
Statische und dynamische Oberflächenbeschichtungen in Poly(dimethylsiloxan)- und Quarz-Mikrofluidikkanälen

Bachelorarbeit

zur Erlangung des Grades eines
Bachelors of Science

vorgelegt von
Martina Everwand

Universität Bielefeld
Fakultät für Physik

August 2007

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

Bielefeld, den 23.08.2007

(Martina Everwand)

Gutachter

PD Dr. Alexandra Ros

Dr. Andreas Hütten

Eingereicht am 23.08.2007

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	6
2	Theoretische Grundlagen	8
2.1	Laminare Strömung	8
2.2	Viskosität	9
2.3	Elektroosmotischer Fluss	9
2.3.1	Geladene Oberflächen in Salzlösungen	9
2.3.2	Elektroosmotische Mobilität	13
2.4	Bestimmung des EOF	15
2.5	Druckgetriebenes Flussprofil	16
2.6	Oberflächenspannung	17
3	Materialien und Methoden	20
3.1	Verwendete Chemikalien und Materialien	20
3.2	Herstellung des Masterwafers	20
3.3	Herstellung des PDMS-Chips	20
3.4	Präparation der Mikrofluidik-Chips	23
3.5	Current-Monitoring-Methode	24
3.6	Messung der Proteinadsorption	26
3.7	Kontaktwinkelmessung	26
4	Resultate	29
4.1	Optimierung der EOF-Messung	29
4.2	Auswirkungen der Beschichtungen auf den EOF	32
4.2.1	Native Messung des EOF in PDMS und Quarz-Glas-Chips	32
4.2.2	PLL-PEG Beschichtung in PDMS und Quarz-Glas-Chips	33
4.2.3	DDM-MC Beschichtung in PDMS und Quarz-Glas-Chips	34
4.2.4	F ₁₀₈ Beschichtung in PDMS und Quarz-Glas-Chips	35
4.3	Messung der Proteinadsorption	35
4.3.1	Proteinadsorption auf PLL-PEG beschichtetem PDMS und Quarz	36
4.3.2	Proteinadsorption auf DDM-MC beschichtetem PDMS und Quarz	37
4.3.3	Proteinadsorption auf F ₁₀₈ beschichtetem PDMS und Quarz	37
4.4	Ergebnisse der Kontaktwinkelmessung	37

<i>INHALTSVERZEICHNIS</i>	5
5 Diskussion	39
5.1 Optimierung der EOF-Messung	39
5.2 Natives PDMS und Quarzglas	39
5.3 Auswirkungen der Beschichtungen	40
5.3.1 PLL-PEG beschichtetes PDMS und Quarzglas	43
5.3.2 DDM-MC beschichtetes PDMS und Quarzglas	44
5.3.3 F ₁₀₈ beschichtetes PDMS und Quarzglas	45
6 Zusammenfassung und Ausblick	47
Literatur	51

1 Einleitung

Die Möglichkeit der DNA- und Proteintrennungen ist aus modernen Laboren nicht mehr wegzudenken. Anwendung finden diese zum Beispiel bei Vaterschaftstests, in der Forensik oder in der Proteomforschung. Die etablierten Standardmethoden haben allerdings oft den Nachteil, dass sie lange Trennzeiten und verhältnismäßig große Probenvolumina benötigen.

Die Mikrofluidik bietet hier eine Alternative [1, 2, 3]. Mit ihrer Hilfe ist das Ziel ein *Lab-on-a-Chip* zu realisieren deutlich näher gekommen. Der Gedanke des *Lab-on-a-Chip* ist unter anderem, Protein- und DNA-Trennungen sowie Analysen auf Chipgröße zu miniaturisieren. Es ist heute möglich, Kanäle mit μm Abmessungen aus verschiedensten Materialien herzustellen, unter anderem Poly(dimethylsiloxan) (PDMS) oder Quarz. Aufgrund der kleinen geometrischen Abmessungen ist in diesen Strukturen eine schnellere Trennung mit kleineren Volumina möglich. Zudem ergeben sich neue Anwendungsmöglichkeiten, wie zum Beispiel die Einzelzellanalyse. Bei dieser betrachtet man unter anderem das Proteom einer einzelnen Zelle. Daher sind ein optimaler Transport sowohl der Zelle selbst als auch der Proteine und eine sehr empfindliche Detektion notwendig.

Die Miniaturisierung selbst eröffnet neue Transportmöglichkeiten, zum Beispiel den elektroosmotischen Fluss (EOF). Dieser basiert auf geladenen Oberflächen in mikrofluidischen Kanälen. An diese lagern sich Gegenionen an und es kommt zu einer Ausbildung von einer Doppelschicht die unter Einwirkung eines elektrischen Feldes zu einer Bewegung, dem EOF, führt. Der EOF ist sehr sensitiv gegenüber Oberflächeneigenschaften. Durch gezielte Beschichtungen der Oberflächen ist es daher möglich, diese zu beeinflussen und dadurch den EOF auszuschalten oder zu verstärken.

Das große Oberfläche-zu-Volumen-Verhältnis in Mikrofluidiksystemen kann auch Nachteile nach sich ziehen. Aufgrund der großen Kontaktfläche kann es zu vermehrter Adsorption von Analytmolekülen kommen, die somit nicht mehr zur Analyse zur Verfügung stehen und eventuell sogar die Detektionsempfindlichkeit senken. Eine Beschichtung kann die Oberflächeneigenschaften dahingehend verändern, dass die Adsorption verringert wird.

Sowohl beim EOF als auch bei der Protein- oder DNA-Analyse gibt es demnach Anforderungen an eine geeignete Beschichtung. Zum einen sollte die Beschichtung eine Kontrolle des EOF ermöglichen, zum anderen sollte sie die Protein- und DNA-Adsorption verringern oder ganz verhindern.

Ziel dieser Arbeit war es, verschiedene Oberflächenbeschichtungen auf ihre Eignung für die DNA- und Proteinanalytik in PDMS- und Quarz-Mikrofluidikkanälen zu untersuchen. Hierzu wurden PDMS- und Quarzoberflächen mit Poly(L-lysin)-poly(ethylenglycol) (PLL-PEG), dem Pluronic F₁₀₈ und einer Mischung aus n-Dodecyl-D-Maltosid (DDM) und Methyl Cellulose (MC) beschichtet. Die Beschichtungen wurden dabei dynamisch (DDM-MC und F₁₀₈) und statisch (PLL-PEG und DDM-MC) eingesetzt. Der Unterschied hierbei war, dass bei der dynamischen Methode die Beschichtung direkt in der Lösung vorlag, während

bei der statischen Methode das Beschichtungsreagenz vor der Messung auf die Oberfläche aufgebracht und die Messung mit der reinen Lösung durchgeführt wurde.

Die behandelten Oberflächen wurden anschließend in ihren Eigenschaften mit den nativen Oberflächen verglichen. Dazu wurden EOF- und Kontaktwinkel-Messungen durchgeführt und die Reduktion der Proteinadsorption, mittels Fluoreszenzmikroskopie bestimmt.

2 Theoretische Grundlagen

Die Abmessungen typischer Mikrofluidikstrukturen sind im μm Bereich. Dies führt dazu, dass besondere Effekte, zum Beispiel meist laminare Strömungen auftreten und Oberflächen- und Druckeinflüsse, stärker ins Gewicht fallen als auf makroskopischer Skala. Die hierbei zugrunde liegende Theorie soll in den folgenden Abschnitten erläutert werden. Weiter wird die Transportmethode des EOF erklärt und auf Möglichkeiten, diesen zu beeinflussen, eingegangen. Dann werden verschiedene Methoden zur Messung des EOF vorgestellt. Schließlich wird das Geschwindigkeitsprofil eines druckgetriebenen Systems erläutert, um den Unterschied zum elektroosmotischen Fluss deutlich zu machen.

2.1 Laminare Strömung

Eine der wichtigsten Größen, um eine Strömung zu beschreiben, ist die Reynoldszahl. Sie gibt das Verhältnis der Trägheitskraft zur Reibungskraft und erlaubt eine Abschätzung, ob es sich bei der betrachteten Strömung um einen laminaren oder turbulenten Fluss handelt. Die Reynoldszahl ist aufgrund ihrer Definition

$$Re = \frac{\rho v d}{\eta} \quad (1)$$

[4, 5, 6], stark von den Dimensionen des Kanals abhängig. Hierbei ist ρ die Dichte der Flüssigkeit, v die Geschwindigkeit, d der Durchmesser der Kapillare und η die dynamische Viskosität. Für Reynoldszahlen kleiner als 2300 bezeichnet man die Strömung als laminar. Bei nicht radialen Kanalgeometrien setzt man statt dem Durchmesser den so genannten hydraulischen Durchmesser ein. Dieser definiert sich wie folgt

$$D_h = \frac{4A_h}{U_h} \quad , \quad (2)$$

wobei A_h und U_h die Querschnittsfläche und den Umfang des Kanals angeben. Bei rechteckigen Kanälen ist der hydraulische Durchmesser dann

$$D_h = \frac{2bh}{b+h} \quad . \quad (3)$$

b und h bezeichnen hierbei die Breite und Höhe des Kanals. Damit ergibt sich nun aus Gleichung (1) und Gleichung (3) für die Reynoldszahl in rechteckigen Mikrofluidikkanälen

$$Re = \frac{2\rho v b h}{\eta b + \eta h} \quad . \quad (4)$$

Für einen exemplarischen Kanal mit den Abmessungen von $20 \times 20 \mu\text{m}^2$, einer Wasserdichte $\rho = 998 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$, einer Viskosität $\eta = 1 \text{mPa} \cdot \text{s}$ von Wasser bei 20°C und einer Geschwindigkeit von $v = 1000 \frac{\mu\text{m}}{\text{s}}$ ergibt sich die Reynoldszahl zu $Re = 0,02$ und der Fluss als laminar.

2.2 Viskosität

Allgemein ist die Viskosität ein Maß dafür wie gut Scherkräfte innerhalb einer Flüssigkeit weiter gegeben werden. Bewegt man zum Beispiel eine Platte in einer Flüssigkeit, dann folgt die Flüssigkeit der Plattenbewegung aufgrund der Reibungskräfte. Wenn die Flüssigkeit an der Grenzfläche zur Platte die gleiche Geschwindigkeit hat wie die Platte selbst bezeichnet man das als *no slip*-Bedingung [4].

Nimmt man nun zwei Platten und bewegt eine davon parallel zu der Zweiten, kommt es aufgrund der *no slip*-Bedingung zu einem Geschwindigkeitsgradienten zwischen den beiden Platten (Abbildung 1). Der Plattenabstand beträgt b , F und R bezeichnen die wirkende Kraft und die entgegenwirkende Reibungskraft. Der Geschwindigkeitsgradient $\frac{dv}{db}$ ist proportional zur viskosen Schubspannung σ_η

$$\sigma_\eta = \frac{F}{A} , \quad (5)$$

wobei F die Kraft und A die Fläche ist. Die Schubspannung kann man daher auch als Druck auffassen. Der Proportionalitätsfaktor entspricht dann der Viskosität η [4]:

$$\sigma_\eta = \eta \frac{dv}{db} . \quad (6)$$

Das bedeutet, je viskoser eine Flüssigkeit ist, desto besser kann die Kraft auf die umgebende Flüssigkeit übertragen werden, so dass diese mitbewegt wird.

2.3 Elektroosmotischer Fluss

Es gibt verschiedene Methoden, um Flüssigkeiten in Mikrofluidiksystemen zu bewegen. Eine ist die Ausnutzung des elektroosmotischen Flusses (EOF). Die Grundlage hierfür bildet eine geladene Kanaloberfläche. In einer Elektrolytlösung kommt es dann aufgrund der Oberflächenladungen zu einer Ausbildung von einer Schicht mit Gegenionen, die unter Einwirkung eines elektrischen Feldes zu einer Bewegung der gesamten Flüssigkeit führen, dem so genannten EOF.

2.3.1 Geladene Oberflächen in Salzlösungen

Sowohl Quarzglasoberflächen als auch Poly(dimethylsiloxan) (PDMS) weisen in Kontakt mit Elektrolyten eine Oberflächenladung auf. Die Ladungen basieren auf Silanol-Gruppen ($SiOH$). Diese bilden je nach pH-Wert der umgebenden Flüssigkeit positiv geladene $SiOH_2^+$ - oder negative SiO^- -Gruppen aus oder bleiben neutral [7]. Ab einem pH-Wert größer als 2 liegen die Silanol-Gruppen aufgrund des pK_a -Wertes überwiegend als negative SiO^- -Gruppen vor. Es kommt zu elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen den geladenen Gruppen und den Ionen in der Lösung.

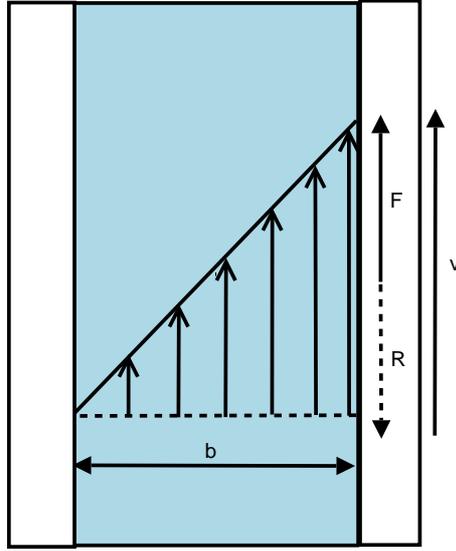


Abbildung 1: Geschwindigkeitsprofil zwischen zwei Platten, wenn die rechte Platte bewegt wird. Die Viskosität bewirkt den Geschwindigkeitsgradienten und die Mitbewegung der Flüssigkeit [4].

