbildung 4 – Das Flussprofil einer druckgetriebenen Strömung in einem rechteckigen Mikrofluidikkanal mit der Höhe $h=5,7 \mu\text{m}$, der Länge $L= 0,5 \text{ cm}$ und der Breite $w=1 \text{ mm}$ bei einem Druck von 10 mbar [19]. Diese Parameter entsprechen dem verwendeten Kanal.

2.1.4 Brown'sche Bewegung und Diffusion

Die mittlere kinetische Energie eines Gasteilchens in einem System mit der Temperatur T beträgt $\frac{3}{2}k_B T$ mit k_B der Boltzmann-Konstante. Von Brown'scher Bewegung spricht man, wenn sich ein Teilchen auf Grund unregelmäßiger Stöße mit benachbarten Molekülen bewegt [16]. Der schottische Botaniker Robert Brown beobachtete 1827 erstmals eine derartige thermische Bewegung unter dem Mikroskop als ungeordnete, zuckende Bewegung von Pollenkörnern in Wasser [20].

Die Bewegung lässt sich quantifizieren, in dem man annimmt, dass sich das Teilchen frei bewegt und nur durch momentane Stöße mit gleichförmiger Wahrscheinlichkeit in alle Richtungen gelenkt wird. Der Mittelwert der Bewegung des Teilchens in eine feste Richtung ist Null mit einer Standardabweichung [21]

$$(\Delta x)^2 = 2Dt.$$

Dabei ist t die Zeit, die groß gegenüber der Zeitspanne zwischen zwei Stößen sein muss. D bezeichnet den Diffusionskoeffizienten. Unter der Annahme, dass Stokes-Reibung vorliegt, ergibt sich z.B. für den Diffusionskoeffizienten einer Kugel mit Radius R die Einstein-Smoluchowski-Beziehung [21]

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta R}.$$

Der Diffusionskoeffizient ist somit nicht nur von den Eigenschaften des zu transportierenden Teilchens und der Viskosität der Flüssigkeit abhängig, sondern auch der Temperatur proportional.

2.2 Chiralität

Als chiral (von altgriechisch $\chi\epsilon\acute{\iota}\rho$ [*cheir*], Hand) bezeichnet man die Eigenschaft eines Objekts, mit seinem spiegelbildlichen Objekt nicht zur Deckung gebracht werden zu können [1]. Die äußere Form der Hände ist tatsächlich chiral, da man rechte und linke Hand durch Translation oder Rotation nicht ineinander überführen kann.

Auch auf der molekularen Ebene kann Chiralität auftreten. Die einfachsten Beispiele dafür sind ein zentrales Kohlenstoffatom (als Chiralitätszentrum) mit drei (bei tetraedrischer Anordnung) oder vier verschiedenen Substituenten [1]. Alle proteinogenen Aminosäuren außer Glycin sind nach diesem Schema aufgebaut [22]: An das zentrale Kohlenstoffatom binden eine Carboxylgruppe, eine Aminogruppe und eine variable Seitenkette (Rest). Nur eine chirale Form der Aminosäuren kommt in biotisch synthetisierten Proteinen vor.

Zur Unterscheidung der Anordnung im Uhrzeigersinn (R-Konformation) und der Anordnung gegen den Uhrzeigersinn (S-Konformation) wurde das CIP-System (benannt nach den Begründern Cahn, Ingold und Prelog) entwickelt. Dafür wird den an das Chiralitätszentrum gebundenen Atomen und Gruppen eine Rangfolge zugewiesen, das Molekül entsprechend

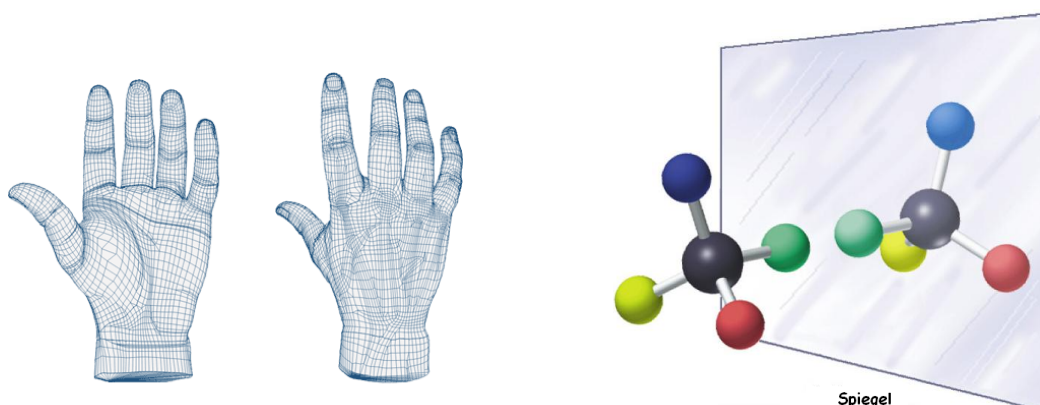


Abbildung 5 – Das Prinzip der Chiralität: Weder Hand noch Molekül lassen sich mit dem spiegelbildlichen Objekt zur Deckung bringen [24, 25].

dieser Rangfolge orientiert und die Drehrichtung bestimmt [1, 23].

Die beiden spiegelbildlichen, chiralen Objekte bezeichnet man als Enantiomere. Solche unterscheiden sich in ihrer optischen Aktivität, haben ansonsten aber gleiche physikalische Eigenschaften. Sobald sich Enantiomere in einer chiralen Umgebung befinden, wie sie z.B. in allen lebenden Organismen vorliegt, können sie sich sehr unterschiedlich verhalten. Exemplarische Beispiele dazu sind in Tabelle 1 aufgelistet.

Tabelle 1 – Eigenschaften und Wirkungen einiger Enantiomere [1]

Verbindung	Wirkung des R-Enantiomers	Wirkung des S-Enantiomers
Monoterpen Limonen	Orangengeruch	minziger bis terpentinartiger, schwach zitroniger Geruch
Aminosäure Asparagin	süßlicher Geschmack	geschmacksneutral bis leicht mehlig
Lipidsenker Ciprofibrat	Eliminationshalbwertszeit 100h	Eliminationshalbwertszeit 24h
Ibuprofen	unwirksam	Analgetikum
Penicillamin	Antirheumatikum, Antidot bei Schwermetallvergiftung	toxisch
Thalidomid (Contergan®)	beruhigend	teratogen

Offensichtlich ist der Einsatz von Racematen (Mischung gleicher Teile beider Enantiomere) auf Grund der unterschiedlichen Eigenschaften problematisch. Ein besonders prominentes Beispiel in diesem Zusammenhang ist Thalidomid (Contergan®), das als ungefährliches Schlaf- und Beruhigungsmittel von 1957 bis 1961 vermarktet und auch von Schwangeren gegen Morgenübelkeit eingenommen wurde. In dieser Zeit traten allein in Deutschland etwa 5000 Fälle schwer missgebildeter Kinder auf [26, 27] - bedingt durch das S-Enantiomer. Da die Enantiomere dieser Substanz allerdings unter physiologischen Bedingungen racematisieren (d.h. sich ineinander umwandeln, so dass wieder ein Gemisch entsteht), ist in diesem Fall der alleinige Einsatz der R-Form nicht möglich [2]. Thalidomid wird heute nur

noch unter strenger Überwachung der Gesundheitsbehörden z.B. gegen Lepra oder Krebs eingesetzt [28].

In der Pharmaindustrie nimmt der Anteil der als enantiomerenrein eingeführten Präparate zu. Insgesamt enthalten knapp 40 Prozent der zwischen 2004 und 2008 in Deutschland neu auf den Markt gekommenen Medikamente chirale Wirkstoffe. Das Verhältnis von Enantiomeren zu Racematen beträgt hierbei für monochirale Arzneistoffe 20:5. Im Zeitraum 1999 bis 2003 war dieses noch 15:9 [4]. Die Zahlen legen nahe, dass die kostengünstige chirale Trennung im industriellen Maßstab mit hohem Durchsatz von zentraler Bedeutung ist. Die bislang angewendeten Trennverfahren werden in Kapitel 2.3 näher beschrieben.

2.3 Chirale Trennung

Die erste Enantiomerentrennung der beiden spiegelbildlichen Kristallformen der Weinsäure wurde Mitte des 19. Jahrhunderts durch Louis Pasteur von Hand unter einem Mikroskop durchgeführt [29]. Beide Formen sind optisch aktiv und zeigen unterschiedliche Polarisation des Lichts. Diese Trennmethode erfordert aber eine spontane Enantiomerentrennung während der Kristallisation, die nur bei wenigen Enantiomeren und auch nur in bestimmten Temperaturbereichen auftritt. Außerdem ist dieses Verfahren sehr aufwendig und kann kaum auf industrielles Niveau skaliert werden. Zur Trennung einzelner Moleküle ist es nicht geeignet.

Moderne, auch in der chemischen und pharmazeutischen Industrie eingesetzte Verfahren, sind vor allem Chromatographie-Techniken [30-35], darunter Gas- (GC), Superkritische Flüssigphasenchromatografie (SFC), Dünnschichtchromatografie (TLC) und Kapillarelektrochromatografie (CEC). Die Hochleistungsflüssigphasenchromatografie (HPLC) ist der Standard zur chiralen Trennung und wird fast doppelt so häufig wie alle anderen Verfahren zusammen angewendet [36].

Die neuere Methode der Kapillarelektrophorese (CE) zeigt bei analytischen Trennungen eine zunehmende Beliebtheit [36]. Eine erfolgversprechende Technik ist die miniaturisierte Trennung in Mikrochips. Vorteile sind vor allem die schnelle Trenngeschwindigkeit, der große Durchsatz, geringer Proben- und Chemikalienverbrauch, bessere Umweltverträglichkeit, eine kompakte Größe sowie folglich geringere Kosten [37].

Wesentlicher Nachteil bei allen vorher genannten Verfahren ist der Einsatz eines chiralen Hilfsreagenz. Die Trennung kann einerseits als direkte chirale Separation auf Grund unterschiedlicher Wechselwirkung der Enantiomere mit dem sogenannten chiralen Selektor erfolgen. Dabei handelt es sich um eine zugegebene oder an den Wänden aufgebrachte chirale Substanz, die eine Trennung nach dem Prinzip der Chromatographie ermöglicht. Andererseits werden bei der indirekten chiralen Trennung optisch aktive Derivatisierungsreagenzien verwendet. Diese bilden mit den Enantiomeren verschiedene transiente Komplexe, die aufgrund unterschiedlicher Eigenschaften in einer achiralen Umgebung getrennt werden [38].

Das Hilfsreagenz muss in beiden Fällen auf die zu trennende Substanz abgestimmt sein. Bei einigen Enantiomeren-Paaren kann es mit enormen experimentellen Schwierigkeiten verbunden sein, einen passenden Selektor zu identifizieren. Die momentane „trial-and-error“- Situation bei der Suche geeigneter Reagenzien impliziert einen hohen Zeit-, Material- und Arbeitsaufwand bei der Entwicklung der Selektoren [5].