Nach der Theorie von Debye lagern sich Gegenionen an ein geladenes Teilchen an, bis das System von aussen neutral erscheint. Wendet man dies nun auf eine geladene Oberfläche an, so ist die Ladungsdichte ρ im Abstand r

$$\rho(r) = \sum_i Z_i e n_i(r) . \quad (7)$$

Z_i ist die Valenz des Ions, e die Elementarladung und $n_i(r)$ die Ionendichte im Abstand r . Aufgrund der elektrostatischen Wechselwirkung und Brown'scher Molekular Bewegung lässt sich die Ionendichte im thermodynamischen Gleichgewicht über die Boltzmannstatistik beschreiben. Damit erhält man [4, 8]:

$$\frac{n_i(r)}{n_{i0}} = \exp\left(-\frac{Z_i e \phi(r)}{k_B T}\right) , \quad (8)$$

wobei n_{i0} die Ionendichte ohne Einfluss eines elektrischen Potentials, $\phi(r)$ das elektrische Potential im Abstand r und $k_B T$ die thermische Energie sind. Damit lässt sich Gleichung (7) zu

$$\rho(r) = \sum_i Z_i e n_{i0} \exp\left(-\frac{Z_i e \phi(r)}{k_B T}\right) \quad (9)$$

umformen. Bei der Debye-Hückel-Approximation wird angenommen, dass die thermische Energie größer ist als die elektrostatische Energie [9]:

$$Z_i e \phi(r) > k_B T . \quad (10)$$

Unter dieser und der Annahme von Ladungsneutralität folgt aus Gleichung (9):

$$\rho(r) = - \sum \frac{Z_i^2 e^2 n_{i0}}{k_B T} \phi(r) . \quad (11)$$

Mithilfe der Poisson-Gleichung (Gleichung (12))

$$\frac{d^2 \phi(r)}{dr^2} = - \frac{\rho(r)}{\epsilon} \quad (12)$$

kann man aus einer Ladungsdichte das resultierende elektrische Potential berechnen [8]. ϵ ist die Dielektrizitätszahl. Setzt man nun für $\rho(r)$ den Ausdruck aus Gleichung (11) ein, so erhält man:

$$\frac{d^2 \phi(r)}{dr^2} = e^2 \sum_i \frac{Z_i^2 n_{i0}}{\epsilon k_B T} \phi(r) . \quad (13)$$

Um den Ausdruck zu vereinfachen setzt man

$$\kappa^2 = e^2 \sum_i \frac{Z_i^2 n_{i0}}{\epsilon k_B T} \quad (14)$$

ein. κ definiert die inverse Debye-Länge λ_D

$$\lambda_D = \kappa^{-1} , \quad (15)$$

diese ist später insofern wichtig, als dass sie den Abstand von der Oberfläche angibt, bei dem das Potential auf $\frac{1}{e}$ abgenommen hat.

Damit bekommt man folgende Differentialgleichung:

$$\frac{d^2 \phi(r)}{dr^2} = \kappa^2 \phi(r) . \quad (16)$$

Als Randbedingung nimmt man die *no slip*-Bedingung an. Weiter nimmt man an, dass das Potential für $r = 0$ als ϕ_0 definiert wird und im unendlichen verschwindet ($\phi = 0$ für $r = \infty$).

Nach zweifacher Integration und unter Berücksichtigung der Randbedingung erhält man für das Potential

$$\phi(r) = \phi_0 \exp(-\kappa r) . \quad (17)$$

Das Potential einer geladenen Platte nimmt also mit dem Abstand exponentiell ab.

Bisher wurde das einfachste Modell für den Potentialverlauf einer geladenen Oberfläche in einer Elektrolytlösung vorgestellt. Stern hat dieses Modell weiterentwickelt und angenommen, dass die Ladungen direkt an der Oberfläche immobilisiert sind. Dadurch wird die so benannte Stern-Schicht ausgebildet.

Die Dicke dieser Schicht wird durch die Bjerrum-Länge abgeschätzt und ist in etwa so dick wie die einzelnen Ionen [10].

An die Stern-Schicht schließt sich die so genannte diffuse Schicht, auch Gouy-Chapmann-Schicht genannt, an. In der diffusen Schicht können sich die Ionen aufgrund der schwächeren elektrostatischen Wechselwirkungen thermisch bewegen. Die Stern-Schicht und die Gouy-Chapmann-Schicht können zu einer Doppelschicht zusammen gefasst werden. Allerdings nimmt das Potential in der Stern-Schicht linear ab, während es in der anschließenden Gouy-Chapmann-Schicht, wie in Gleichung (17), exponentiell abnimmt (Abbildung 2) [11, 7].

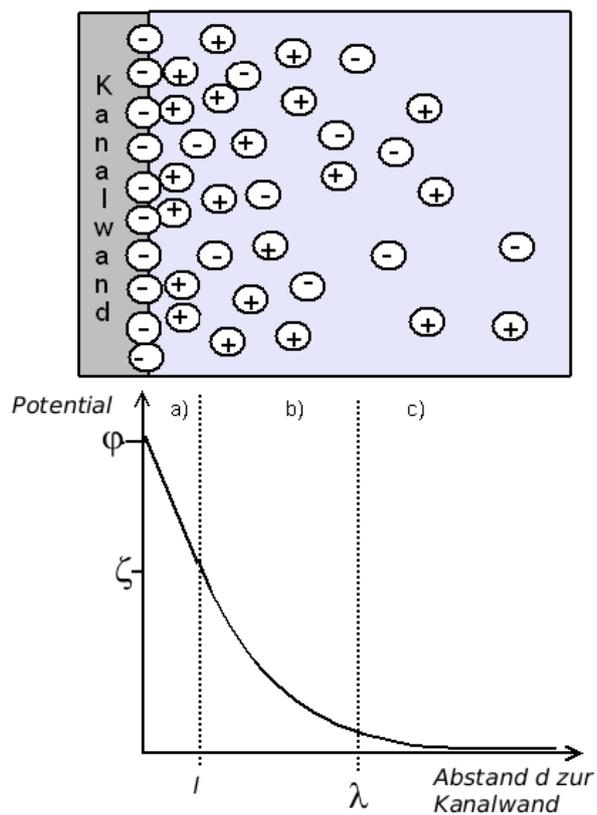


Abbildung 2: Potentialverlauf an einer geladenen Oberfläche. Bereich a) ist die starre Stern-Schicht, in der das Potential linear abfällt. An die starre Schicht schließt die diffuse Schicht b) an, in der das Potential exponentiell abfällt. Im Bereich c) ist das Potential annähernd Null. l bezeichnet die Bjerrum-Länge und λ die Debye-Länge.

Die charakteristischen Größen an der Doppelschicht sind das ζ -Potential und die Debye-Länge λ_D . Das ζ -Potential ist das Potential an der Grenzfläche zwischen der starren und der diffusen Schicht.

2.3.2 Elektroosmotische Mobilität

Nimmt man nun einen Mikrofluidikkanal mit einer geladenen Oberfläche und gibt in diesen eine Elektrolytlösung, bildet sich wie in Kapitel 2.3.1 beschrieben eine elektrische Doppelschicht aus. Wird an den Kanal jetzt ein elektrisches Feld angelegt, wirkt eine Kraft F gemäß Gleichung (18)

$$\mathbf{F} = q\mathbf{E} \quad (18)$$

und die Ionen bewegen sich innerhalb der diffusen Schicht entsprechend ihrer Ladung q . Aufgrund der Viskosität (Kapitel 2.2) und der kleinen Kanaldimensionen wird die Flüssigkeit auf der gesamten Kanalbreite mitbewegt. Diese Bewegung bezeichnet man als Elektroosmotischen Fluss (EOF). Die Richtung des Flusses wird gemäß Gleichung (18) durch die Oberflächenladung beeinflusst. Eine negative Oberfläche bewirkt einen Fluss zur Kathode, während eine positive Oberflächenladung einen Fluss zur Anode bewirkt. Da das PDMS und das Quarzglas negativ geladen sind, ist zu erwarten, dass der Fluss bei unbehandelten Kanälen zur Kathode gerichtet ist.

Die resultierende Geschwindigkeit berechnet man mit der Navier-Stokes-Gleichung.

Um die elektroosmotische Geschwindigkeit zu berechnen nimmt man an, dass es sich um einen idealen EOF handelt. Dieser erfüllt folgende Randbedingungen:

- das ζ -Potential ist über die ganze Kanalwand konstant
- das äußere elektrische Feld ist konstant
- der Fluss ist stationär
- die Debye-Länge beträgt viel weniger als die halbe Breite ($\lambda_D \ll \frac{b}{2}$) des Kanals

Unter Berücksichtigung dieser Randbedingungen erhält man aus der Navier-Stokes-Gleichung folgende Differential Gleichung:

$$0 = \partial_y^2 \left(v_x(y) + \frac{\epsilon E_{ext}}{\eta} \phi(y) \right) , \quad (19)$$

wobei E_{ext} das äußere elektrische Feld ist und y die Stelle im Kanal angibt (siehe Abbildung 3). Mit der *no slip*-Bedingung ($v_x(Wand) = 0$) ergibt sich die Lösung nach zweimaligem Integrieren zu:

$$v_x(y) = (\zeta - \phi(y)) \frac{\epsilon E}{\eta} . \quad (20)$$

Da das Potential $\phi(y)$ exponentiell abfällt (vergleiche Kapitel 2.3.1) ist dieser Term zu vernachlässigen. Damit ist die elektroosmotische Geschwindigkeit v_{eo} dann wie folgt definiert:

$$v_{eo} = \frac{\epsilon \zeta}{\eta} E_{ext} \quad (21)$$

[12]. Die Geschwindigkeit ist also nicht von der Position im Kanal abhängig. Das typische Flussprofil eines EOF ist stempelförmig (Abbildung 3), da die Flüssigkeit nur in der diffusen Schicht aktiv bewegt wird und die restliche Flüssigkeit aufgrund der Viskosität mitbewegt wird (vergleiche auch Gleichung (21)) [7, 11].

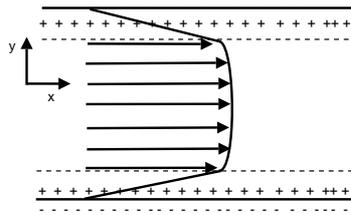


Abbildung 3: Flussprofil bei elektroosmotisch getriebenem Fluss. An das negativ geladene PDMS lagern sich positive Gegenionen an. Die Geschwindigkeit wird vektoriell durch die Pfeile dargestellt.

Die elektroosmotische Mobilität μ_{eo} ergibt sich nun mit Gleichung (21) [12] zu

$$\mu_{eo} = \frac{v}{E_{ext}} = \frac{\epsilon \zeta}{\eta} . \quad (22)$$

Die Dielektrizitätskonstante ϵ , das ζ -Potential und die Viskosität beeinflussen demnach die Mobilität.

Da das ζ -Potential von der Ladungsdichte abhängig ist, beeinflusst der pH-Wert die Mobilität. So führt eine Erhöhung des pH-Wertes zu mehr dissoziierten Silanolgruppen auf der Oberfläche und damit zu mehr negativen Ladungen [13]. Die größere Nettoladung bewirkt eine Erhöhung des ζ -Potentials.

Auch die Konzentration der Elektrolytlösung beeinflusst den EOF. So verringert sich das ζ -Potential im Fall einer Konzentrationszunahme. Dieses liegt an der Zunahme an Gegenionen die eine bessere Abschirmung bewirken.

Die Viskosität der Flüssigkeit beeinflusst ebenfalls den EOF. Die elektroosmotische Mobilität hängt invers von der Viskosität ab, nimmt also für steigende Viskosität ab.

Abschließend soll noch erwähnt werden, dass die elektroosmotische Mobilität positiv von der Temperatur abhängig ist. Das heißt bei höheren Temperaturen ist die Mobilität höher und bei tieferen Temperaturen niedriger [7]:

$$\mu_{eo} = C e^{-\frac{E}{k_B T}} \quad (23)$$

wobei C eine Konstante, E die Aktivierungsenergie und $k_B T$ die thermische Energie sind.

2.4 Bestimmung des EOF

Zur Bestimmung des EOF stehen verschiedene Methoden zur Verfügung. Hier sollen drei aufgezeigt werden, die neutrale Marker Methode, die Bestimmung der Flüssigkeitsmengen und die Current-Monitoring-Methode.

Bei der neutralen Marker Methode werden fluoreszenzmarkierte, ladungsneutrale Partikel in die Flüssigkeit gegeben und nach einer definierten Strecke über Laser induzierte Fluoreszenz detektiert. Aus der Länge und der Zeit kann dann die Geschwindigkeit bestimmt werden. Ein großes Problem an dieser Methode ist die Adsorption der Partikel an die Oberfläche. Sie ist daher sehr störungsanfällig. Bei der Bestimmung der Flüssigkeitsmengen wird die durch den EOF transportierte Flüssigkeitsmenge in den Reservoirien mittels einer Waage bestimmt. Dieses erfordert allerdings einen hohen technischen Aufwand und ist daher eher ungeeignet.[14]

Im Gegensatz zu den beiden erst genannten Methoden ist die Current-Monitoring-Methode nach Huang et al. [14] einfach zu handhaben und relativ störungsarm. Sie beruht darauf, dass Salzlösungen Strom leiten können und die Leitfähigkeit von der Ionenkonzentration abhängt [4]:

$$\sigma_{el} = \sum_i c_i e \mu_{el} \quad , \quad (24)$$

wobei c_i die Ionenkonzentration, e die Elementarladung und μ_{el} die elektrische Mobilität sind.

Bei der Current-Monitoring-Methode (Abbildung 4) wird zunächst ein Puffer mit Konzentration c_0 in einen Kanal gegeben. Dann legt man eine Spannung an und nimmt die Stromstärke auf. Danach wird auf einer Seite gegen einen Puffer mit geringerer Konzentration ($c_1 = 0,9 \times c_0$) getauscht. Unter einer angelegten Spannung migriert die Lösung durch den Kanal, was eine Änderung der Leitfähigkeit (siehe Gleichung (24)) und damit eine Abnahme des Stromes bewirkt. Wenn der gesamte Kanal mit dem Puffer geringerer Konzentration gefüllt ist, bleibt der Strom wieder konstant (Abbildung 5).