2.4 Selektorfrequie chirale Trennung

In dieser Arbeit wird eine zweidimensionale Trennung chiraler Partikel ohne chiralen Selektor in einem Mikrofluidiksystem experimentell untersucht. Mittels Simulationen wurde vorher der Parameterraum hinsichtlich Teilchengröße und Pfoeneigenschaften für das Experiment eingegrenzt [12]. In diesem Abschnitt sollen die dabei zugrunde liegenden Modellannahmen und die zentralen Ergebnisse der Simulation zusammengefasst werden.

Als chirale Objekte werden bei der Simulation die in Abbildung 6 gezeigten, aus vier Kugeln zusammengesetzten Objekte verwendet. Die Kugeln befinden sich dabei an den Orten $\vec{r}_i$ und besitzen die Reibungskoeffizienten γ_i . Es lässt sich der Reibungsschwerpunkt $\vec{R}$ als

$$\Gamma \vec{R} = \sum_i \gamma_i \vec{r}_i$$

$$\text{mit } \Gamma = \sum_i \gamma_i$$

bestimmen. Die Vektoren $\vec{s}_i$ weisen vom Reibungsschwerpunkt zu den jeweiligen Kugeln. Für die Simulation wird Stokes-Reibung angenommen.

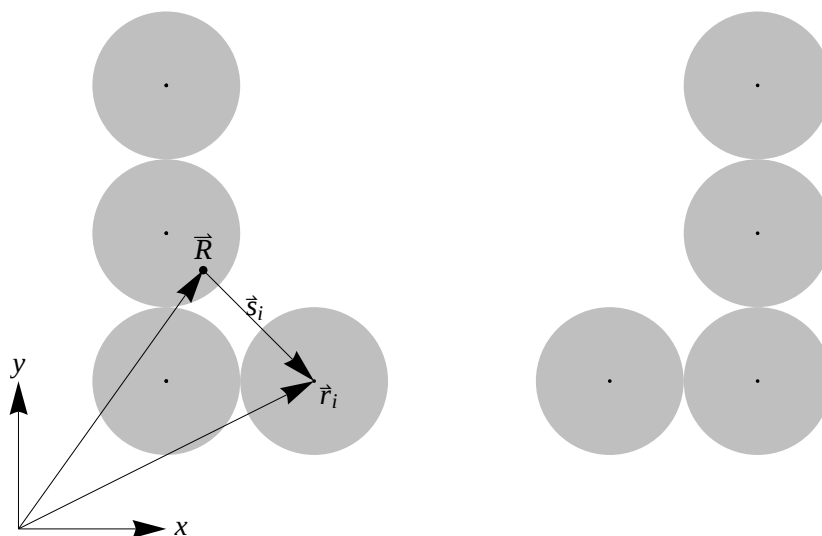


Abbildung 6 – Modell der zu trennenden chiralen Teilchen.

Für Monomere wird die Bewegung als trägheitslos angenommen und durch die überdämpf-

te Langevin-Gleichung

$$\gamma \dot{\vec{r}}(t) = \vec{F}^{ext}(\vec{r}, t) + \sqrt{2\gamma k_B T} \vec{\xi}(t)$$

beschrieben. Dabei bezeichnet $\vec{F}^{ext}$ externe Kräfte und $\vec{\xi}$ Gauß'sches weißes Rauschen, welches die Brown'sche Bewegung modelliert.

Für chirale Objekte benötigt man statt Monomeren mindestens drei Kugeln. Daher gibt es im zweidimensionalen Experiment drei Freiheitsgrade: Die beiden Translationsbewegungen und Rotation. Die folgenden Gleichungen sind zu daher lösen:

$$\Gamma \dot{\vec{R}} = \sum_i \vec{F}_i^{ext} + \sqrt{2\Gamma k_B T} \vec{\xi}_\Gamma$$

$$\gamma_\varphi \dot{\varphi} = \sum_i \vec{s}_i \times \vec{F}_i^{ext} + \sqrt{2\gamma_\varphi k_B T} \xi_\varphi$$

mit $\gamma_\varphi = \sum_i \gamma_i \vec{s}_i^2$. Die Lösung erfolgt numerisch mit Hilfe des Eulerverfahrens in Zeitschritten Δt , d.h. nach dem Schema

$$\vec{R}^{(t+1)} = \vec{R}^{(t)} + \frac{\Delta t}{\Gamma} \sum_i \vec{F}_i^{ext}(\vec{r}^{(t)}, t) + \sqrt{\frac{2k_B T \Delta t}{\Gamma}} \vec{\xi}_\Gamma(t)$$

$$\varphi^{(t+1)} = \varphi^{(t)} + \frac{\Delta t}{\gamma_\varphi} \sum_i \vec{s}_i^{(t)} \times \vec{F}_i^{ext}(\vec{r}^{(t)}, t) + \sqrt{\frac{2k_B T \Delta t}{\gamma_\varphi}} \xi_\varphi(t).$$

Die Pfosten werden als harte Wände modelliert, und die Mobilitäten werden für verschiedene große Teilchen angepasst.

An Hand der Simulation lässt sich feststellen, welche Faktoren die Trennung beeinflussen. Das Verhältnis zwischen Pfostengröße, -abstand und Teilchengröße ist für den Trennwinkel entscheidend. Beispielhaft sind Ergebnisse in Abbildung 7 dargestellt. Der Pfostenabstand und -radius sind für diese Simulation fest gewählt, Teilchengröße und Pfostenwinkel werden variiert. Während in den weißen Bereichen keine Trennung auftritt, bedeuten rote Bereiche, dass die Teilchen um bis zu 18 Grad unterschiedliche Bewegungsrichtungen aufweisen. Geeignet zur Trennung erscheinen Pfostenreihen, die zwischen 13 und 17 Grad zur Längsachse gedreht sind. Weiterhin ist eine Trennung nicht für Teilchen aller Größen zu erwarten. Die Ergebnisse zeigen, dass größere Teilchen im Allgemeinen deutlich besser getrennt werden als kleine.

Mit Hilfe dieser Ergebnisse lassen sich die Abmessungen der im Experiment verwendeten Teilchen und Pfostenstrukturen gezielt auswählen. Es werden Kanäle mit um 15 Grad gedrehten Pfostenreihen verwendet, da man mit diesem Winkel etwa mittig im vorhergesagten Trennungsintervall liegt. Für eine experimentelle Realisierung sind aus vier Kugeln zusammengesetzte Teilchen schwer realisierbar. Deshalb werden stattdessen eckige Teilchen verwendet (siehe Abbildung 14). Zwei verschiedene Teilchengrößen werden eingesetzt: Teilchen mit den geplanten Abmessungen $15 \times 9 \mu\text{m}$ sollten gerade durch die Zwi-

schenräume der Pfosten passen. Hierfür wäre entsprechend Abbildung 7 eine Trennung zu erwarten. Kleinere Teilchen mit den geplanten Abmessungen $10 \times 6 \mu\text{m}$ sollten sich demnach nicht trennen lassen.

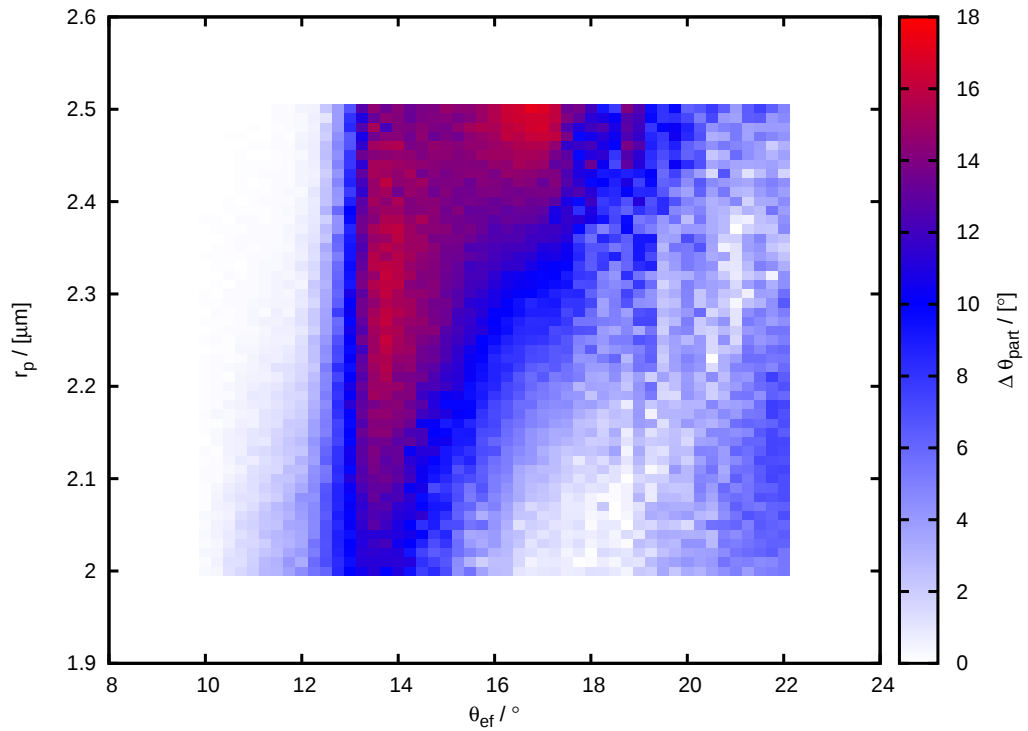


Abbildung 7 – Entsprechend der Simulation zu erwartende Trennwinkel. Der Pfostenabstand ist als $20,5 \mu\text{m}$ Abstand von Mittelpunkt zu Mittelpunkt, der Pfostenradius als $2,9 \mu\text{m}$ fest angenommen. Die Werte auf der x-Achse entsprechen den Winkeln zwischen der Längsachse des Kanals und den Pfostenreihen. Die y-Achse gibt den Radius der Kugeln der modellierten Teilchen (siehe Abbildung 6) an. Die erzielten Trennwinkel sind farblich dargestellt. Aus [13].

3 Materialien und Methoden

In diesem Kapitel werden zunächst in Abschnitt 3.1 die für diese Arbeit verwendeten Chemikalien und Geräte aufgelistet. Es folgt eine Beschreibung der Herstellung der benötigten Komponenten: Der Masterwafer (Kapitel 3.2), PDMS-Chips (Kapitel 3.3) und chirale Teilchen (Kapitel 3.4). Anschließend wird in Kapitel 3.5 kurz auf den experimentellen Aufbau eingegangen.

3.1 Chemikalien und Materialien

Zur Herstellung der benötigten Komponenten und zur Durchführung der Versuche werden die folgenden Chemikalien (Tabelle 2) und Materialien (Tabelle 3) benutzt.

Tabelle 2 – Liste der verwendeten Chemikalien

Bezeichnung	Hersteller, Ursprungsland
Deionisiertes Wasser aus Millipore-Anlage	Millipore, USA
Sauerstoff, reinst	Linde, Deutschland
Stickstoff, technisch	Linde, Deutschland
Stickstoff, reinst	Linde, Deutschland
Negative Photolacke SU-8(5), SU-8(2)	Microchem, USA
Entwickler für SU-8 MR-DEV 600	Microresist, Deutschland
Wasserstoffperoxid (H_2O_2), 30%, reinst	VWR, Deutschland
Konzentrierte Schwefelsäure (H_2SO_4), 95%, reinst	VWR, Deutschland
Propan-2-ol, reinst	VWR, Deutschland
Ethanol, reinst	VWR, Deutschland
Aceton, reinst	VWR, Deutschland
Polydimethylsiloxan (PDMS) Sylgard 184	Dow Corning, USA
Tridecafluor-1,1,2,2-tetra-hydrooctyl-trichlorosilan (TDTS)	ABCR, Deutschland

Tabelle 3 – Liste der verwendeten Materialien und Geräte

Bezeichnung	Hersteller, Ursprungsland
4- und 5-Zoll Silizium-Wafer, poliert	ChrysTec, Deutschland
Deckgläser 24x60mm	Menzel-Gläser, Deutschland
Glasfläschen, V=10ml	VWR, Deutschland
Plexiglas 100mm x 55mm x 10mm	n/a
Axiovert 200 mit CP-Achromat 10x-Objektiv	Zeiss, Deutschland
Trockenschrank	Binder, Deutschland
UV-Parallelbelichter Modell 8011	Oriel, USA
Spincoater ST147	Convac, Deutschland
Schleuder Delta 10	BLE, Deutschland
Programmierbare Heizplatte PR 5 SR	Detlef Gestigkeit, Deutschland
Quartzglas-Chrom-Maske	Delta Mask, Niederlande
Sauerstoff-Plasmaanlage	Eigenentwicklung, siehe [39]
Pneumatische Pumpe	Eigenentwicklung, siehe [40]
Zentrifuge 5417c	Eppendorf, Deutschland
Sputteranlage MCS 010	BAL-TEC, Liechtenstein
Profilometer DEKTAK 3030 ST	Sloan, USA
Ultraschallbad T490DA	Elma, Deutschland
Rasterelektronenmikroskop JSM 880	Jeol, Japan
CCD-Kamera Sensicam qe	PCO, Deutschland
Motorisierte Mikroskopiestage 99S008	Ludl Electronics, USA

3.2 Herstellung des Masterwafers

Der Masterwafer wird benötigt, um davon mittels Softlithographie [41, 42] Kanäle in PDMS abzuformen. Es handelt sich dabei um einen Siliziumwafer, auf den die Kanalstrukturen aus SU-8(5) Fotolack als Negativ aufgebracht werden.

Zur Reinigung der Waferoberfläche wird der Wafer zuerst für 20 Minuten in Caro'sche Säure, eine Mischung aus Wasserstoffperoxid und Schwefelsäure im Verhältnis 1:3, gelegt und danach mit entmineralisiertem Wasser gespült. Der Wafer wird dann bei 3000 Umdrehungen pro Minute für 20 Sekunden trocken geschleudert. Das restliche Wasser verdampft auf einer Heizplatte bei 200°C für 20 Minuten.

Nach Abkühlen des Wafers kann dieser in die Halterung der Spin-Coating-Anlage eingebaut werden. Der verwendete SU-8(5) Fotolack wird mittig auf den Wafer gegeben und durch Rotation mit 500 Umdrehungen pro Minute für 5 Sekunden gleichmäßig verteilt. Die gewünschte Schichtdicke wird danach mit einer Geschwindigkeit von 2950 Umdrehungen pro Minute für 30 Sekunden erreicht.

Beim Pre-Exposure Bake wird der Wafer dann auf einer Heizplatte in fünf Minuten auf 40°C, in zehn Minuten auf 60°C und in 15 Minuten auf 90°C gebracht, wobei diese Temperaturen für jeweils fünf Minuten konstant bleiben. Nach angemessener Abkühlzeit wird der Wafer mit einer direkt aufliegenden Glas-Chrom-Blende abgedeckt und mit UV-Licht für 20 Sekunden belichtet (Abb. 8.a). Zur Vernetzung der durch UV-Licht aktivierten Bereiche

folgt der Post-Exposure Bake des Wafers auf der Heizplatte nach dem vorherigen Schema (Abb. 8.b).

Die nicht belichteten Bereiche lassen sich danach in einem Entwicklerbad bei einer Entwicklungsdauer von 60 Sekunden ablösen (Abb. 8.c). Zum Entfernen des Entwicklers wird der Wafer anschließend erst mit Aceton und dann mit Isopropanol abgespült und mit Stickstoff getrocknet.

Die Qualität der aufgetragenen Struktur lässt sich mittels eines Mikroskops optisch überprüfen und die Höhe mit einem Profilometer bestimmen.

Zuletzt wird der Wafer mit Tridecafluor-1,1,2,2-tetrahydrooctyl-trichlorosilan (TDTS) beschichtet. Dazu gibt man einen Tropfen TDTS auf einen Objektträger und diesen zusammen mit dem Wafer in einen Exsikkator. Das TDTS verdampft bei Unterdruck und beschichtet den Wafer innerhalb einer halben Stunde.

3.3 Mikrofluidikchips

Die sich auf dem Wafer befindenden negativen Kanalstrukturen werden mittels PDMS abgeformt. Nach dem Vermischen der zwei Komponenten des PDMS im Massenverhältnis zehn Teile Basispolymer zu einem Teil Linker wird der Wafer mit insgesamt 22g davon übergossen und in den Exsikkator gestellt. Wenn die beim Verrühren entstandenen Luftbläschen nach etwa 15 Minuten entfernt sind, härtet das PDMS bei 85°C innerhalb von vier Stunden im Trockenschrank aus (Abb. 8.d).

Die PDMS-Schicht wird anschließend vom Wafer abgezogen. Die relevanten Kanäle werden mit einem Skalpell ausgeschnitten und an den Kanalenden Löcher mit 2mm Durchmesser gestanzt. Zur Reinigung werden die PDMS-Stücke im Ultraschallbad nacheinander in Aceton, Ethanol und Wasser gegeben und mit Stickstoff getrocknet. Danach folgt eine 30 Sekunden dauernde Behandlung der Kanalseite in einer Sauerstoff-Plasmaanlage (mit Sauerstoffdruck $p=0.1$ mbar, $U=50$ kV und Elektrodenabstand $d=10$ cm).

Die offene Seite des PDMS-Kanals wird mit einem Deckglas verschlossen, welches mit PDMS beschichtet ist. Dazu wird es vorher im Ultraschallbad in Aceton, Ethanol und Wasser gereinigt und mittels Spin-Coating bei 1400 Umdrehungen pro Minute für 15 Sekunden eine PDMS-Schicht aufgetragen. Auf der Heizplatte härtet diese Schicht innerhalb von 20 Minuten bei 85°C aus. Diese Objektträger werden dann noch einmal im Ultraschallbad wie oben beschrieben gereinigt und ebenfalls plasmabehandelt.

Nach einer halben Stunde kann der Kanal befüllt und verwendet werden. Der Kanal adhert an eine Plexiglasplatte, die Bohrungen über den Reservoiren aufweist (Abb. 8.e und 10). Daran können die Druckschläuche der pneumatischen Pumpe angeschlossen werden.

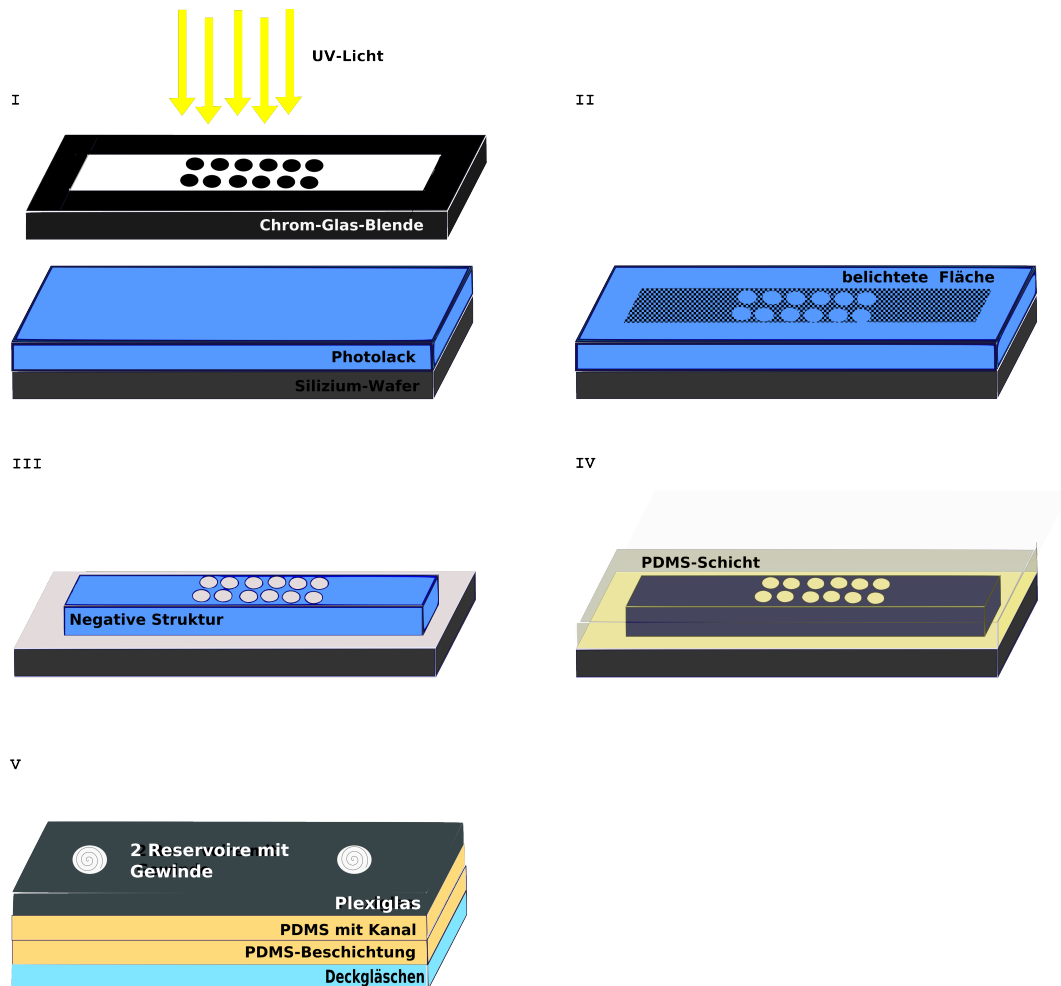


Abbildung 8 – Herstellung des Masterwafers und der PDMS-Chips: **a.** Belichten des Photolacks mit der durch die Maske vorgegebenen Struktur. **b.** Aushärten des Lacks in den belichteten Bereichen. **c.** Ablösen der unbelichteten Bereiche. Nach der Entwicklung bleibt ein Negativabdruck der gewünschten Struktur zurück. **d.** Der Wafer wird mit einer Schicht PDMS überzogen und diese ausgehärtet. Diese Schicht wird abgezogen, der gewünschte Bereich wird ausgeschnitten, an den Enden werden Reservoirs gestanzt und die Oberfläche wird plasmabehandelt. **e.** Ein Deckglas mit PDMS-Schicht dient nach Plasmabehandlung als Unterseite. Der Chip adheriert an eine Plexiglasplatte, die Bohrungen mit Gewinde an den Stellen der Löcher aufweist. Dort können Druckschläuche angeschlossen werden.

Die Qualitätskontrolle der Kanäle erfolgt mittels Rasterelektronenmikroskopie. Um eine leitende Oberfläche zu bekommen, wird die Probe zuvor mit Gold besputtert.