Aus Gleichung (22) und

$$v = \frac{L_K}{\Delta t} \quad , \quad E = \frac{U}{L_K} \quad (25)$$

erhält man folgenden Ausdruck für die elektroosmotische Mobilität:

$$\mu_{eo} = \frac{L_K^2}{U \Delta t} \quad . \quad (26)$$

Mit der benötigten Zeit

$$\Delta t = t_1 - t_0 \quad (27)$$

(siehe Abbildung 5), der angelegten Spannung U und der Kanallänge L_K kann man schließlich die elektroosmotische Mobilität bestimmen.

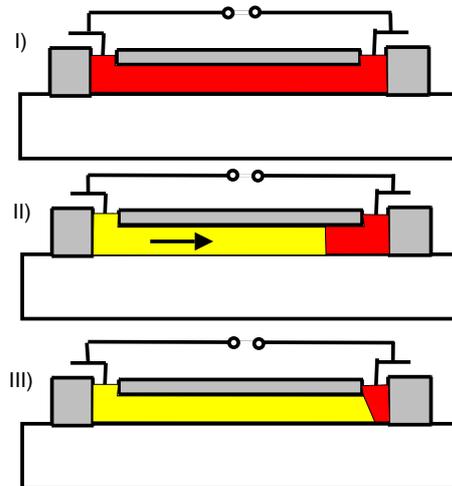


Abbildung 4: Messzyklus bei der Current-Monitoring-Methode: I) in beiden Reservoiren Puffer der Konzentration c_0 , II) Wechsel in einem Reservoir von c_0 auf c_1 und Transport des Puffers mit Konzentration c_1 auf Grund des EOF, III) Puffer im Kanal ist vollständig ausgetauscht

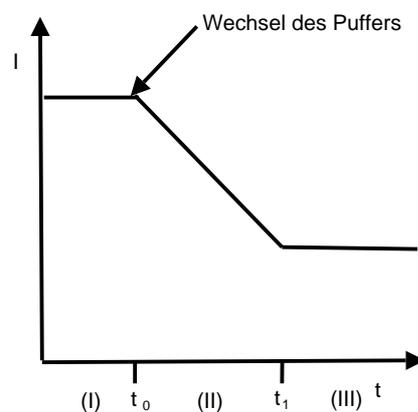


Abbildung 5: Idealer Kurvenverlauf bei der EOF-Messung mit der Current-Monitoring-Methode nach Huang et al.: Bereich(I) in beiden Reservoiren Puffer mit Konzentration c_0 , Bereich(II) Puffer wurde auf einer Seite gegen Puffer mit Konzentration c_1 ausgewechselt und der Kanal ist noch nicht vollständig mit diesem gefüllt, Bereich(III) Puffer im Kanal ist vollständig ausgetauscht

2.5 Druckgetriebenes Flussprofil

Um eine Flüssigkeit in Mikrofluidiksystemen zu bewegen, kann man neben dem EOF auch einen Druckgradienten nutzen. Diesen kann man auf verschiedene Weisen erzeugen. Die erste Möglichkeit ist, über den Füllstand der Reservoirs einen Gradienten zu erzeugen. Der Druck P wird hierbei hydrostatisch durch

die Flüssigkeitssäule erzeugt [4, 6]:

$$P = \rho \Delta h g \quad . \quad (28)$$

Hier ist ρ wieder die Dichte der Flüssigkeit, Δh die Höhendifferenz der Säulen und g die Erdbeschleunigung. Geht man vom Idealfall aus, dass sich kein Meniskus bildet, ergibt sich die resultierende Durchflussrate Q in einem rechteckigen Kanal durch das Hagen-Poiseuille-Gesetz [15]:

$$Q = \frac{bh^3}{12\eta L_K} \Delta P \quad , \quad (29)$$

wobei b , h und L_K die Kanalbreite, -höhe und -länge sind. Unter der Annahme dass die Breite sehr viel größer als die Höhe ist ($b \gg h$), kann man den Fluss als von zwei Platten begrenzt ansehen. Damit erhält man folgenden Ausdruck [4]:

$$v(z) = \frac{\Delta P}{2\eta L_K} z^2 \quad . \quad (30)$$

Das resultierende Flussprofil ist parabelförmig (Abbildung 6)[6, 4].

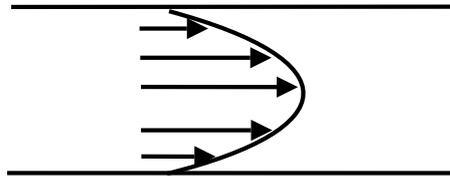


Abbildung 6: Druckgetriebenes parabelförmiges Flussprofil in rechteckigem Kanal. Die Pfeile deuten die vektorielle Geschwindigkeit an.

2.6 Oberflächenspannung

In Kapitel 2.5 wurde bereits erwähnt, dass sich ein Meniskus auf den resultierenden Druck einer Flüssigkeitssäule auswirkt. Da sich fast immer ein Meniskus aufgrund der Minimierung der Oberflächenenergie ausbildet, soll auch dieser Fall betrachtet werden.

Alle Moleküle einer Flüssigkeit haben eine gegenseitige attraktive Wechselwirkung, die so genannte Kohäsion. Innerhalb der Flüssigkeit heben sich diese Wechselwirkungen gegenseitig auf. An der Grenzfläche nach außen können diese Kräfte nicht mehr kompensiert werden, so dass eine große Oberfläche eine größere Energie bedeutet. Es besteht daher ein Bestreben die Grenzfläche so klein wie möglich zu halten. Das beste Verhältnis von Oberfläche zu Volumen bietet eine Kugel.

Zur Beschreibung dieser Effekte dient die Oberflächenspannung γ , welche über das Verhältnis der Energieänderung zur vergrößerten Fläche definiert wird [11, 5]:

$$\gamma = \frac{\Delta E}{\Delta A} . \quad (31)$$

Hierbei ist ΔE die Energieänderung bei einer Flächenänderung um ΔA .

Der innere Druck eines Tropfen wird durch die Young-Laplace-Gleichung beschrieben [11, 4, 5]:

$$\Delta P = \frac{2\gamma}{r} . \quad (32)$$

ΔP ist der innere Druck und r der Radius des Tropfens.

Vergleicht man die Druckunterschiede, die durch verschiedene Radien der Menisken oder verschiedene Säulenhöhen (Tabelle 1) erzeugt werden, so wird deutlich, dass sich verschiedene Radien stärker auswirken als unterschiedliche Säulenhöhen.

$\Delta r, \Delta h$	Druck [Pa]	
	Radius	Säule
1mm	146	10

Tabelle 1: *Drücke aufgrund von verschiedenen Radien der Menisken und unterschiedlichen Flüssigkeitssäulenhöhen*

Durch verschiedene Drücke in den Reservoiren kann es also zu einer Relativgeschwindigkeit unabhängig von elektrischen Feldern kommen. Dadurch kann die gemessene Geschwindigkeit deutlich vermindert oder auch verstärkt werden. Dies bedeutet, dass die elektroosmotische Geschwindigkeit verfälscht werden kann.

Bisher wurde ein zwei-Phasen-System (Flüssigkeit und Luft) betrachtet. Gibt man eine Flüssigkeit auf eine Fläche, muss man ein drei-Phasen-System betrachten (Abbildung 7) [4]. Es kommen dann zu den Kohäsionskräften noch Wechselwirkungskräfte (Adhäsionskräfte) mit der Oberfläche dazu. Überwiegen dabei die Adhäsionskräfte, wird die Oberfläche benetzt. Wenn die Kohäsion größer ist, versucht die Flüssigkeit durch Tropfenbildung die Kontaktfläche zu minimieren. Dabei ist der so genannte Kontaktwinkel ein Maß für die relative Stärke der beiden Kräfte (Kohäsion und Adhäsion).

Wird ein Tropfen Wasser auf eine Oberfläche gegeben, lässt der Kontaktwinkel α eine Aussage über die Hydrophilie der Oberfläche zu. α wird durch die Oberflächenspannungen der drei Oberflächen gemäß Gleichung (33) definiert [4, 6]:

$$\cos\alpha = \frac{\gamma_{fest,gas} - \gamma_{fest,fluessig}}{\gamma_{fluessig,gas}} . \quad (33)$$

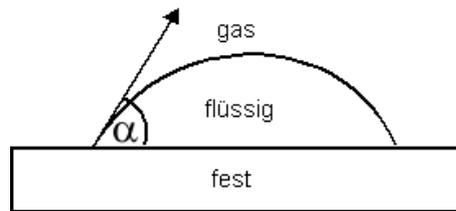


Abbildung 7: Das System Flüssigkeit auf Oberfläche besteht aus drei Phasen, gasförmig, fest und flüssig. Charakteristisch ist hierbei der Kontaktwinkel α

Man definiert eine Oberfläche als hydrophil bei einem Winkel $\alpha < 90^\circ$ und als hydrophob bei einem Winkel $\alpha > 90^\circ$. Wenn eine Kapillare eine hydrophile Oberfläche hat, steigt eine wässrige Flüssigkeit aufgrund der Adhäsionskräfte in ihr so lange auf bis die Kraft durch die Wassersäule so groß ist wie die Adhäsionskraft. Legt man die Kapillare flach hin, wird sie sich vollständig füllen, da die Wassersäule keine entgegenwirkende Kraft nach unten ausübt.

3 Materialien und Methoden

3.1 Verwendete Chemikalien und Materialien

Die verwendeten Chemikalien und Materialien sind in Tabelle 2 aufgelistet.

3.2 Herstellung des Masterwafers

Zunächst wurde der Wafer für 20 min in Caro´sche-Säure (Schwefelsäure und Wasserstoffperoxid im Verhältnis 3:1) gegeben. Eine Spülung mit Wasser und zweimal fünfminütiges Reinigen im Wasserbad entfernte die Caro´sche-Säure. Danach wurde der Wafer in einer Zentrifuge (Delta 10, Ble-Labratory Equipment GmbH Deutschland) bei 4000 Umdrehungen pro Minute trocken geschleudert. 20 minütiges Aufheizen (bis 200°C) auf einer Heizplatte (HT-303D, AVT-Technologie, Deutschland) verdampfte das restliche Wasser.

Auf den abgekühlten Wafer wurde dann mittels Spincoating ein Tropfen Photolack (negativ SU-8 Photolack) aufgebracht. Die Schichtdicke von 20µm erzielte man durch 2250 rpm für 30 s .

Anschließend wurde der Photolack für 5 min bei 40°C, 60 min bei 65°C und 20 min bei 90°C vorgebacken. Ein Parallelbelichter (Modell 8011, Oriel Corporation, USA) belichtete nach dem Aufbringen einer Chrommaske, in der die gewünschte Kanalstruktur ausgelassen war, mit der i-Linie einer Quecksilberlampe für 36 s den Photolack [16].

Zur Aushärtung wurde der Wafer danach nochmals bei 60°C für 3min und bei 95°C für 30min auf die Heizplatte gegeben.

Nach erfolgter Aushärtung wurde der Wafer für 4 min in SU-Entwickler gegeben. Die anschließenden Reinigungen mit Aceton und Isopropanol entfernten nicht belichteten Photolack. Vor dem abschließenden Backschritt wurde der Wafer noch mit Stickstoff trocken geblasen. Der letzte Schritt war dann ein nochmaliges Backen bei 200°C für 20 min.

Der fertige Wafer wurde dann mit TDTS silanisiert, um ein leichtes Entfernen von PDMS zu gewährleisten. Den Wafer gab man dazu zusammen mit wenigen Tropfen TDTS in einen Exsikkator. Anschließend wurde für 30 min die Vakuumpumpe angestellt. Der Wafer verweilte danach noch weitere 30 min bei abgeschalteter Vakuumpumpe im Exsikkator.

3.3 Herstellung des PDMS-Chips

Zur Herstellung der Mikrostrukturen wurde 22 g PDMS im Verhältnis zehn zu eins (Polymer (20 g) und Vernetzer (2 g) siehe Abbildung 8) angerührt und auf den vorbereiteten Wafer gegeben (siehe Abbildung 9).

30 min Ruhezeit bewirkten ein entweichen der entstandenen Luftblasen aus dem PDMS. Nach vier Stunden bei 85°C war das PDMS vollständig ausgehärtet und konnte vom Wafer abgezogen werden. Mit einem Lochstanzer wurden Reservoirs

Name	Hersteller	Bemerkung
Aceton	Riedel-de-Haen, D	
Ethanol p.A.	Roth, D	
Isopropanol	Merk, D	
Wasser	MilliQ Anlage	
Wasserstoffperoxid	Merck, D	30%
Schwefelsäure	Merck, D	konzentriert
di-Natriumhydrogenphosphat	Fluka, D	
Silicium-Wafer	CrysTec, D	5 Zoll
SU-8 Photolack	Microresist, USA	
SU-8 Entwickler	Microresist, USA	
Tridecfluor-1,1,2,2-tetra- -hydrooctyl-trichorsilan (TDTS)	Merck, D	
Poly(dimethylsiloxan) (PDMS)	Dow Corning, D	Sylgard 184
Quarzglas-Chip	Capilix, NL	
Pluronic F ₁₀₈	BASF, D	Poly(ethylenglycol) ₁₃₂ - poly(propylenglycol) ₅₂ - poly(ethylenglycol) ₁₃₂
n-Dodecyl β -D-Maltosid(DDM)	Sigma-Aldrich, D	
Methyl Cellulose (MC)	Sigma-Aldrich, D	
Poly(l-lysin)-g-poly(ethylenglycol) (PLL(20)-g[3,5]-PEG(2))	SurfaceSolutionS GmbH, Ch	PLL(20kDa) g(Lys-Einheiten/PEG Kette)[3.5] PEG(2kDa)
Plexiglas Reservoirvergrößerung	Eigenbau	mit Elektroden
FITC-BSA	Sigma-Aldrich, D	Protein (FITC=Fluoreszin- isothiocyanat)
Partikel 1,9 μ m	IDL, USA	CML (hochcarboxyliert)
Partikel 0,5 μ m	IDL, USA	CML (hochcarboxyliert)
DNA	Promega, USA	

Tabelle 2: Auflistung der benutzten Chemikalien und Materialien

siloxane oligomers siloxane cross-linkers

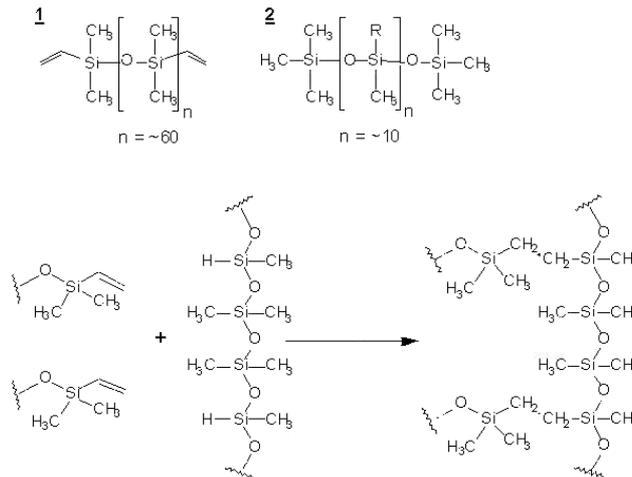


Abbildung 8: PDMS-Polymer (links oben) und Linker (rechts oben). Die Reaktionsgleichung ist unten angegeben. Um die Vernetzung zu beschleunigen wurde das Polymer erhitzt [17].

mit einem Durchmesser von 3 mm gestanzt. Nach der Bestimmung der genauen Kanallänge war das PDMS fertig präpariert.