3.4 Chirale Teilchen

Die verwendeten Teilchen werden aus SU-8(2) Photolack auf einem 5-Zoll-Wafer im Wesentlichen nach dem im Abschnitt 3.2 erläuterten Verfahren hergestellt. Lediglich bei der Einstellung der Schichtdicke mit 800 Umdrehungen pro Minute für 30 Sekunden und bei der Belichtungsdauer von acht Sekunden müssen Änderungen vorgenommen werden.

Die Bereiche, auf denen die Teilchen aufgebracht wurden, werden anschließend mit einem Glasschneider ausgeschnitten und nach Teilchenart getrennt in mit Wasser gefüllte Glasflaschen gegeben. An einem Stativ locker befestigt werden die Gläschen im Ultraschallbad an die Stellen höchster Amplitude gebracht. Die Teilchen lösen sich nach etwa zehn Sekunden vom Wafer. Die Waferstückchen können mit einer Pinzette entfernt werden. Die Teilchen werden anschließend durch Zentrifugieren (5000 Umdrehungen für vier Minuten) aufkonzentriert, der Überstand verworfen und die Teilchen resuspendiert.

3.5 Versuchsaufbau

Das Experiment wird mit einem Axiovert 200 Mikroskop mit 10x-Objektiv durchgeführt (Abb. 9). Das Plexiglas mit der Probe (siehe Abb. 10) wird dazu auf der über einen Joystick in x- und y-Richtung beweglichen Stage abgelegt.

Die an die Reservoirs der Chips angeschlossenen Druckschläuche ermöglichen das Anlegen eines Drucks durch eine pneumatische Pumpe von bis zu 200 mbar in beide Richtungen. Zusätzlich kann zwischen konstantem Druck und sinusquadratförmig gepulstem Druck mit verschiedenen Periodenlängen umgeschaltet werden.

An das Mikroskop ist eine CCD-Kamera Sensicam qe angeschlossen, die Bilder mit einer Framerate von etwa 8 Bildern pro Sekunde aufnimmt. Die Software Davis®6 von LaVision verarbeitet und speichert die aufgenommenen Bilder und Videos, so dass diese anschließend mit ImageJ [43, 44] und dem Plugin MTrackJ ausgewertet werden können.

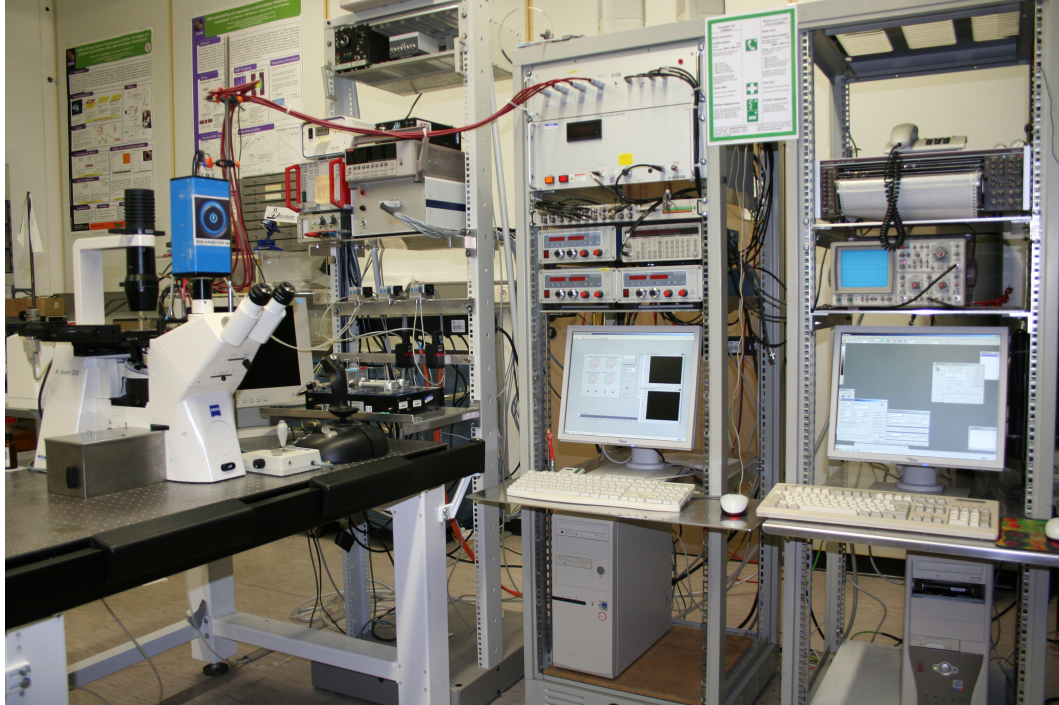


Abbildung 9 – Der Versuchsaufbau. Links befinden sich das Mikroskop und Joysticks für die pneumatische Pumpe und die Stage. Rechts sieht man die beiden Computer zur Steuerung der Pumpe und der Kamera.

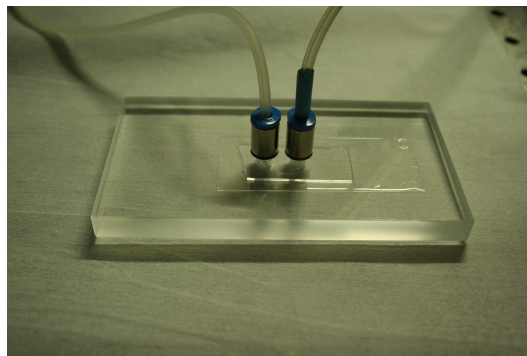


Abbildung 10 – Der Chip adheriert an die Plexiglasplatte. Die Druckschläuche der pneumatischen Pumpe können in die Gewinde über den Reservoirien geschraubt werden.

4 Resultate und Diskussion

In dieser Arbeit soll ein zweidimensionaler Trennversuch von chiralen Objekten in einem Mikrofluidikkanal durchgeführt werden. Statt Molekülen werden hierbei chirale Modellpartikel verwendet, die Abmessungen im μm -Bereich aufweisen. Die benötigten Kanäle lassen sich dafür ohne größeren Aufwand herstellen und die Bewegung der Partikel kann direkt mit dem Mikroskop beobachtet werden.

In Kapitel 4.1 werden die verwendeten Kanäle charakterisiert. Insbesondere werden dabei an Hand von Rasterelektronenmikroskopieaufnahmen die Form und Abmessungen der sich im Kanal befindenden Pforten untersucht. Die verwendeten Testmigranten werden in Kapitel 4.2 beschrieben.

Die Ergebnisse der Trennversuche folgen in Kapitel 4.3. Insgesamt konnten drei Versuche realisiert werden: Die Bewegung von $10 \times 6 \mu\text{m}$ Teilchen beider Chiralitäten ohne Trennung (Abschnitt 4.3.2), die deutliche Trennung der $15 \times 9 \mu\text{m}$ Teilchen (Abschnitt 4.3.1) sowie Versuche mit einem gepulsten hydrodynamischen Antrieb (Abschnitt 4.3.3).

4.1 Produktion der Kanäle

Für die Trennung war das Design eines 1mm breiten Kanals mit einem um 15° zur Längsachse des Kanals gedrehten Pfortenarray vorgesehen. Die Pforten sollten die Form eines Zylinders mit kreisförmiger Grundfläche und einem Durchmesser von $10 \mu\text{m}$ aufweisen und mit einem Mittelpunktabstand von $22 \mu\text{m}$ angeordnet sein (siehe Abbildung 11). Weiterhin wurde eine Kanalhöhe zwischen 5 und $6 \mu\text{m}$ angestrebt, um eine Rotation der Partikel mit Abmessungen $10 \times 6 \mu\text{m}$ und $15 \times 9 \mu\text{m}$ um ihre Längsachse zu vermeiden.

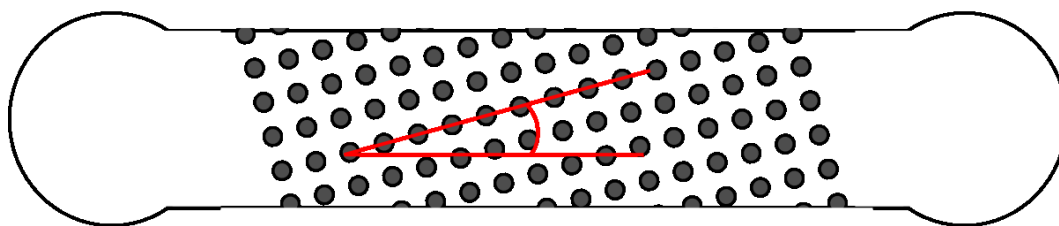


Abbildung 11 – Schemazeichnung des Kanals. Im Kanal befinden sich Reihen zylinderartiger Pforten, die um einen Winkel von 15° gekippt sind. Die Pforten weisen einen Durchmesser von $10 \mu\text{m}$ auf und haben einen Mittelpunktsabstand von $22 \mu\text{m}$ zu den Nachbarn. An den Kanalkanten wurden Reservoirs gestanzt. Die Zeichnung ist nicht maßstabsgetreu.

Die per Softlithographie (siehe Abschnitt 3.3) produzierten Kanäle weisen eine den Vorgaben entsprechende Höhe von etwa $5,7 \mu\text{m}$ auf (Abbildung 12).

Abweichungen treten bei der Form der Pforten auf. Statt zylindrischer Form wie vorge-

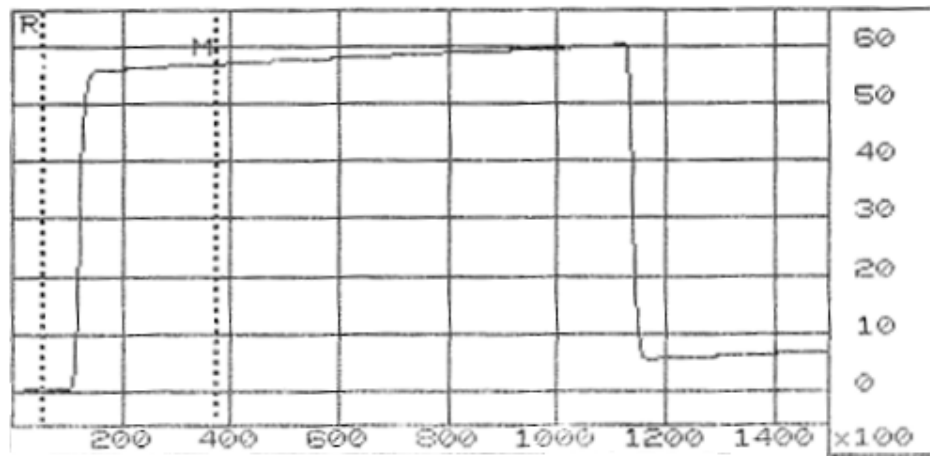


Abbildung 12 – Höhenprofil des Kanals mit einem Profilometer aufgenommen. Die Höhe beträgt ca. $5,7 \mu\text{m}$.

sehen, verjüngen sich die Pforten und weichen leicht voneinander ab (siehe Abbildung 13).