Bevor das PDMS auf das Deckgläschen aufgebracht werden konnte, musste das Deckglas noch mit PDMS beschichtet werden. Hierfür wurde auf das Deckgläschen circa 1 mL PDMS (Polymer zu Linkerverhältnis zehn zu eins) gegeben und anschließend zentrifugiert. Die Zentrifuge war auf 10 s bei 500 U/min und dann für 30 s bei 3000 U/min programmiert, um eine dünne PDMS-Schicht zu erhalten. 10 min auf einer 75°C warmen Heizplatte beschleunigten die Aushärtung.

Nach dieser Vorbehandlung wurden dann das PDMS, mit der Kanalstruktur, und das Deckgläschen 30 s in einer selbstgebauten Plasmakammer [18] oxidiert. Nach der Oxidation konnten dann Deckgläschen und PDMS zusammen gebracht werden.

Vor den Messungen mussten die Reservoirs noch vergrößert werden. Beim Quarz-Chip erreichte man dieses durch ein 5 mm dickes, ausgeschnittenes und gestanztes Stück PDMS. Auf dem PDMS-Chip konnte eine Plexiglasscheibe mit vorgefertigten Bohrungen angebracht werden. Dieses hatte zusätzlich den Vorteil, dass Platindrähte direkt in den Reservoirs befestigt waren, an die die Elektroden nur noch angeklemt werden mussten (Abbildung 11).

Zur elektrischen Kontaktierung bei den Quarz-Chips wurden an den Elektroden Platindrähte befestigt und diese direkt in die Reservoirs gehängt.

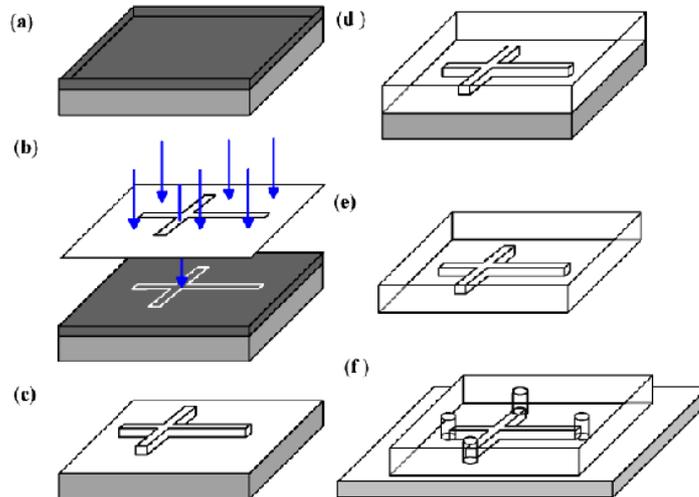


Abbildung 9: Herstellung des PDMS-Chips, a) Wafer mit SU-8 Photolack b) Belichtung durch Maske c) negatives Relief des Kanalsystems nachdem der unbelichtete Photolack weggewaschen worden ist d) Wafer mit Schicht aus PDMS e) abgezogenes PDMS f) fertiger Chip auf PDMS beschichtetem Deckgläschen, nach Stanzen der Reservoirs und Plasmaoxidation

3.4 Präparation der Mikrofluidik-Chips

Vor den Anwendungen wurde der Quarz-Chip mit Natronlauge gespült. Dafür gab man 0,1 M Natronlauge in ein Reservoir und zog die Lauge mithilfe einer Wasserstrahlpumpe in den Kanal. Nach einer Einwirkzeit von etwa 5 min zog man die Natronlauge wieder mit der Wasserstrahlpumpe aus dem Kanal und spülte diesen nochmals mit reinem Puffer.

Danach waren die Chips bereit zur Beschichtung. Hierbei sind die beiden statischen Beschichtungen (PLL-PEG und DDM-MC) von den beiden dynamischen (DDM-MC und F₁₀₈) zu unterscheiden. Bei der statischen Beschichtung wurde der Chip zunächst mit dem Beschichtungsreagenz inkubiert (PLL-PEG für 30 min und DDM-MC für 20 h). Hierfür wurde ein Tropfen der in Phosphatpuffer gelösten Beschichtung in ein Reservoir gegeben und mittels einer Wasserstrahlpumpe in den Kanal gezogen. Nach der Inkubationszeit wurde der Kanal einmal mit reinem Puffer gespült. Die dynamische Beschichtung unterschied sich darin, dass der Chip sofort nach der Befüllung mit dem Puffer einsetzbar war.

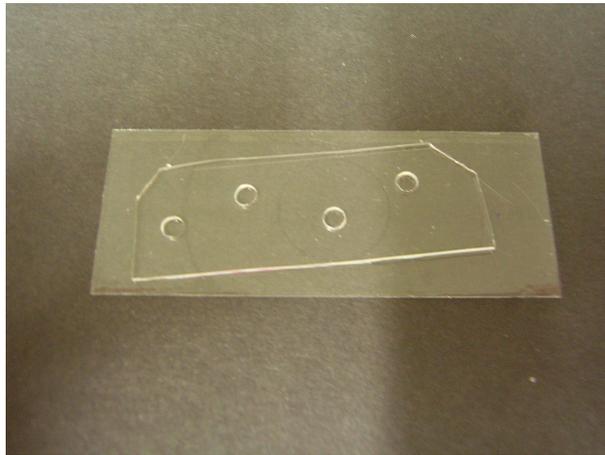


Abbildung 10: Fertiger PDMS-Chip mit zwei linearen Mikrokanälen der Abmessungen $20 \times 20 \mu\text{m}^2$ in Höhe und Breite und einer Länge von circa 2 cm



Abbildung 11: PDMS-Chip mit Plexiglas. In den Reservoiren sind Platindrähte befestigt. Die Elektroden werden dann an die Drähte angeklemt.

3.5 Current-Monitoring-Methode

Nach den Vorbehandlungen konnten die EOF-Messungen durchgeführt werden. Hierzu wurde die bereits in Kapitel 2.4 vorgestellte Methode des Current-Monitoring nach Huang et al. [14] genutzt.

Der Messzyklus (Abbildung 4) begann nach der Befüllung der Reservoirs mit 20 mM Phosphatpuffer. Hierfür legte man an eine Elektrode eine Spannung an, während die andere geerdet wurde. Den Pufferwechsel auf 18 mM im Reservoir, an das die Spannung angelegt war, nahm man vor, sobald der Strom konstant war. Anschließend wurde solange eine Spannung angelegt, bis der Strom wieder

konstant war. Aus der benötigten Zeit konnte dann mittels Gleichung (26) die Mobilität bestimmt werden. Danach begann der Messzyklus wieder von vorne. Hierbei gab es allerdings zwei verschiedene Möglichkeiten vorzugehen. Bei der ersten tauschte man den Puffer nur noch auf einer Seite aus, so dass der 20 mM Phosphatpuffer auf der geerdeten Seite die gesamte Messreihe über nicht mehr ausgetauscht wurde. Bei der zweiten Methode tauschte man den Puffer nach jedem vollständigen Zyklus auf beiden Seiten aus.

Die Spannungen mit Netzteilen von FUG (Model HCN 14-12500 und Model HCN 7E-12500, Deutschland) erzeugt. Die Verbindung mit den Elektroden wurde durch eine selbstgebaute Relaischaltung gesteuert. Die Messung wurde mit einem LabView Programm gesteuert und aufgezeichnet.

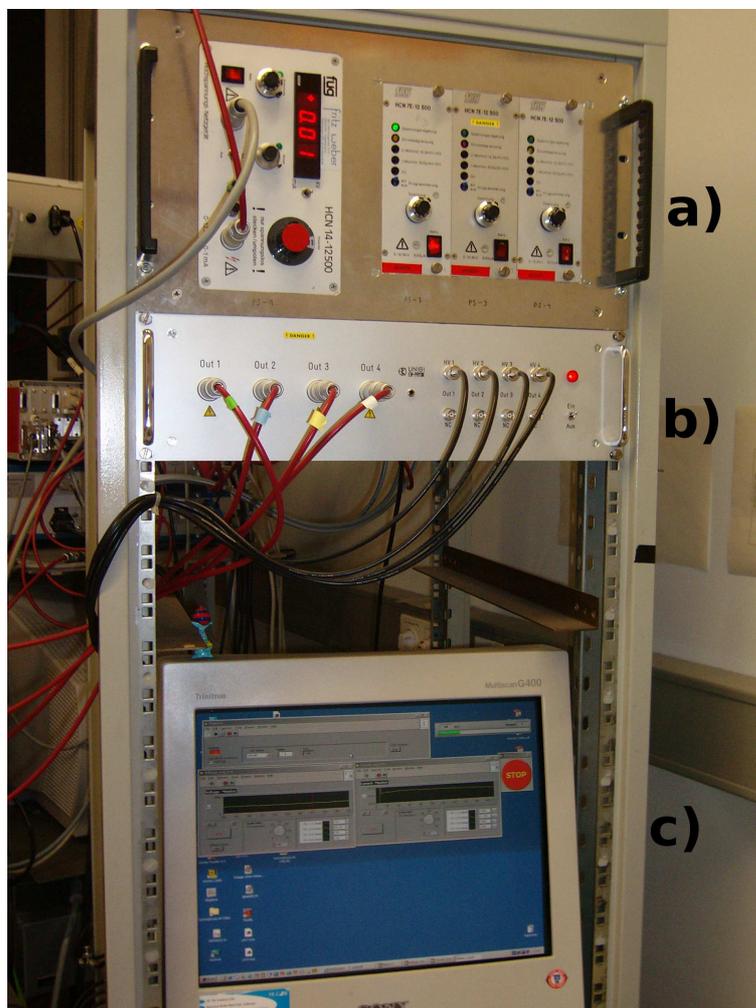


Abbildung 12: Messstation mit Netzteilen a), Relais b) und Computer c)

3.6 Messung der Proteinadsorption

Für die Messung der Proteinadsorption wurde zunächst PDMS im gleichen Verhältnis Polymer zu Linker hergestellt, wie es auch für die Kanäle verwendet wurde. Anschließend wurden vier zurecht geschnittene Stücke für 30 s plasmaoxidiert. Für die Messung auf Quarzglas wurde dieses mit Ethanol gereinigt und mit PDMS-Streifen in vier Bereiche unterteilt.

Die Proben für das PLL-PEG wurden danach für 30 min mit diesem inkubiert und anschließend mit reinem Phosphatpuffer abgespült.

Es wurden drei 500 μM FITC-BSA-Lösungen hergestellt (eine nur mit 20 mM Phosphatpuffer, eine mit DDM-MC-Phosphatpuffer und eine mit F₁₀₈-Phosphatpuffer). Die Lösungen wurden dann jeweils auf die vorbereiteten Oberflächen gegeben.

Die so präparierten Oberflächen wurden dann mit einer Quecksilberdampf-Lampe beleuchtet und die Fluoreszenzintensität mit einer CCD-Kamera (Imager 3L, LaVision baugleich SensiCam der Firma PCO) aufgenommen. Die Belichtungszeit betrug 4 s und das verwendete Objektiv hatte eine 40-fach Vergrößerung. Nachdem die Proteinlösung mit Puffer abgespült worden war, wurde die Messung wiederholt. Die abschließende Auswertung wurde mit dem Programm ImageJ durchgeführt, indem über eine Fläche von 90000 Pixeln die Intensität gemittelt wurde.

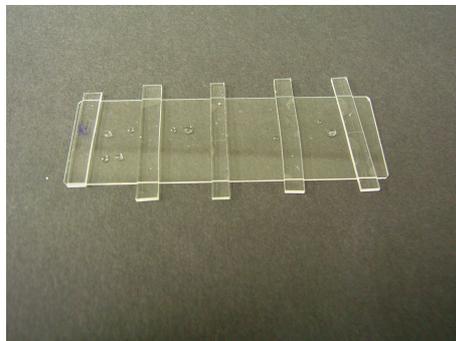


Abbildung 13: Quarz-Deckglas mit PDMS-Streifen zur Bestimmung der Fluoreszenzintensität und des Kontaktwinkels

3.7 Kontaktwinkelmessung

Wie auch schon bei der Proteinadsorption wurde wieder PDMS im gleichen Verhältnis wie bei den Kanälen hergestellt und anschließend für 30 s plasmaoxidiert (Abbildung 14).

Quarzglas wurde mit Ethanol gereinigt und durch PDMS-Streifen in verschiedene Bereiche unterteilt (Abbildung 13).

Die PLL-PEG-Beschichtung wurde anschließend für 30 min inkubiert und ab-

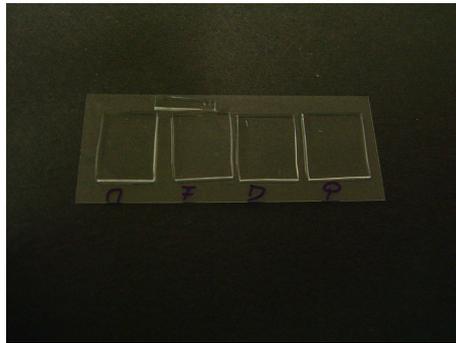


Abbildung 14: PDMS nach Vorbereitung (Plasmaoxidation und Behandlung mit den Oberflächenbeschichtungen) zur Messung der Fluoreszenzintensität und des Kontaktwinkels

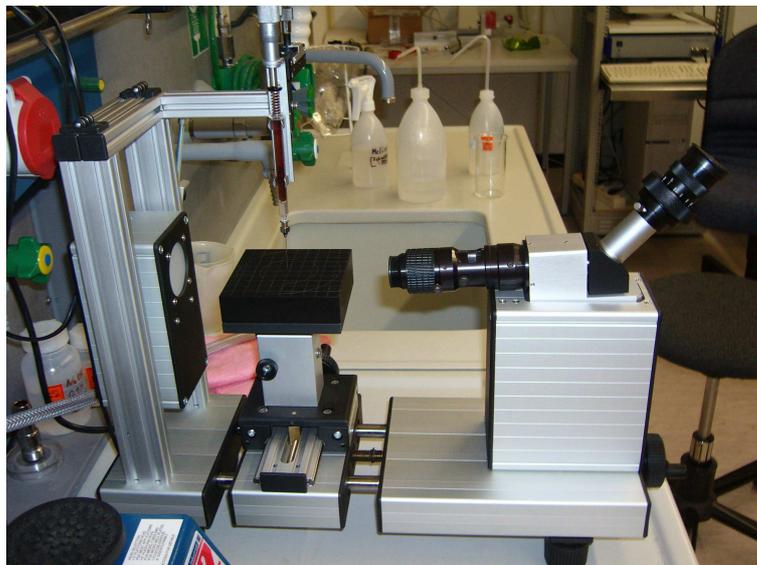


Abbildung 15: Goniometer zur Kontaktwinkelmessung, mit der Spritze wird ein Tropfen Wasser auf die Oberfläche gegeben. Im Okular sind zwei Sehnen, wobei eine drehbar ist. Diese werden tangential an den Tropfen angepasst, so dass dann der Winkel abgelesen werden kann.

schließlich mit reinem Puffer abgespült. Die DDM-MC- und F₁₀₈-Beschichtungen wurden bei der EOF-Messung dynamisch verwendet. Da die Oberflächen zur Kontaktwinkelbestimmung trocken sein mussten, wurden diese Beschichtungen für 5 min auf die Oberfläche gegeben und anschließend wieder abgespült. Dies sollte eine ähnliche Oberflächenbegebenheit schaffen wie sie auch bei den EOF-Messungen vorlag. Diese Behandlung wird im folgenden als pseudodynamisch bezeichnet.

Für die Kontaktwinkelmessung wurde dann ein Krüss Goniometer G10 genutzt (Abbildung 15). Nach dem Trocknen wurde mit einer Spritze ein Tropfen Wasser auf die Oberfläche gegeben und mithilfe der Tangenten im Okular der Kontaktwinkel zwischen Wasser und Oberfläche bestimmt. Anschließend wurde dem Tropfen nochmals Wasser zugeführt und die Messung wiederholt.

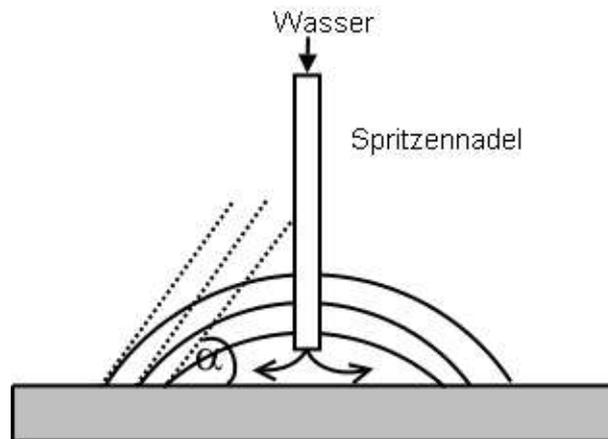


Abbildung 16: Schematischer Messvorgang bei der Kontaktwinkelmessung. Der Winkel α ist der gesuchte Kontaktwinkel.

4 Resultate

4.1 Optimierung der EOF-Messung

In Kapitel 3.5 wurde das Current-Monitoring als Methode zur Bestimmung des EOF vorgestellt. Im Versuch haben sich mit dieser Methode Messkurven ergeben, wie die in Abbildung 17 dargestellt.

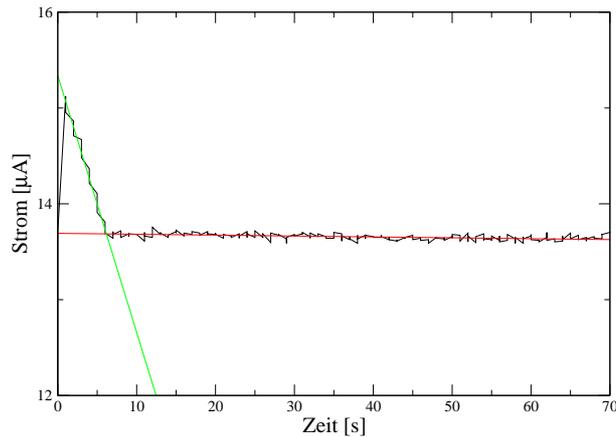


Abbildung 17: *Typische Messkurve, bei der Bestimmung des EOF*

Im Verlauf der Messungen sind zudem noch Unregelmäßigkeiten aufgefallen, die mit der Art des Pipettierens zusammenhängen. So war es entscheidend, ob man zwischen den Messungen den Puffer in beiden Reservoiren oder nur in einem austauschte. Dies ist exemplarisch in Quarz mit dynamischer F₁₀₈- Beschichtung in (Abbildung 18) gezeigt. Wurde der Puffer nur auf einer Seite ausgetauscht, so stieg der Anfangsstrom zu Beginn einer Messung und μ_{eo} innerhalb einer Messreihe an (Abbildung 19). Für den Fall, dass der Puffer nach jedem vollständigen Messzyklus (wie in Kapitel 3.5 beschrieben) auf beiden Seiten ausgetauscht wurde, blieben der Strom und die Mobilität innerhalb der Fehlergrenzen konstant (Abbildung 20).

Um eine Begründung für dieses Verhalten zu finden, wurden weitere Experimente durchgeführt:

- die Mobilität wurde für verschiedene Spannungen untersucht
- die Mobilität wurde auf eine pH-Abhängigkeit untersucht

Die elektroosmotische Geschwindigkeit ist feldabhängig [19, 7]. Um zu prüfen wie und ob überhaupt sich Effekte wie zum Beispiel Joule-Heating auf die elektroosmotische Mobilität auswirken, wurden Messreihen mit verschiedenen Spannungen durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 gezeigt. Bei den Messungen mit 800 V/cm traten starke Stromschwankungen auf, so dass die Aussagekraft dieser Ergebnisse zweifelhaft ist.

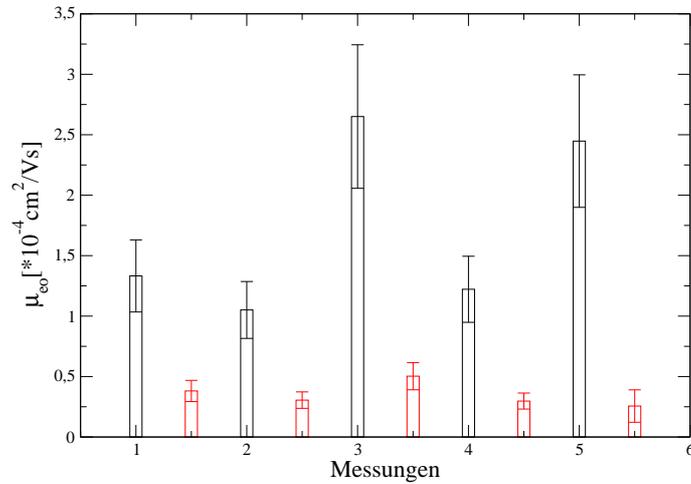


Abbildung 18: Mobilitäten (Mittelung über die Messreihen) im Vergleich bei einseitigem Pipettieren (schwarz) und beidseitigem Pipettieren (rot). Die Messungen wurden in Quarz-Chips mit dynamischer F_{108} -Beschichtung durchgeführt.

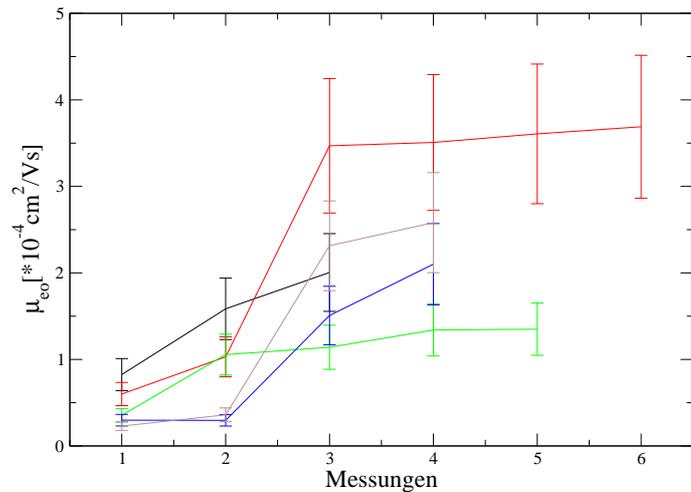


Abbildung 19: Mobilität in Quarz-Chip mit F_{108} bei einseitigem Pipettieren, eine Kurve entspricht einer Messreihe

Der pH-Wert wurde bei der Messung der Spannungsabhängigkeit mitbestimmt und es fiel auf, dass dieser für unterschiedliche Spannungen variierte (Tabelle 3). Wie schon in Kapitel 2.3.2 dargelegt, ist die Mobilität pH-Wert abhängig [7].

Um zu prüfen wie sich das Pipettiervolumen auf μ_{eo} , die Reproduzierbarkeit und den pH-Wert auswirkt wurde das Volumen für verschiedene Messreihen erhöht und der pH-Wert nach jedem Messzyklus (vergleiche Kapitel 3.5) in beiden Reservoiren bestimmt. Dabei konnte festgestellt werden, dass die Mobilität

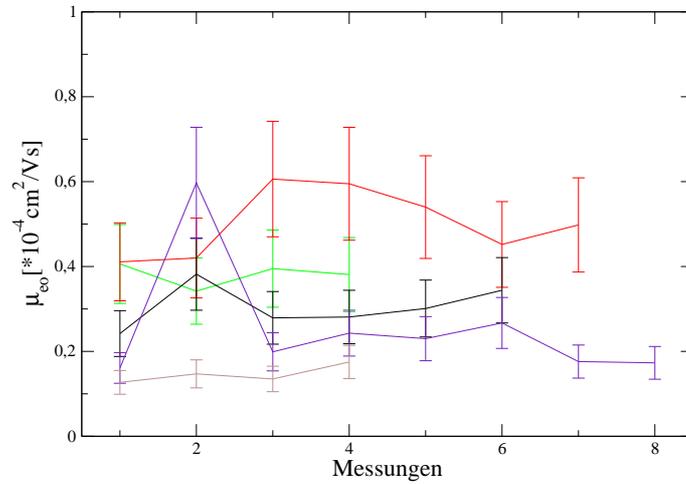


Abbildung 20: Mobilität in Quarz-Chip mit F_{108} bei beidseitigem Pipettieren, eine Kurve entspricht einer Messreihe

Spannung	Zeit[s]	pH-Wert		Mobilität [*10 ⁻⁴ $\frac{cm^2}{Vs}$]	Fehler [*10 ⁻⁴ $\frac{cm^2}{Vs}$]
		links	rechts		
100	70	7,4	7,4	4,00	±0,92
150	70	7,4	7,4	3,52	±0,79
200	70	7,4	7,4	3,62	±0,82
250	70	7,4	7,7	3,49	±0,78
300	70	7,4	7,7	3,56	±0,78
350	70	7,4	7,7	2,83	±0,63
400	70	7,4	7,7	2,98	±0,67
500	70	7,4	7,9	3,18	±0,71
600	70	7,4	8,1	3,30	±0,65
700	70	7,4	8,1	2,57	±0,57
800	70	7,4	8,1	0,76	±0,17

Tabelle 3: pH-Abhängigkeit der Mobilität. Es wurden Messungen bei verschiedenen Spannungen (im nativen Quarz-Chip) durchgeführt. Anschließend wurde beim Pipettierschritt nach jedem vollständigen Messzyklus von beiden Reservoiren der pH-Wert bestimmt. Die geerdete Elektrode war auf der rechten Seite.

(siehe Abbildung 21) für höhere Pipettierolumina abnahm und die Reproduzierbarkeit zunahm. Im Reservoir an dem die Spannung anlag konnte keine pH-Wertänderung festgestellt werden. Vergleich man aber den pH-Wert im gegenüberen Reservoir vor der Messung mit dem nach der Messung, so betrug die pH-Wertänderung für $10 \mu\text{L}$ 1,1 pH-Einheiten, während sie bei $24 \mu\text{L}$ nur noch 0,3 pH-Einheiten betrug.