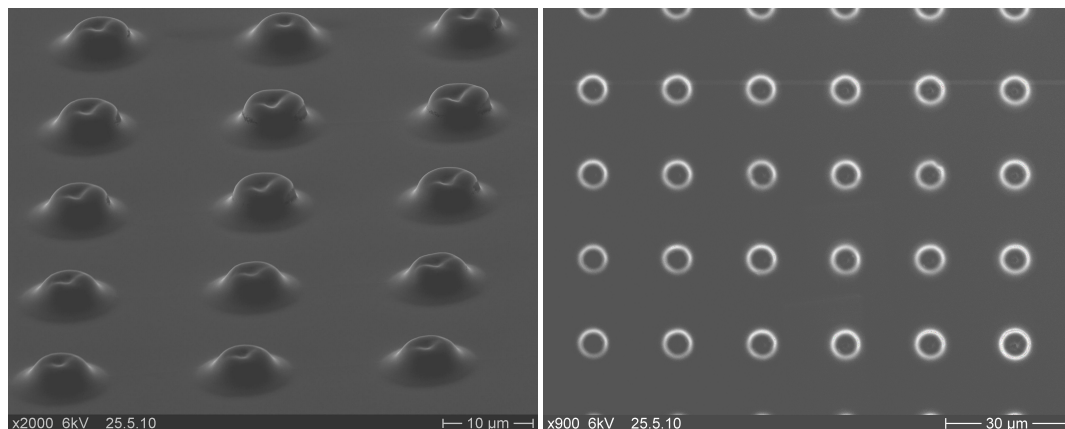


Abbildung 13 – a) Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines PDMS-Abdrucks des mit Pforten strukturierten Bereichs. Auffällig sind die glockenartige statt zylindrische Form und geringe Abweichungen in der Form der verschiedenen Pforten. b) Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der Pforten. An Hand dieser Aufnahme lässt sich der Durchmesser der Pforten zu $6,18 (\pm 0,21) \mu\text{m}$ und der Mittelpunktabstand zwischen den Pforten zu $20,54 (\pm 0,11) \mu\text{m}$ bestimmen.

An Hand einer weiteren Rasterelektronenmikroskopieaufnahme senkrecht zur Oberfläche wurde der Durchmesser von 34 Pforten bestimmt (Abbildung 13). Es ergab sich dabei ein Wert von $6,18 (\pm 0,21) \mu\text{m}$, was deutlich unter den $10 \mu\text{m}$ liegt, die von der Maske vorgegeben waren. Die Abstände zwischen den Pfortenmittelpunkten wurden über 44 Abstände gemittelt zu $20,54 (\pm 0,11) \mu\text{m}$ bestimmt. Diese Werte werden für die Simulation verwendet.

Diese zwischen Vorgaben und Realisierung aufgetretenen Abweichungen sind hauptsächlich

auf die Belichtung und Entwicklung während des Lithographieprozesses zurückzuführen. Insbesondere für die kleineren Strukturen im Kanal ist ein lückenloser Kontakt zwischen Lack und Maske sowie eine genau abgestimmte Belichtungsdauer notwendig. Bei falscher Belichtung werden die Strukturen unscharf oder lösen sich bei der Entwicklung. Eine Überbelichtung kann durch Beugung des Lichts unter die Maske unscharfe Konturen verursachen, so wie diese bei den Pfosten zu beobachten sind. Zu den abweichenden Abmessungen können auch Ungenauigkeiten bei der Fertigung der Maske beigetragen haben.

4.2 Produktion der Teilchen

Die zu trennenden Teilchen werden nach dem im Abschnitt 3.4 beschriebenen Verfahren aus SU-8(2)-Lack hergestellt. Die geplanten Abmessungen der beiden verwendeten Teilchenarten sind Abbildung 14 zu entnehmen. Mit dieser Größe ist eine Rotation der Teilchen um ihre Längsachse im Kanal ausgeschlossen, so dass die Chiralität sich nach Eintritt in den Kanal nicht ändern kann.

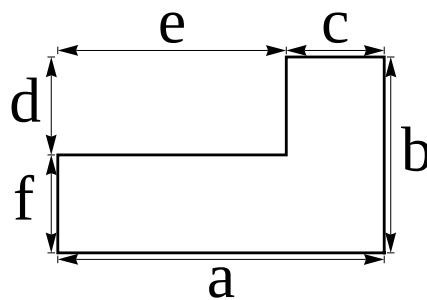


Abbildung 14 – Vorgegebene Abmessungen der L-förmigen Testmigranten. Es kommen zwei verschiedene Größen zum Einsatz, die kleineren 10x6 -Teilchen mit den Seitenlängen $a=10\ \mu\text{m}$, $b=6\ \mu\text{m}$, $c=d=f=3\ \mu\text{m}$ und $e=7\ \mu\text{m}$ und die größeren 15x9-Teilchen mit den Abmessungen $a=15\ \mu\text{m}$, $b=9\ \mu\text{m}$, $c=f=4\ \mu\text{m}$, $d=5\ \mu\text{m}$ und $e=11\ \mu\text{m}$.

Entscheidend ist an dieser Stelle vor allem die Höhe der Testteilchen. Diese sollen sich in dem etwa $5,7\ \mu\text{m}$ hohen Kanal (vgl. Abschnitt 4.1) bewegen können, ohne zwischen Wand und Boden stecken zu bleiben. Andererseits sind die eingebrachten Pfosten nicht immer sicher durchgängig bis zum Kanalboden, so dass eine zu geringe Höhe der Teilchen die Wechselwirkung mit den Pfosten beeinträchtigt. Aus diesem Grund wurde eine Höhe von etwa $4\ \mu\text{m}$ vorgesehen und bei der Fertigung der Teilchen eine Höhe von ungefähr $4,6\ \mu\text{m}$ erreicht, was mit einem Profilometer bestimmt wurde und hinreichend für das Experiment ist (siehe Abbildung 15).

Nach Ablösen vom Wafer und Aufkonzentrierung der Teilchen (vgl. Abschnitt 3.4) kann die Suspension mittels optischer Mikroskopie untersucht werden (Abbildung 16). Anhand dieser Abbildung lässt sich eine Größenstatistik der gefertigten Teilchen aufstellen (siehe Abbildung 17). Dazu wurden von 30 Teilchen die Längen a , b , d und e bestimmt (Benennung wie in Abbildung 14). Zwar ergeben sich bei den Mittelwerten Abweichungen von den



Abbildung 15 – Die Höhe der Testpartikel gemessen auf dem Wafer am Rand der mit Partikeln strukturierten Zone wird mit einem Profilometer zu ca. 4,6 µm bestimmt. Die Höhe der Kanäle beträgt zum Vergleich 5,7 µm. Damit ergibt sich eine Höhendifferenz von etwa 1 µm - genug um die Partikel in den Kanal zu injizieren, so dass sie weder unter den Pfosten durchpassen noch zwischen Decke und Boden des Chips hängen bleiben.

Vorgaben von bis zu 15 %, die Teilchen sind untereinander aber sehr ähnlich. Während vor allem die Längen der Außenkanten a und b weniger als drei Prozent um ihren Mittelwert schwanken, zeigen die inneren Kanten d und e etwas höhere Standardabweichungen (vgl. Tabelle 4). Diese Abweichungen können durch den Lithographieprozess und dabei insbesondere bei der Belichtung entstanden sein. Insbesondere die innere Ecke wurde durch die Belichtung deutlich abgerundet. Wesentlich trägt vermutlich auch die Ungenauigkeit beim Vermessen der Mikroskopieaufnahmen bei. Einerseits lässt sich der Rand der Partikel durch die Abrundung und durch die leicht schrägen Seitenwände nicht eindeutig bestimmen. Andererseits beträgt die Pixelgröße in der Aufnahme etwa 160 nm und liegt damit unter der Auflösungsgrenze, d.h. es gibt mehr Pixel als physikalische Information in dem Bild enthalten ist.

Tabelle 4 – Gemessene Seitenlängen der 15x9 Partikel wie in Abbildung 14.

	a [µm]	b [µm]	d [µm]	e [µm]
Mittelwert	13,1	8,1	4,7	9,4
Standardabweichung	0,34	0,22	0,35	0,38
Variation	2,6 %	2,7 %	7,5 %	4,1 %
Sollwert	15	9	5	11

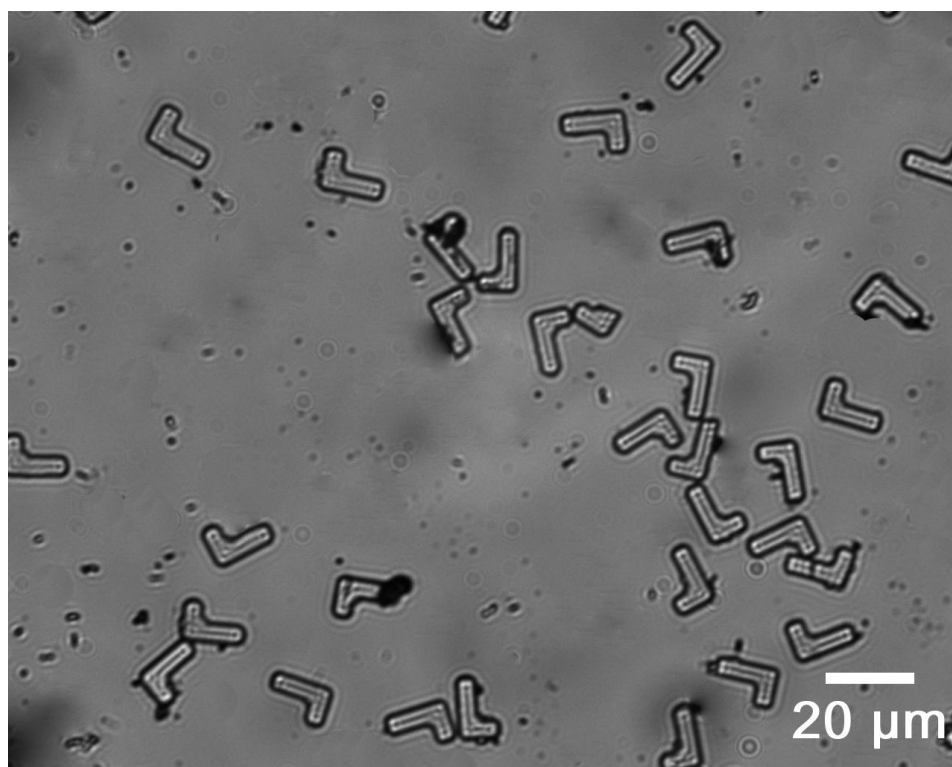


Abbildung 16 – Lichtmikroskopische Aufnahme der abgelösten Partikel in Wasser.