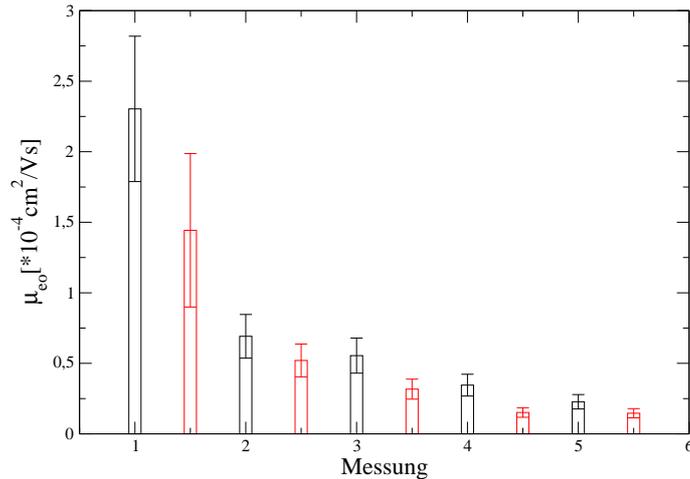


Abbildung 21: EOF Messung in Quarzglas mit DDM-MC-Beschichtung. Das Reservoirvolumen wurde von links nach rechts von $10 \mu\text{L}$ auf $24 \mu\text{L}$ erhöht. In schwarz sind die Ergebnisse bei einseitigem Pipettieren und in rot die bei beidseitigem Pipettieren.

4.2 Auswirkungen der Beschichtungen auf den EOF

Ein Ziel dieser Arbeit ist die Charakterisierung von Oberflächenbeschichtungen in Hinsicht auf ihren Einfluss auf den EOF. Um die Werte vergleichen zu können, muss der EOF auch in unbeschichteten (nativen) Kanälen ermittelt werden.

Wie in Kapitel 3.3 beschrieben, wird das PDMS plasmaoxidiert. Nach Hellmich et al. [18] bewirkt die Plasmaoxidation bei PDMS eine Erhöhung der Mobilität und veränderte Kontaktwinkel. Im Rahmen dieser Arbeit wurden daher alle Messungen an plasmaoxidierten Oberflächen durchgeführt. Die EOF-Messungen wurden dabei bei beidseitigem Pipettieren durchgeführt, außer an den Stellen, wo ausdrücklich etwas anderes gesagt wird.

4.2.1 Native Messung des EOF in PDMS und Quarz-Glas-Chips

Vorweg ist festzustellen, dass die Richtung des EOF, wie in der Theorie bereits vorhergesagt, von der Anode zur Kathode führte. Für die Mobilität in nativem, plasmaoxidiertem PDMS konnte ein Wert von $(2,1 \pm 0,33) * 10^{-4} \frac{\text{cm}^2}{\text{Vs}}$ ermittelt werden. Die Mobilität in unbehandelten Quarzglas-Chips ergab sich zu $(3,15 \pm$

$0,68) \cdot 10^{-4} \frac{\text{cm}^2}{\text{Vs}}$. Damit war der native EOF in Quarz-Chips größer als in PDMS-Chips.

4.2.2 PLL-PEG Beschichtung in PDMS und Quarz-Glas-Chips

Auch für PLL-PEG beschichtete Kanäle war der EOF von der Anode zur Kathode gerichtet. Nachdem der PDMS-Kanal statisch mit PLL-PEG beschichtet wurde, konnte für μ_{eo} ein Wert von $(0,36 \pm 0,05) \cdot 10^{-4} \frac{\text{cm}^2}{\text{Vs}}$ ermittelt werden. Es war also eine deutliche Reduktion des EOF im Vergleich zum nativen Kanal $((2,1 \pm 0,33) \cdot 10^{-4} \frac{\text{cm}^2}{\text{Vs}})$ festzustellen. Auffällig war, dass die Mobilität im Verlauf der Messungen zunahm (Abbildung 22). Diese Tendenz war auch bei der Langzeitbetrachtung (Abbildung 23) sichtbar. Für die Langzeitmessung wurde der Kanal vor der ersten Messung einmalig mit PLL-PEG statisch beschichtet. Der EOF wurde dann am Tag der Beschichtung, nach zwei und nach sechs Tagen gemessen.

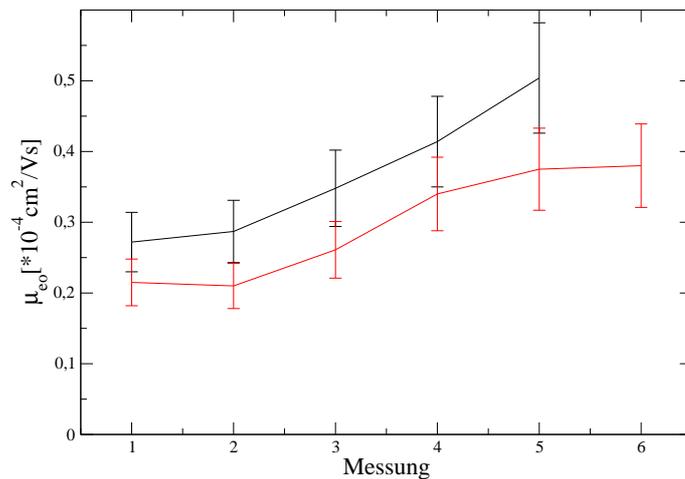


Abbildung 22: EOF in PDMS-Kanal mit statischer PLL-PEG Beschichtung, beidseitiges Pipettieren

In Quarzglas-Chips konnte für μ_{eo} ein Mittelwert von $(0,38 \pm 0,08) \cdot 10^{-4} \frac{\text{cm}^2}{\text{Vs}}$ ermittelt werden. Hierbei ist zu beachten, dass der Puffer nur auf einer Seite ausgetauscht wurde. Dies begründet auch die verhältnismäßig großen Schwankungen um den Mittelwert (Abbildung 24) (vergleiche Kapitel 4.1).

Die PLL-PEG-Beschichtung bewirkte auch im Quarz eine deutliche Reduktion der Mobilität im Vergleich zum nativen Wert $(3,15 \pm 0,68) \cdot 10^{-4} \frac{\text{cm}^2}{\text{Vs}}$.

PLL-PEG eignet sich also sowohl in PDMS, als auch in Quarz-Chips zur Reduktion des EOF.

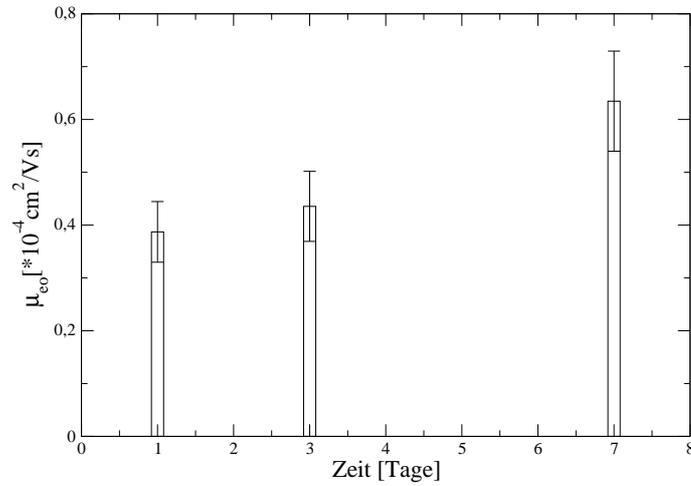


Abbildung 23: Langzeitbetrachtung in PDMS-Chip mit statischer PLL-PEG Beschichtung. Der Kanal wurde an Tag 1 einmalig beschichtet. Es wurde einseitig Pipettiert.

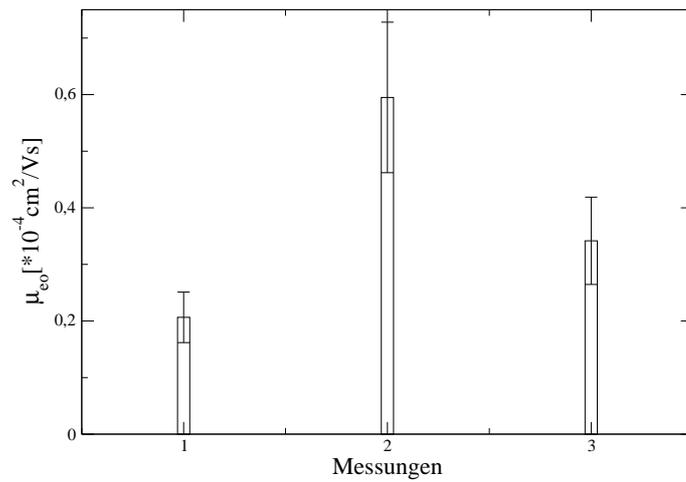


Abbildung 24: EOF-Messung in Quarz-Chip mit statischer PLL-PEG-Beschichtung, einseitiges Pipettieren

4.2.3 DDM-MC Beschichtung in PDMS und Quarz-Glas-Chips

Die DDM-MC-Beschichtung ist sowohl dynamisch als auch statisch betrachtet worden. Wobei die EOF-Richtung auch nach der Beschichtung von der Anode zur Kathode führte.

Für die dynamische Beschichtung in PDMS-Kanälen konnte ein Mittelwert der Mobilität von $(0,13 \pm 0,02) \cdot 10^{-4} \frac{\text{cm}^2}{\text{Vs}}$ nachgewiesen werden.

Die Langzeitbetrachtung einer dynamischen DDM-MC Beschichtung in PDMS

ist in Abbildung 25 dargestellt.

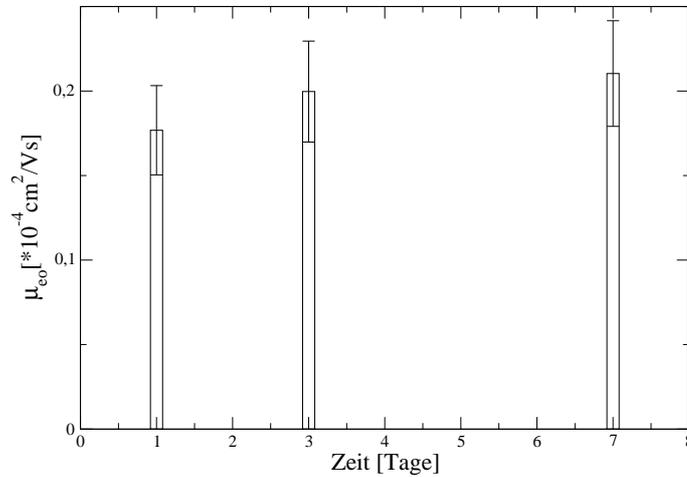


Abbildung 25: Langzeitmessung von dynamisch DDM-MC beschichteten in PDMS-Kanälen

In Quarzglas mit dynamischer DDM-MC-Beschichtung konnte ein Mittelwert von $(0,28 \pm 0,06) * 10^{-4} \frac{cm^2}{Vs}$ für μ_{eo} gemessen werden. Bei der statischen Beschichtung ergab der Mittelwert $(0,96 \pm 0,21) * 10^{-4} \frac{cm^2}{Vs}$. Damit reduziert DDM-MC in Quarz den EOF sowohl bei statischer Beschichtung als auch bei dynamischer Beschichtung.

4.2.4 F₁₀₈ Beschichtung in PDMS und Quarz-Glas-Chips

Die F₁₀₈-Beschichtung wurde dynamisch eingesetzt. Auch für F₁₀₈ beschichtete Kanäle war der EOF von der Anode zur Kathode gerichtet. In PDMS-Kanälen konnte dabei für μ_{eo} ein Mittelwert von $(0,14 \pm 0,02) * 10^{-4} \frac{cm^2}{Vs}$ nachgewiesen werden. Im Quarzglas ergab sich μ_{eo} zu $(0,26 \pm 0,06) * 10^{-4} \frac{cm^2}{Vs}$. Damit lässt sich auch für F₁₀₈ feststellen, dass diese Beschichtung eine Reduktion des EOF sowohl in Quarz als auch in PDMS bewirkt.

4.3 Messung der Proteinadsorption

Ein weiterer Punkt dieser Arbeit war es zu prüfen, wie sich die Beschichtungen auf die Proteinadsorption auswirken. Dabei wurde wie in Kapitel 3.6 bereits erläutert die Fluoreszenzintensität nach Adsorption von Fluoreszein markiertem BSA untersucht. Abbildung 26 zeigt beispielhaft zwei Ausschnitte von DDM-MC beschichtetem und nativem Quarzglas.

Die Ergebnisse der Messungen sind in Tabelle 4 und Tabelle 5 zusammengefasst. Die Fluoreszenzintensität beim nativen PDMS und Quarz wird als Referenz angenommen.

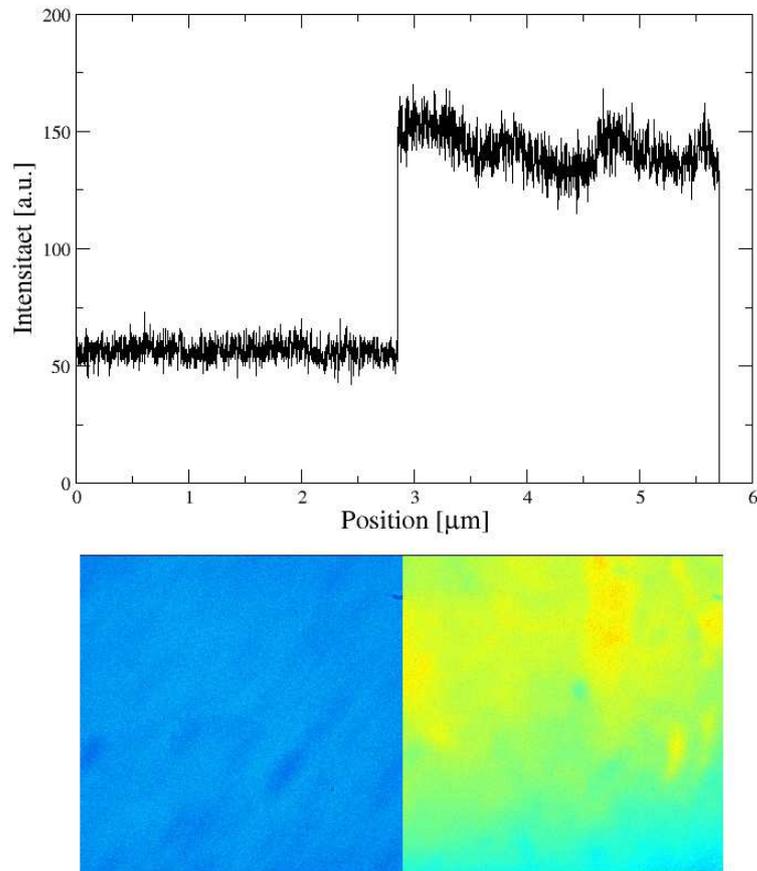


Abbildung 26: Proteinadsorption auf Quarzglas, links mit DDM-MC beschichtet und rechts nativ. Oben ist der Fluoreszenzintensitätsverlauf zu sehen.

Beschichtung	Intensität [$\frac{Counts}{4sec}$]			Reduktion [%]
	gemittelt	Minimum	Maximum	
nativ	152	124	192	0
F ₁₀₈	56	37	74	63
DDM-MC	56	37	74	63
PLL-PEG	94	67	123	38

Tabelle 4: Gemessene Intensitäten bei der Proteinadsorption auf Quarzglas, die Daten wurden über eine Fläche von 90000 Pixeln gemittelt.

4.3.1 Proteinadsorption auf PLL-PEG beschichtetem PDMS und Quarz

Die Fluoreszenzintensität auf Quarz mit statischer PLL-PEG-Beschichtung nimmt im Vergleich zum nativen Quarz um 38% ab, während die Fluoreszenzintensität

Beschichtung	Intensität [$\frac{Counts}{4sec}$]			Reduktion [%]
	gemittelt	Minimum	Maximum	
nativ	169	137	201	0
F ₁₀₈	125	100	156	26
DDM-MC	132	107	159	22
PLL-PEG	229	193	271	-36

Tabelle 5: Gemessene Intensitäten bei der Proteinadsorption auf PDMS, die Daten wurden über eine Fläche von 90000 Pixeln ermittelt.

auf PLL-PEG beschichtetem PDMS um 36% zunimmt.

4.3.2 Proteinadsorption auf DDM-MC beschichtetem PDMS und Quarz

Die Fluoreszenzintensität auf Quarz mit dynamischer DDM-MC-Beschichtung nimmt im Vergleich zum nativen Quarz um 63% ab. Auf PDMS bewirkt die Beschichtung eine Reduktion von 22%. DDM-MC bewirkt also auf beiden Materialien eine Reduktion der Proteinadsorption.

4.3.3 Proteinadsorption auf F₁₀₈ beschichtetem PDMS und Quarz

Die Fluoreszenzintensität auf Quarz mit dynamischer F₁₀₈-Beschichtung nimmt im Vergleich zum nativen Quarz um 63%. Auf PDMS bewirkt die Beschichtung eine Reduktion um 26%. Damit reduziert F₁₀₈ sowohl auf Quarz als auch auf PDMS die Proteinadsorption.

4.4 Ergebnisse der Kontaktwinkelmessung

Eine Möglichkeit, eine Aussage über Ladung oder Hydrophilie einer Oberfläche zu machen, ist die Bestimmung des Kontaktwinkels eines Wassertropfens auf der präparierten Oberfläche. Dabei wurde, wie bereits in Kapitel 3.7 erläutert, vorgegangen.

Die Ergebnisse der Kontaktwinkelmessung werden in Tabelle 6 dargestellt. Dabei wird deutlich, dass alle Flächen nach der Behandlung hydrophile Eigenschaften zeigten.

Bei der Auswertung dieser Daten ist zu berücksichtigen, dass bei DDM-MC und F₁₀₈ nur eine pseudodynamische Messung erfolgt ist, da die Messung in trockenem Zustand durchgeführt worden ist.

Beschichtung	Kontaktwinkel	
	PDMS	Quarz
nativ	24°	75°
PLL-PEG	19°	59°
DDM-MC	12°	60°
F ₁₀₈	16°	72°

Tabelle 6: Kontaktwinkel auf beschichteten Oberflächen. Die Oberflächen wurden so behandelt wie die Kanäle. Es ist zu berücksichtigen, dass DDM-MC und F₁₀₈ nur pseudodynamisch eingesetzt werden konnten, da die Oberflächen zur Messung trocken sein mussten.

5 Diskussion

5.1 Optimierung der EOF-Messung

Wie bereits in Kapitel 4.1 bemerkt, traten während der Messungen des EOF Unregelmäßigkeiten auf, die ihren Ursprung in der Art des Pipettierens hatten.

Ein beobachteter Effekt war, dass die Mobilität für einseitiges Pipettieren innerhalb einer Messreihe signifikant anstieg, während sie bei beidseitigem Pipettieren annähernd konstant blieb (Kapitel 4.1). Dieser Effekt trat sowohl bei dynamischer Beschichtung als auch bei statischer Beschichtung auf. Die Begründung konnte also nicht in der Art der Beschichtung zu finden sein.

Ein Grund lag in der Änderung des pH-Wertes, der festgestellt wurde (vergleiche Tabelle 3). Eine mögliche Erklärung sind elektrolytische Vorgänge an den Elektroden. Wenn das elektrische Feld (500 V) für mehr als 8 min anlag (bei einseitigem Pipettieren), bewirkten die Elektrodenreaktionen dass sich der pH-Wert messbar änderte (von pH 7,4 auf $\text{pH} \geq 10$).

Da μ_{eo} abhängig vom pH-Wert ist [11, 7], ist damit auch die Zunahme bei einseitigem Pipettieren zu erklären. Tauschte man den Puffer nach jedem vollständigen Messzyklus in beiden Reservoirien aus, war die Konzentrationsänderung so gering, dass die Mobilität nicht messbar anstieg. An Abbildung 18 kann man zudem sehen, dass die Mobilitäten bei einseitigem Pipettieren sehr viel größeren Schwankungen unterlagen als bei beidseitigem Pipettieren. Die Reproduzierbarkeit nahm also auch für beidseitiges Pipettieren zu.

In Abbildung 21 wurde das Pipettiervolumen erhöht. Durch das größere Volumen fiel die Konzentrationsänderung bei gleicher Elektrodenreaktion geringer aus. Dies bewirkte eine geringere pH-Wertänderung. Außerdem hatte das größere Volumen den Vorteil, dass Druckunterschiede aufgrund verschiedener Füllhöhen nicht mehr so stark ins Gewicht fielen und somit auch diese Fehler verringert werden konnten. Ein größeres Volumen wirkte sich damit in kleineren Schwankungen aus und erhöhte die Reproduzierbarkeit.

Im Bereich von 100-700 V konnten keine messbaren Unterschiede für μ_{eo} festgestellt werden. Messungen mit Spannungen über 800 V/cm waren nicht reproduzierbar.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass EOF-Messungen mit der Current-Monitoring-Methode optimiert werden können, wenn das Pipettiervolumen größer als 24 μL gewählt wird und wenn nach jedem vollständigen Messzyklus in beiden Reservoirien der Puffer ausgetauscht wird. Durch diese beiden Maßnahmen konnte die Reproduzierbarkeit deutlich erhöht werden.

5.2 Natives PDMS und Quarzglas

In diesem und den folgenden Kapiteln sollen μ_{eo} , die Proteinadsorption und die Kontaktwinkel gegenübergestellt werden.

Um eine Aussage machen zu können, in wie fern eine Beschichtung die Ober-

	PDMS	Quarz
Mobilität [$\cdot 10^{-4} \frac{cm^2}{Vs}$]	$2,1 \pm 0,33$	$3,15 \pm 0,68$
Reduktion der Fluoreszenzintensität	0%	0%
Kontaktwinkel	24°	75°

Tabelle 7: *Ergebnisse für natives, plasmaoxidiertes PDMS und Quarz, die Mobilitäten wurden bei beidseitigem Pipettieren bestimmt.*

flächeneigenschaften beeinflusst, wurden als Referenz alle Messungen auch mit den nativen Oberflächen (Quarzglas und oxidiertes PDMS) durchgeführt.

Der in Tabelle 7 angegebene Wert für die native Mobilität in PDMS ist mit $2,1 \cdot 10^{-4} \frac{cm^2}{Vs}$ niedriger als der von Hellmich et al. mit $(3,1 \pm 0,2) \cdot 10^{-4} \frac{cm^2}{Vs}$. Dabei ist zu beachten, dass dort mit Glas-PDMS-Hybrid-Chips gearbeitet wurde, während in dieser Arbeit mit PDMS-PDMS-Chips gearbeitet wurde. Der EOF ist allgemein in Glas-Chips höher. Diese Tendenz konnte auch hier wieder gezeigt werden.

Sowohl das oxidierte PDMS als auch das Quarzglas sind mit den Kontaktwinkeln 24° und 75° als hydrophil einzuordnen, wobei sich das PDMS deutlich abhebt. Die deutliche Hydrophilie des PDMS beruht auf der Plasmaoxidation. Diese erzeugt zusätzliche negative Ladungen. Aufgrund der Hydrophilie sind die Mikrofluidikkanäle einfach mit wässrigen Lösungen zu befüllen.

5.3 Auswirkungen der Beschichtungen

Allgemein zeichnen eine gute Beschichtung fünf Aspekte aus [7]:

- eine effektive Reduktion der Moleküladsorption
- einen konstanten EOF über einen möglichst weiten pH-Bereich
- reproduzierbare Präparation
- Stabilität über die Zeit der Messungen
- Stabilität über einen weiten pH-Bereich

In dieser Arbeit wurden drei Beschichtungen, Poly(l-ysin)-g-Poly(ethylenglycol) (PLL-PEG), n-Dodecyl β -D-Maltosid (DDM) mit Methyl Cellulose (MC) und das Pluronic F₁₀₈, im Hinblick auf den EOF, die Proteinadsorption und den Kontaktwinkel untersucht. Diese Moleküle erschienen aufgrund ihrer chemischen Beschaffenheit geeignet, den EOF und die Proteinadsorption zu reduzieren.

Das PLL-PEG besteht aus zwei Arten von Polymeren (siehe auch Abbildung 27).

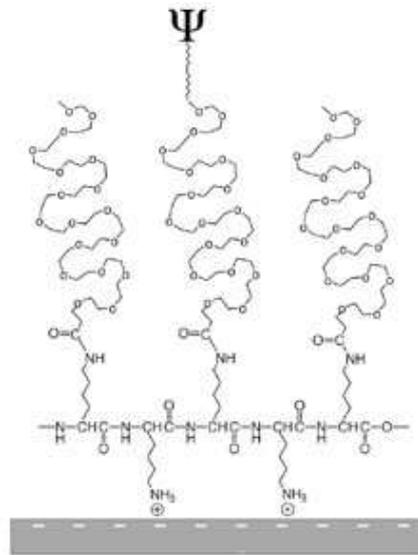


Abbildung 27: *Poly(l-lysine)-g-poly(ethylenglycol)*, das Rückgrat wird durch das PLL gebildet, die Seitenketten sind aus PEG.

Hierbei bildet das PLL ein positiv geladenes Rückgrat, an das das PEG als Seitenkette angeheftet ist. Da das PDMS negativ geladen ist, kommt es zu elektrostatischen Wechselwirkungen mit dem PLL-PEG und dadurch zu einer stabilen Anlagerung an die Oberfläche [20]. Bei PLL-PEG ist bereits eine Reduktion der Proteinadsorption an die Oberfläche nachgewiesen worden [20]. Es war daher von Interesse, ob es sich auch auf den EOF auswirkt. Dies war ein Ziel dieser Arbeit.

Das DDM-MC wird in einer Mischung von 0,03% MC und 0,25% DDM benutzt und daher als Hybrid (Abbildung 28) bezeichnet. Die Methyl Cellulose besteht aus einem Glucose-Dimer und erhöht die Viskosität der Flüssigkeit, abhängig von der Konzentration und der Methylierung (hier 27%).

In bisherigen Untersuchungen konnte für eine Beschichtung mit DDM und das Hybrid DDM-MC eine Reduktion des EOF in PMMA-Kanälen nachgewiesen werden [22]. Hierbei war eine Reduktion um nahezu 100% für das Hybrid und um 25% für das reine DDM erzielt worden. Da die Beschichtung mit DDM-MC zusätzlich auch noch die Reproduzierbarkeit, gegenüber dem reinen DDM, erhöhte, wurde in dieser Arbeit mit dem Hybrid beschichtet.

Die dritte Beschichtung ist das Pluronic F₁₀₈. In Abbildung 29 ist die Block-Struktur schematisch dargestellt. Es handelt sich dabei um zwei Blöcke aus je 132 Poly(ethylenglycol)-Einheiten, die an den Mittelblock aus 52 Poly(propylynglycol)-Einheiten gebunden sind. Da das Poly(ethylenglycol) etwas hydrophiler als das Poly(propylynglycol) ist, lagert sich das F₁₀₈ oberflächenspezifisch an. Auf hydrophilen Oberflächen legt es sich flach auf die Oberfläche, während die Seitenketten auf einer hydrophoben Oberfläche von dieser abstehen (siehe

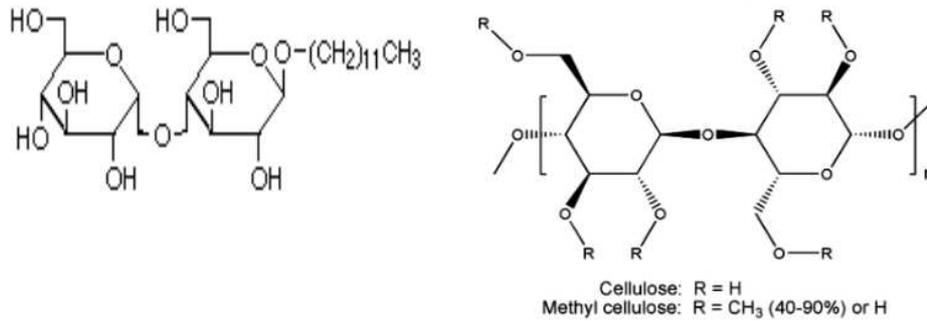
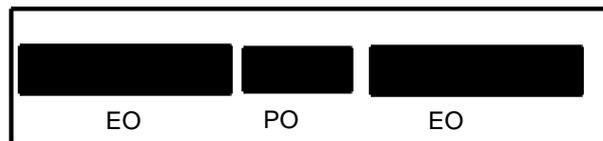
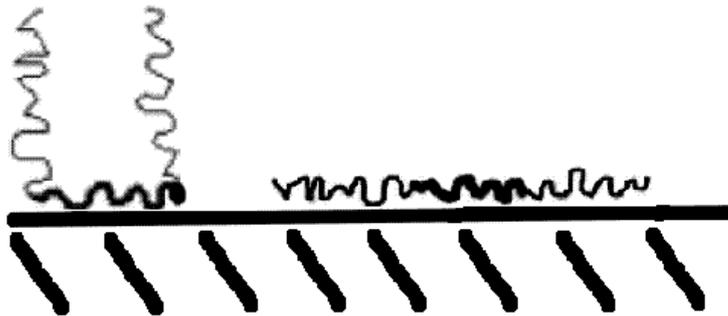


Abbildung 28: DDM (links) und MC(rechts)[21]

Abbildung 30) [18].