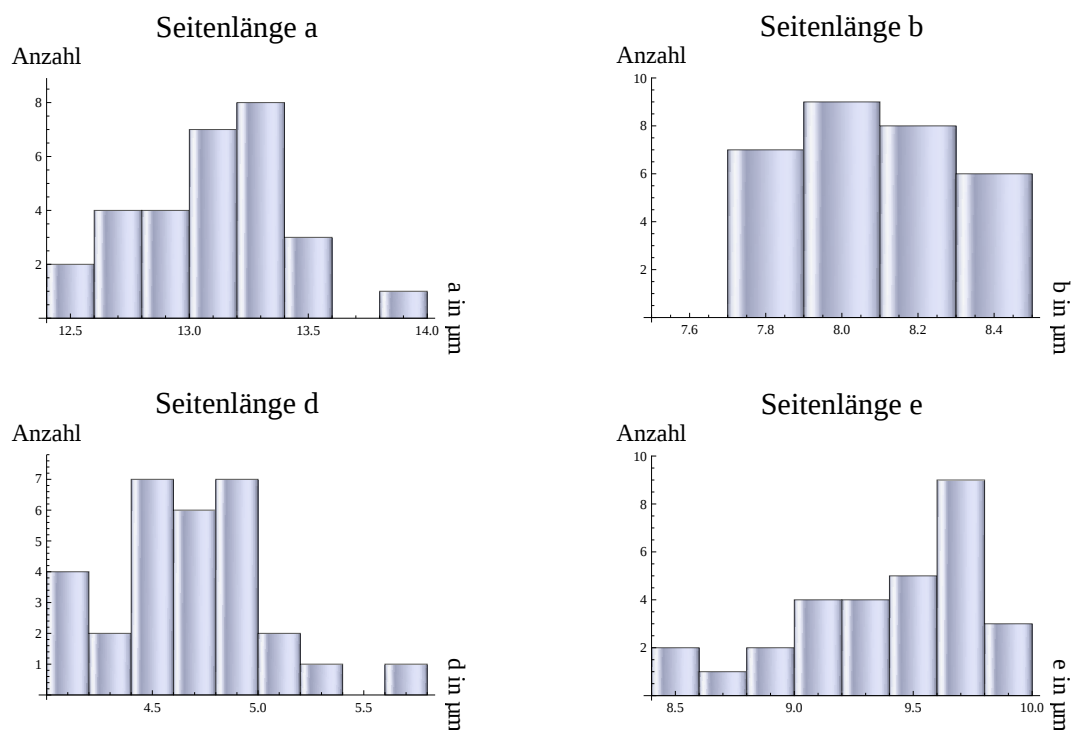


Abbildung 17 – Größenverteilung der 15x9 Partikel. Die Benennung der Seiten entspricht der in Abbildung 14.

4.3 Ergebnisse der Trennversuche

Die in Abschnitt 3.4 produzierten Teilchen lassen sich in die Mikrofluidikchips aus Abschnitt 3.3 injizieren und darin bewegen, ohne dass sie sich dabei umdrehen und ihre Chiralität verändern. Dabei ist eine Wechselwirkung mit den Pfosten zu beobachten, so dass die Voraussetzungen für das Experiment gegeben sind.

4.3.1 15x9 Teilchen

Für die 15x9 Teilchen ist entsprechend der Simulation eine Trennung zu erwarten (vgl. Abschnitt 2.4), da die Größe zu den verwendeten Pfostenstrukturen passt. Es wurden dazu zehn Messungen mit jeder Chiralität (bezeichnet mit L und Γ) durchgeführt. Es zeigte sich, dass die L-Teilchen der Strukturierung folgten und mit $11,62^\circ (\pm 3,13^\circ)$ nach oben abgelenkt wurden. Hingegen konnten die Γ -Teilchen die Pfostenreihe durchdringen und wurden dabei um $10,54^\circ (\pm 0,95^\circ)$ nach unten abgelenkt. Der Differenzwinkel beträgt somit $22,16^\circ (\pm 3,27^\circ)$.

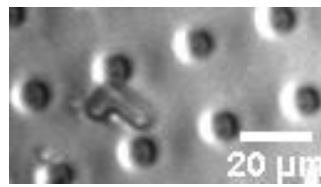


Abbildung 18 – Auf dieser Mikroskopie-Aufnahme lässt sich das Größenverhältnis zwischen Teilchen und Pfosten erkennen.

Tabelle 5 – Transportwinkel für 15x9 Teilchen gemessen zur Längsachse des Kanals.

	L-Teilchen	Γ -Teilchen
abgelenkter Winkel	$11,62^\circ$	$-10,54^\circ$
Standardabweichung	$3,13^\circ$	$0,95^\circ$
Trennungswinkel	$22,16^\circ$	$\pm 3,27^\circ$

Die Trajektorien der Einzelmessungen sind in Abbildung 19 zusammengefasst. Einige der Linien sind kürzer, da Teilchen zwischen zwei Pfosten fest steckten und sich nicht weiter bewegten. Dieses Problem lässt sich bei weiteren Experimenten durch den Einsatz eines gepulsten Antriebs beheben (siehe Abschnitt 4.3.3). Es fällt auf, dass hier zwischen den einzelnen Trajektorien der L-Teilchen größere Abweichungen auftreten als bei den chiralen Partnern. Deren Bewegung scheint nahezu deterministisch.

Es lassen sich typische wiederkehrende Migrationsmodi der Teilchen beobachten, die auf unterschiedliche Wechselwirkungen mit den Pfosten zurückzuführen sind. Bei den Γ -Teilchen zeigt sich in allen zehn beobachteten Fällen überwiegend eine Bewegung mit der schmalen Kante voran. Trifft diese auf einen Pfosten, bewegt sich das Teilchen nach unten unter diesem Hindernis vorbei (siehe Abbildung 20).

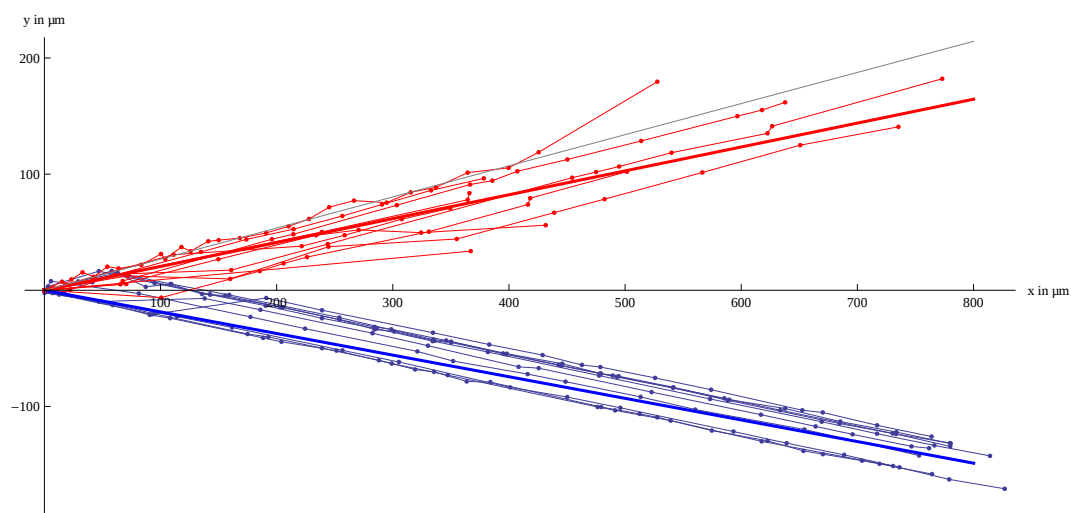


Abbildung 19 – Trajektorien der L-Teilchen (rot) und deren chiralen Partnern den Γ -Teilchen (blau). Die gemessenen Positionspunkte sind zur besseren Übersichtlichkeit verbunden. Es wurden jeweils zehn Experimente durchgeführt. Die dicken Linien stellen den Mittelwert der Transportwinkel dar. Die graue Linie gibt zur Orientierung die Richtung der Pfosten an.

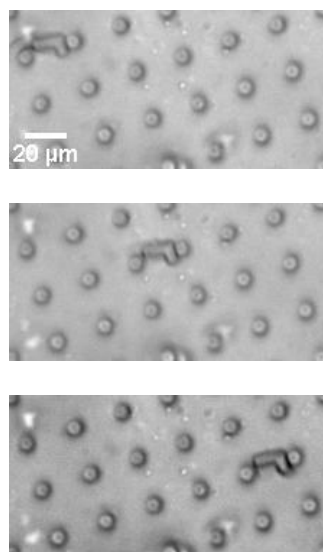


Abbildung 20 – Typische zu beobachtende Migrationsbewegung der Γ -Teilchen. Die Teilchen werden durch die Wechselwirkung mit den Pfosten nach unten abgelenkt.

Für die L-Teilchen lassen sich zwei charakteristische Bewegungsmuster feststellen (siehe Abbildung 21). In acht der zehn Realisierungen ist zumindest zeitweise zu erkennen, dass die Teilchen immer wieder aufrecht zwischen zwei Pfosten stehen und somit dem Verlauf der Pfostenreihen unter dem Winkel von 15 Grad folgen. In den anderen beiden Fällen überwiegt eine Bewegung der Teilchen mit der langen Seite voran, also genau anders herum als bei seinem chiralen Partner (Abbildung 20). Dabei führt die Teilchenbewegung oberhalb Pfosten vorbei. Da dieses Verhalten bei den beiden Experimenten mit den niedrigsten

Drücken auftritt, lässt sich vermuten, dass die Wahl des Bewegungsmusters vom Druck des Systems und der Teilchengeschwindigkeit abhängt. Auf Grund der geringen Versuchszahl lässt sich dies aber nicht genauer überprüfen. Die Existenz verschiedener Migrationsmechanismen bei den L-Teilchen könnte die Ursache für die hohe Standardabweichung des Migrationswinkels (vgl. Tabelle 5) und die im Vergleich zu den Γ -Teilchen unregelmäßigen Trajektorien (vgl. Abbildung 19) sein.

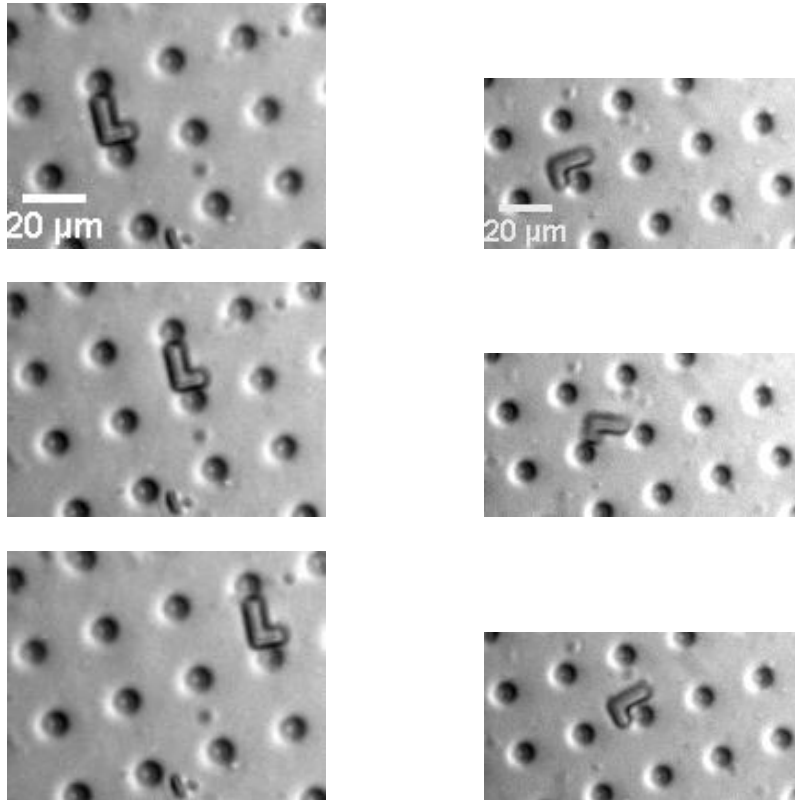


Abbildung 21 – Typische zu beobachtende Migrationsbewegung der L-Teilchen.
 Linke Spalte: Die Teilchen folgen der Pfostenreihe.
 Rechte Spalte: Die Teilchen bewegen sich oberhalb der Pfosten vorbei.

Die Messergebnisse lassen sich mit den Simulationsergebnissen (vgl. Abschnitt 2.4) vergleichen. Die Größe der verwendeten Teilchen wurde in Abschnitt 4.2 bereits bestimmt. Die Form entspricht näherungsweise einem in der Simulation verwendeten aus vier Kugeln zusammengesetzten Objekt mit einem Radius von 2,1 bis 2,4 μm . Die Seitenverhältnisse der im Experiment verwendeten Teilchen stimmen auf Grund der Maskenvorgaben und produktionsbedingter Abweichungen jedoch nicht genau mit diesem Modell überein. Außerdem variiert auch der Durchmesser der hergestellten Pfosten je nach Höhe (vgl. Abschnitt 4.1), so dass diese Form nicht ganz genau der idealen Zylinderform entspricht. Mit den verwendeten Teilchen und den um 15 Grad gedrehten Pfostenreihen liegt man genau in dem Bereich, in dem eine Trennung um bis zu etwa 15 Grad möglich ist. In Abbildung 22 ist der Bereich, in dem das Experiment stattgefunden hat, durch einen grünen Kasten markiert.

Die experimentell erzielte Trennung um $22,16^\circ (\pm 3,27^\circ)$ weicht nur geringfügig von dem aus der Simulation zu erwartenden Wert von bis zu etwa 16 Grad ab, obwohl die Form der Teilchen nur sehr grob übereinstimmt.

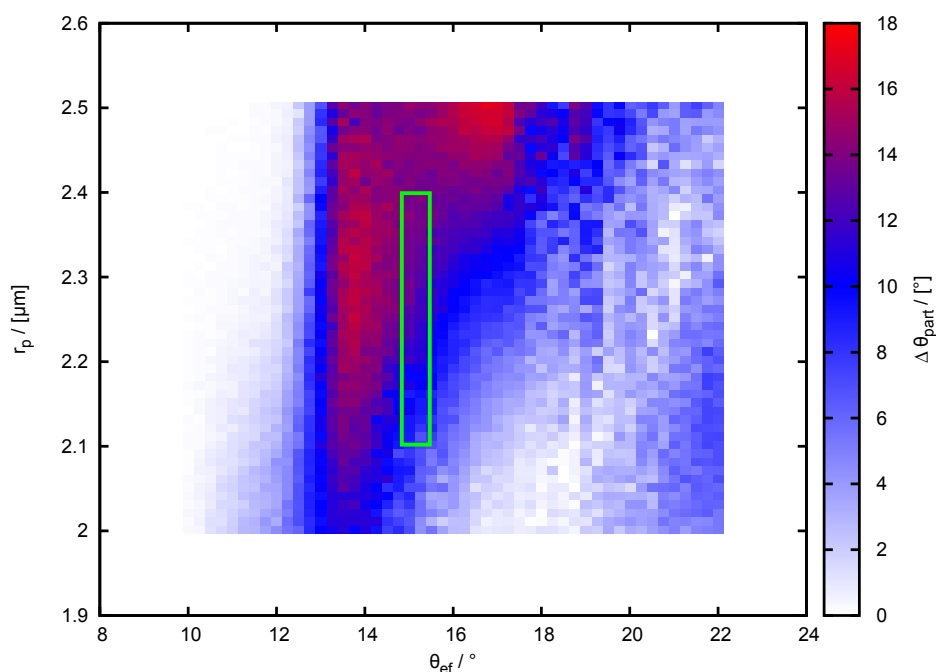


Abbildung 22 – Der Parameterbereich, in dem das Experiment einzuordnen ist, entspricht dem Inhalt des grünen Kastens. Dargestellt sind die Simulationsergebnisse aus Abbildung 7.

4.3.2 10x6 Teilchen

Mit den 10x6 Teilchen wurde ein Experiment mit kleinen Teilchen durchgeführt, für die auf Basis der Simulation keine Trennung zu erwarten war. Für 10x6 Teilchen wurden jeweils zehn Realisierungen des Experiments für die beiden chiralen Formen im selben Chip durchgeführt. Der Migrationswinkel relativ zur Kanalachse stimmte für beide Teilchenformen innerhalb der Standardabweichung überein (Tabelle 6) und es zeigte sich somit keine Trennung.

Tabelle 6 – Transportwinkel für 10x6 Teilchen gemessen zur Längsachse des Kanals.

	L-Teilchen	Γ -Teilchen
abgeleitet Winkel	$-6,19^\circ$	$-5,56^\circ$
Standardabweichung	$1,98^\circ$	$0,74^\circ$

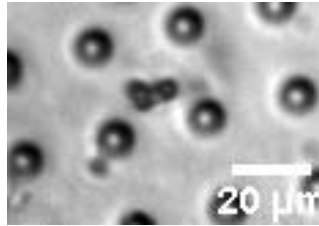


Abbildung 23 – Auf dieser Mikroskopie-Aufnahme lässt sich das Größenverhältnis zwischen Teilchen und Pforten erkennen.

Die chirale Trennung ist nur für bestimmte Größenverhältnisse zwischen Kanalstrukturen und Teilchen möglich (vgl. Abschnitt 2.4). Mit diesen relativ kleinen Teilchen liegt man somit offensichtlich außerhalb des Bereiches in dem eine Trennung durchgeführt werden kann.

4.3.3 Gepulste Trennung

Um die Strecke, die Teilchen mit Abmessungen in der Größenordnung der Pfortenabstände transportiert werden können, zu verlängern, lässt sich ein gepulster Antrieb einsetzen. Hierzu wurde zunächst ein sinusquadratisch gepulster Druck mit einer Frequenz von 0,1 Hertz verwendet. Zwischen zwei Pforten stecken gebliebene Teilchen können auf diese Weise befreit werden (siehe Abbildung 24). In der Regel reichen wenige Pulse aus, bis das Teilchen frei ist und weiter transportiert werden kann.

Tabelle 7 – Vergleich der Transportwinkel der 15x9 µm Teilchen (L-Form) mit konstantem und gepulstem Druck

	mit konstantem Druck	mit gepulstem Druck
abgelenkter Winkel	11,62°	12,37°
Standardabweichung	3,13°	5,7°

Der Transport mit gepulstem Druck bietet die Möglichkeit, die Teilchen über eine längere Strecke zu bewegen und somit die Ablenkungswinkel mit höherer Genauigkeit zu bestimmen. Für das Experiment scheinen sowohl konstanter als auch gepulster Druck gleichwertig. Es wurden dazu zehn Messungen mit gepulstem Druck an L-Teilchen der Größe 15x9 µm durchgeführt und mit den Ergebnissen aus Abschnitt 4.3.1 verglichen. Die gemessenen Winkel stimmen im Rahmen der Standardabweichung überein (Tabelle 7).

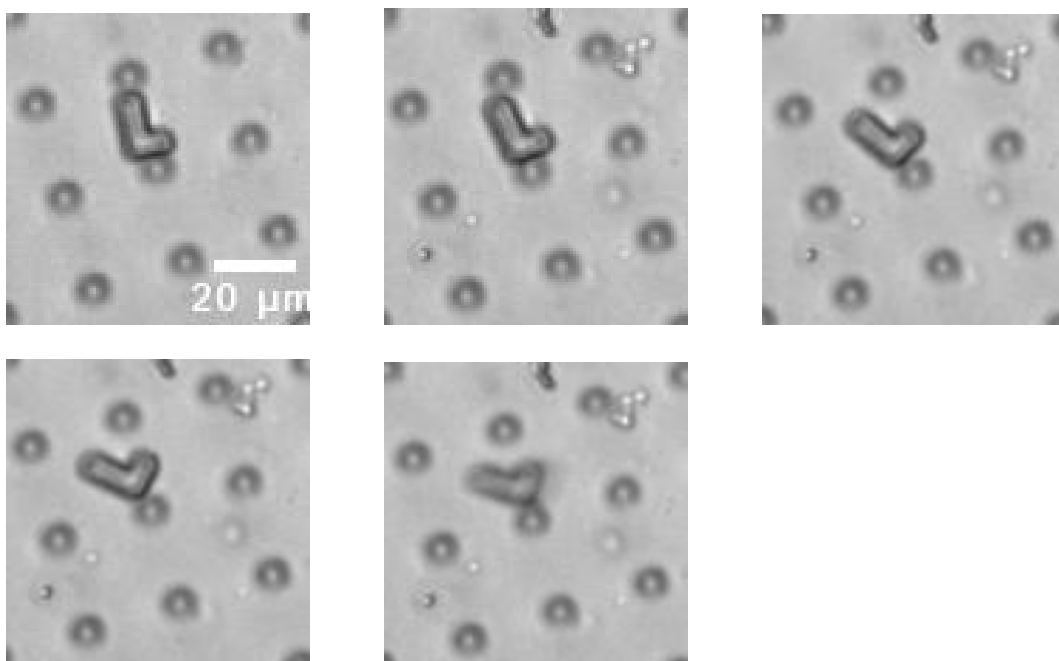


Abbildung 24 – Bei anliegendem Druck wird ein Teilchen von links nach rechts durch den Kanal transportiert und bleibt dann zwischen zwei Pfosten stecken (oben links). Würde der Druck konstant gehalten werden, ließe sich das Teilchen nicht mehr aus dieser Position bringen. Bei abnehmendem bzw. ohne angelegten Druck löst sich das Teilchen wieder und lässt sich danach weiter transportieren. Die Bilder sind im Abstand von etwa einer Sekunde aufgenommen.

5 Zusammenfassung und Ausblick

Ziel dieser Arbeit war es, eine Trennung chiraler Teilchen experimentell in einem Mikrofluidikkanal durchzuführen. In dem verwendeten Kanal befand sich ein um 15 Grad gekipptes Pfostenarray, an dem die chiralen Teilchen unterschiedlich abgelenkt werden sollten. Die genauen Eigenschaften der für das Experiment verwendeten Teilchen und Kanäle waren zuvor simuliert worden. Zu erwarten war entsprechend der Theorie eine unter anderem von der Größe der verwendeten Teilchen abhängige Trennung.

Zunächst wurden dafür flache Mikrofluidikkanäle hergestellt und in Abschnitt 4.1 charakterisiert. Insbesondere wurde dabei die Form der Pfosten untersucht, um Geometriedaten für die Simulation zu erhalten.

Weiterhin wurden L-förmige Teilchen mit den Abmessungen 10x6 bzw. 15x9 μm produziert und charakterisiert (Abschnitt 4.2). Während der Produktion wurden Abweichungen von weniger als 7,5 % in den Abmessungen der Teilchen erreicht.

In Abschnitt 4.3 wurden zwei Größenverhältnisse zwischen Teilchen und Pfosten gewählt. Es konnte dabei eine erfolgreiche Trennung der 15x9 Teilchen mit einem Winkel von $22,16^\circ$ ($\pm 3,27^\circ$) erreicht werden. Zur Überprüfung der Theorie wurde der Versuch mit kleineren 10x9 Teilchen durchgeführt, wobei keine Trennung zu beobachten war. Diese Ergebnisse stimmen mit den Erwartungen auf Grund der Simulation überein.

Außerdem wurde in Abschnitt 4.3.3 die Möglichkeit untersucht, einen gepulsten Antrieb einzusetzen, um ein Feststecken der Teilchen zu verhindern und sie auch über weitere Strecken zu transportieren. Dieses Konzept zeigte jedoch keine erkennbaren Leistungsunterschiede hinsichtlich des Trennungswinkels.

Es sollten nun weitere Messungen durchgeführt werden, um Experiment und Simulation genauer zu vergleichen. Für Messungen mit Pfostenwinkeln von 12 und 18 Grad sollte sich laut Simulation eine nicht mehr nennenswerte Trennung ergeben. Damit wäre der in Abbildung 6 abgebildete Trennbereich von allen Seiten eingegrenzt.

Weiterhin könnte das System so weit angepasst werden, dass dieses Trennprinzip auch auf dreidimensionale Objekte und Moleküle angewendet werden kann.

Möglich wäre es auch, ein neues Kanaldesign zu implementieren, so dass sich der Kanal an einer Seite längs in zwei Teile aufspaltet. Nach Durchlaufen eines Kanals mit Pfostenstruktur angemessener Länge sollten sich die Partikel nach Chiralität getrennt an den verschiedenen Seitenwänden befinden und könnten dann in zwei verschiedenen Reservoiren aufgefangen werden. Ein solches kontinuierlich funktionierendes System könnte insbesondere hinsichtlich hoher Parallelisierung im industriellen Einsatz attraktiv sein.

Durch einen Einsatz der selektorfreen Trennung in der Pharmazie könnte auf teure chi-

rale Selektoren verzichtet werden, welche die zu trennende Probe eventuell zusätzlich verunreinigen könnten. Ein weiterer Vorteil wäre die kompakte Form des Experiments auf einem Chip. Es könnten auch kleinste Probenmengen analysiert werden. Dies ließe sich auf Grund des geringen Gewichts beispielsweise bei Weltraummissionen wie der Rosetta Mission einsetzen. Dabei wird ein Aufbau mitgeführt, der die Verhältnisse der Enantiomere organischer Verbindungen in Kometenmaterial durch Gaschromatographie und Massenspektroskopie untersucht. Man erhofft sich damit Rückschlüsse darauf, ob der Symmetriebruch bei organischen Verbindungen (nur eine vorkommende Chiralität von Aminosäuren) auf der Erde entstanden ist oder seinen Ursprung im Weltraum hat [45].

Literatur

- [1] K.-H. Hellwich, Stereochemie: Grundbegriffe, Springer, Berlin [u.a.], 2007.
- [2] J.C. Leffingwell, Chirality & Bioactivity I.: Pharmacology, Leffingwell Reports 3 (2003) 1-27.
- [3] N.M. Maier, P. Franco, W. Lindner, Separation of Enantiomers: needs, challenges, perspectives, Journal of Chromatography A, 906 (2001) 3-33.
- [4] H. Roth, Dex-, Lev-, Ar-, Es-, Rac-, neue „reine“ Arzneistoffe, Deutsche Apothekerzeitung, Ausgabe 28 (2009) 66-70.
- [5] E. Francotte, Chirality in Drug Research, WILEY-VCH, Weinheim, 2006.
- [6] G. Guebitz und M. Schmid, Chiral Separation Principles in Chromatographic and Electromigration Techniques, Molecular Biotechnology 32 (2006), 159-179.
- [7] P.G. Gennes, Mechanical Selection of Chiral Chrystals, Europhysics Letters 46 (1999), 827-831.
- [8] M. Kostur, M. Schindler, P. Talkner, P. Hänggi, Chiral separation in microflows, Physical Review Letters 96 (2006), 14502.
- [9] R. Eichhorn, Microfluidic Sorting of Stereoisomers, Physical Review Letters 105 (2010), 34502.
- [10] M. Makino, L. Arai, M. Doi, Shear Migration of Chiral Particle in Parallel-Disk, Journal of the Physical Society of Japan 77 (2008), 64404.
- [11] Marcos, H.C. Fu, T.R. Powers, and R. Stocker, Separation of Microscale Chiral Objects by Shear Flow, Physical Review Letters 102 (2009) 158103.
- [12] M. Fliedner, Selectorfree Separation of Chiral Particles (Vortrag), Universität Bielefeld, Bielefeld, 2010.
- [13] Persönliches Gespräch mit M. Fliedner.
- [14] H. Bruus, Microfluidics and Lab-on-a-Chip Technology (Vorlesungsskript), Technische Universität Dänemark, Kopenhagen, 2007.
- [15] E. Guyon, J.-P. Hulin, L. Petit, Hydrodynamik, Vieweg, Braunschweig/Wiesbaden, 1997.
- [16] P.A. Tipler, G. Mosca, Physik, Spektrum, Heidelberg, 2006.
- [17] L.D. Landau, E.M. Lifschitz, Lehrbuch der Theoretischen Physik Band IV: Hydrodynamik, Harry Deutsch, Frankfurt am Main, 2007.
- [18] W. Greiner, H. Stock, Hydrodynamik, Harry Deutsch, Frankfurt am Main, 1991.

-
- [19] H. Bruus, Lecture notes on theoretical microfluidics (Vorlesungsskript), Technische Universität Dänemark, Kopenhagen, 2004.
- [20] R. Brown, brief account of microscopical observations made in the months of June, July and August, 1827, on the particles contained in the pollen of plants; and on the general existence of active molecules in organic and inorganic bodies, Phil. Mag. 4, 161173, 1828.
- [21] B. Diu, Grundlagen der statistischen Physik, de Gruyter, Berlin, 1994.
- [22] W. Müller-Esterl, Biochemie: eine Einführung für Mediziner und Naturwissenschaftler, Spektrum, Heidelberg, 2009.
- [23] R.S. Cahn, C.K. Ingold, V. Prelog, Spezifikation der molekularen Chiralität, Angew. Chem. Bd. 78, S. 413447, 1966.
- [24] Aus http://info.piercecollege.edu/title3/aln/chem102/Chemistry102_01.html.
- [25] Aus <http://astrobiology.berkeley.edu/Mars101/definitions.htm>.
- [26] Website Bundesverband Contergangeschädigter e.V.
http://www.contergan.de/inhalt.php?id=3121&menu_level=2&id_mnu=4217&id_kunden=459, 22. August 2010
- [27] Website der Firma Grünenthal http://www.contergan.grunenthal.info/ctg/de_DE/html/ctg_de_de_history.jhtml?CatId=ctg_de_de_history_a_01, 22. August 2010
- [28] Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, Pressemitteilung 02/09, http://www.bfarm.de/cIn_103/DE/BfArM/Presse/mitteil2009/pm02-2009.html
- [29] L. Pasteur, Recherches sur les relations qui peuvent exister entre la forme cristalline, la composition chimique et le sens de la polarisation rotatoire, Annales de chimie et de physique, 3^e sér. XXIV, 1848, pp. 442-459.
- [30] V. Schurig, Separation of enantiomers by gas chromatography, Journal of Chromatography A 906 (2001) 275-299.
- [31] K.L. Williams, L.C. Sander, Enantiomer separations on chiral stationary phases in supercritical fluid chromatography, Journal of Chromatography A 785 (1997) 149-158.
- [32] H.Y. Aboul-Enein, M.I. El-Awady, C.M. Heard, P.J. Nicholls, Application of thin-layer chromatography in enantiomeric chiral analysis - an overview, Biomedical Chromatography 13 (1999) 531-537.
- [33] F. Gasparrini, D. Misiti, C. Villani, HPLC chiral stationary phases based on low-molecular-mass selectors, Journal of Chromatography A 906 (2001) 35-50.
- [34] D. Wistuba, V. Schurig, Recent progress in enantiomer separation by capillary electrochromatography, Electrophoresis 21 (2000) 4146-4158

- [35] S. Fanali, Identification of chiral drug isomers by capillary electrophoresis, *Journal of Chromatography A* 735 (1996) 77-121.
- [36] T.J. Ward, K.D. Ward , Chiral Separations: Fundamental Review 2010, *Anal. Chem.* 2010, 82, 47124722
- [37] S. Nagl, P. Schulze, M. Ludwig, D. Belder, Progress in microchip enantioseparations, *Electrophoresis* 2009, 30, 2765-2772
- [38] G. Subramanian (Hrsg.), Chiral Separation Techniques, WILEY-VCH, Weinheim, 2007
- [39] W. Hellmich, J. Regtmeier, T.T. Duong, R. Ros, D. Anselmetti, A. Ros, Poly(ethylene) based surface coatings for poly(dimethylsiloxane) microchannels, *Langmuir* 21 (2005) 7551-7557.
- [40] L. Bogunovic, Herstellung chiraler Mikropartikel und Erzeugung asymmetrischer Flussprofile zur enantioselektiven Analytik in einem Mikrofluidiksystem (Masterarbeit), Universität Bielefeld, Bielefeld, 2009.
- [41] Y. Xia, G.M. Whitesides, Soft Lithography, *Angew. Chem. Int. Ed.* 37, 551-575, 1998.
- [42] Y. Xia, G.M. Whitesides, Soft Lithography, *Annu. Rev. Mater. Sci.* 28, 153-184, 1998.
- [43] W.S. Rasband, ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>, 1997-2009.
- [44] M.D. Abramoff, P.J. Magelhaes, S.J. Ram, Image Processing with ImageJ, *Biophotonics International*, volume 11, issue 7, pp. 36-42, 2004.
- [45] W. H.-P. Thiemann, H. Rosenbauer, and U. J. Meierlhenrich, Conception of the 'Chirality-Experiment' on ESA's mission ROSETTA to comet 46P/Wirtanen, *Adv. Space Res.* Vol. 27, No. 2, pp. 323-328, 2001.

Danksagung

Eine große Zahl von Personen hat mich beim Anfertigen dieser Arbeit unterstützt.

Ich möchte mich bei Herrn Prof. Dr. Dario Anselmetti dafür bedanken, dass ich meine Arbeit in seiner Arbeitsgruppe schreiben durfte.

Herrn Prof. Dr. Peter Reimann danke ich für die Erstellung des Zweitgutachtens meiner Arbeit.

Herrn Dr. Jan Regtmeier möchte ich für die Betreuung und Korrektur meiner Arbeit danken.

Besonderer Dank gilt Lukas Bogunovic, der mir alle Produktionsschritte beigebracht, mich in die Bedienung unzähliger Geräte eingewiesen, mich kontinuierlich betreut, meine Arbeit Korrektur gelesen und ständig für Fragen zur Verfügung gestanden hat.

Marc Fliedner danke ich für die ausführlichen Erklärungen zu den Simulationen.

Ich möchte mich aber auch bei allen anderen Mitgliedern der Arbeitsgruppe (insbesondere Dominik Greif und Lukas Galla) für die freundliche Aufnahme und die Hilfe bei verschiedensten Problemen bedanken.

Weiterhin danke ich meinen Eltern für die Unterstützung meines Studiums und meinem Freund Benedict Kalus.