Abbildung 29: F₁₀₈, aus den Polymerblöcken Poly(ethylenglycol) (EO) und Poly(propylenglycol) (PO)Abbildung 30: F₁₀₈ lagert sich je nach Oberflächeneigenschaft verschieden an. Bei einer hydrophoben Oberfläche stehen die Seitenketten von dieser ab (links) während das Polymer flach auf einer hydrophilen Oberfläche aufliegt (rechts).

In der Arbeit von Hellmich et al. [18] wurde das F₁₀₈ statisch in PDMS-Kanälen untersucht und wies dabei eine gute Reduktion des EOF und der Proteinadsorption auf. In dieser Arbeit sollte es im Vergleich dazu als dynamische Be-

schichtung in PDMS und Quarzglas untersucht werden.

5.3.1 PLL-PEG beschichtetes PDMS und Quarzglas

	PDMS	Quarz
Mobilität[* $10^{-4} \frac{cm^2}{Vs}$](Reduktion)	$0,36 \pm 0,05$ (83%)	$0,38 \pm 0,08$ (88%)
Reduktion der Fluoreszenzintensität	-36%	38%
Kontaktwinkel	19°	59°

Tabelle 8: *Ergebnisse für statisch PLL-PEG beschichtetes PDMS und Quarz, die Mobilitäten wurden für das PDMS bei beidseitigem Pipettieren und beim Quarz bei einseitigem Pipettieren bestimmt.*

Wie aus Tabelle 8 zu entnehmen ist, wurde die elektroosmotische Mobilität in statisch PLL-PEG beschichteten Kanälen deutlich verringert. Im PDMS betrug die Reduktion 83% und im Quarz 88%. Damit konnte gezeigt werden, dass sich das PLL-PEG dazu eignete, sowohl in PDMS als auch in Quarzglas den EOF zu reduzieren. Hierbei war auch zu berücksichtigen, dass im Quarz einseitig pipettiert wurde. Es ist also zu erwarten, dass die Reduktion des EOF für beidseitiges Pipettieren, wie schon in Kapitel 4.1 erläutert, noch deutlicher ausfallen wird.

Bei der Langzeitstabilität konnte, wie auch schon bei den einzelnen Messreihen, eine Zunahme der Mobilität festgestellt werden (Abbildung 23, Abbildung 22). Es ist anzunehmen, dass die Zunahme der Mobilität mit der Art der Beschichtung zu begründen ist. Aufgrund der statischen Beschichtung wurde diese während der Messungen nicht mehr erneuert, so dass die Beschichtungsdichte mit der Zeit abnahm. Da die Mobilität durch die Beschichtung reduziert wurde, stieg diese beim Ablösen der Beschichtung wieder an.

Ein weiterer Vorteil der PLL-PEG-Beschichtung war, dass die Reproduzierbarkeit der EOF-Messungen besser wurde. So nahm der Fehler bei PDMS um 84% von $\pm 0,33 * 10^{-4} \frac{cm^2}{Vs}$ (nativ) auf $\pm 0,05 * 10^{-4} \frac{cm^2}{Vs}$ ab und bei Quarz um 87% von $0,68 * 10^{-4} \frac{cm^2}{Vs}$ (nativ) auf $0,08 * 10^{-4} \frac{cm^2}{Vs}$.

PLL-PEG bewirkte auf Quarz, wie in der Literatur bereits angegeben [20], eine Reduktion der Proteinadsorption um 38%. Entgegen der Erwartung kam es auf beschichtetem PDMS zu einer Zunahme der Fluoreszenz um 36% gegenüber dem nativen PDMS. Eine mögliche Begründung hierfür ist im Spülschritt zu finden. Wenn nach diesem noch nicht adsorbierte Proteine auf der Oberfläche verbleiben, kann die resultierende Fluoreszenz höher sein.

Die Kontaktwinkel für die PLL-PEG behandelten Flächen lagen unter 90°. Sowohl für PDMS als auch für das Quarz nahm die Hydrophilie der Oberfläche durch die Beschichtung zu. Das PDMS hob sich aber auch nach der Beschich-

tung mit einem Kontaktwinkel von unter 20° deutlich hervor. Dies hatte auch zur Folge, dass Mikrofluidikkanäle mit PLL-PEG-Beschichtung durch Kapillarkräfte allein befüllt werden können.

PLL-PEG reduziert also in beiden Materialien den EOF und auf Quarz die Proteinadsorption. Die durch die Beschichtung resultierende Hydrophilie der Oberfläche bewirkt in Mikrofluidikkanälen eine einfache Handhabung. PLL-PEG erfüllt die in Kapitel 5.3 genannten Kriterien und kann daher als gute Beschichtung angesehen werden.

5.3.2 DDM-MC beschichtetes PDMS und Quarzglas

	PDMS	Quarz
Mobilität dyn. [$\cdot 10^{-4} \frac{\text{cm}^2}{\text{Vs}}$](Reduktion)	$0,13 \pm 0,02$ (94%)	$0,28 \pm 0,09$ (91%)
Mobilität stat. [$\cdot 10^{-4} \frac{\text{cm}^2}{\text{Vs}}$](Reduktion)		$0,96 \pm 0,21$ (70%)
Reduktion der Fluoreszenzintensität	22%	63%
Kontaktwinkel	12°	60°

Tabelle 9: *Ergebnisse für DDM-MC beschichtetes PDMS und Quarz, die Mobilitäten wurden bei beidseitigem Pipettieren bestimmt. Bei DDM-MC wurde sowohl mit dynamischer (dyn.) als auch mit statischer (stat.) Beschichtung der EOF bestimmt. Die Proteinadsorption wurde dynamisch und die Kontaktwinkel mit pseudodynamischer Beschichtung bestimmt.*

Für DDM-MC in PMMA-Kanälen wurde bereits eine nahezu vollständige Reduktion des EOF nachgewiesen [22]. Es konnte mit dieser Arbeit gezeigt werden, dass sich DDM-MC auch in PDMS- und Quarzglas-Kanälen dazu eignete, den EOF zu reduzieren. So wurde er bei dynamischer Beschichtung in PDMS (94%) und Quarz (91%) nahezu vollständig reduziert. Bei der statischen Beschichtung in Quarz konnte der EOF mit 70% ebenfalls deutlich reduziert werden, allerdings stellte sich die dynamische Methode, wie zu erwarten, als die bessere Lösung heraus.

Bei der dynamischen Beschichtung befand sich das DDM-MC während der EOF-Messung direkt in der Lösung. Es ist anzunehmen, dass aufgrund eines Gleichgewichtes zwischen adsorbierter und freier Beschichtung, abgelöste Beschichtung sofort erneuert wurde. Somit war die Beschichtungsdichte die gesamte Messzeit über konstant. Wie schon in Kapitel 5.3.1 erläutert, wurde die Beschichtung bei der statischen Methode nicht während einer Messung erneuert, so dass die Beschichtungsdichte auf der Oberfläche mit der Zeit abnahm. Da das DDM-MC den EOF reduzierte, stieg die Mobilität wieder an, als dieses entfernt wurde. Dieses begründet die weniger gute Reduktion bei der statischen DDM-MC-Beschichtung.

Die Stabilität der dynamischen DDM-MC-Beschichtung ist auch bei der Langzeitbetrachtung (Abbildung 25) zu erkennen. Hier ist die Zunahme der elektroosmotischen Mobilität vernachlässigbar.

Die Beschichtung mit DDM-MC bewirkte auch eine Verbesserung der Reproduzierbarkeit der EOF-Messung. So nahm der Fehler bei PDMS von $\pm 0,33 * 10^{-4} \frac{cm^2}{Vs}$ (nativ) auf $\pm 0,02 * 10^{-4} \frac{cm^2}{Vs}$ um 94% ab und bei Quarz um 91% von $0,68 * 10^{-4} \frac{cm^2}{Vs}$ (nativ) auf $0,06 * 10^{-4} \frac{cm^2}{Vs}$.

Bei der Kontaktwinkelmessung auf DDM-MC beschichtetem PDMS konnte im Mittel ein Winkel von 12° gemessen werden. Auf DDM-MC beschichtetem Quarzglas betrug der gemittelte Wert 60° . Aufgrund der Kontaktwinkel waren alle Flächen als hydrophil einzuordnen. Das PDMS hob sich aber auch hier wieder mit Kontaktwinkeln kleiner als 20° deutlich hervor. Die Proteinadsorption konnte durch die DDM-MC-Beschichtung auf PDMS um 22% und auf Quarz um 63% reduziert werden. DDM-MC konnte also auf Quarz bessere Reduktionen der Proteinadsorption bewirken als auf PDMS.

DDM-MC reduzierte also den EOF und die Proteinadsorption sowohl für Quarz als auch für PDMS. Während der Arbeit mit DDM-MC ist allerdings negativ aufgefallen, dass es schneller zu einer Bläschenbildung kommt. Aufgrund dessen war eine größere Vorsicht bei den Pipettierschritten zu beachten. Die deutliche Hydrophilie der Oberfläche sorgte aber auch bei dieser Beschichtung für ein einfaches Befüllen der Mikrofluidikkanäle. DDM-MC erfüllte also trotz des kleinen Mankos die in Kapitel 5.3 genannten Kriterien und kann daher als gute Beschichtung angesehen werden.

5.3.3 F₁₀₈ beschichtetes PDMS und Quarzglas

	PDMS	Quarz
Mobilität [$*10^{-4} \frac{cm^2}{Vs}$] (Reduktion)	$0,14 \pm 0,02$ (93%)	$0,26 \pm 0,06$ (92%)
Reduktion der Fluoreszenzintensität	26%	63%
Kontaktwinkel	16°	72°

Tabelle 10: Ergebnisse für dynamisch F₁₀₈ beschichtetes PDMS und Quarz, die Mobilitäten wurden bei beidseitigem Pipettieren bestimmt.

Für F₁₀₈ konnte eine sehr gute Reduktion des EOF (92% im Quarz, 93% im PDMS) gezeigt werden (Tabelle 10). Damit war die Reduktion für die dynamische Beschichtung deutlich stärker als für die in der Literatur angegebene statische Beschichtung mit 50% [18].

Der Fehler nahm für die dynamische F₁₀₈-Beschichtung bei PDMS von $\pm 0,33 * 10^{-4} \frac{cm^2}{Vs}$ (nativ) auf $\pm 0,02 * 10^{-4} \frac{cm^2}{Vs}$ um 93% ab und bei Quarz um 91% von

$0,68 * 10^{-4} \frac{cm^2}{Vs}$ (nativ) auf $0,09 * 10^{-4} \frac{cm^2}{Vs}$. Die Reproduzierbarkeit nahm also auch für eine F₁₀₈-Beschichtung deutlich zu.

Bei der Kontaktwinkelmessung auf F₁₀₈ beschichtetem PDMS konnte im Mittel ein Winkel von 16° gemessen werden. Auf F₁₀₈ beschichtetem Quarzglas betrug der gemittelte Wert 72°. Aufgrund der Kontaktwinkel waren alle Flächen als hydrophil einzuordnen. Das PDMS hob sich aber mit Kontaktwinkeln kleiner als 20° deutlich hervor.

Wie schon in der Literatur angegeben [18], reduziert eine statische Beschichtung mit F₁₀₈ die Proteinadsorption. Für die dynamische Beschichtung konnte auf Quarz mit 63% eine deutlich bessere Reduktion nachgewiesen werden als auf PDMS mit 26%. Hellmich et al. haben auf PDMS eine Gesamtreduktion von 85% festgestellt, wobei die Plasmaoxidation bereits eine Reduktion um 79% bewirkte. Die Reduktion der Proteinadsorption durch die statische Beschichtung war demnach etwa 8%. Damit war die Reduktion der Proteinadsorption bei einer dynamischen Beschichtung mit F₁₀₈ besser als bei der statischen Beschichtung mit F₁₀₈ (siehe [18]).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die dynamische F₁₀₈-Beschichtung den EOF und die Proteinadsorption für beide Materialien deutlich reduzierte. Die Hydrophilie der behandelten Oberflächen bewirkte ein einfaches Befüllen der Mikrofluidikkanäle. Die Beschichtung war auch sonst gut zu handhaben. F₁₀₈ erfüllt also die in Kapitel 5.3 genannten Kriterien und kann daher als gute Beschichtung für Verfahren in Mikrofluidikkanälen angesehen werden.

6 Zusammenfassung und Ausblick

Es sind Oberflächenbeschichtungen in Mikrofluidikkanälen auf ihre Wirkung auf den EOF, die Proteinadsorption und den Kontaktwinkel untersucht worden. Da hierbei aber Unregelmäßigkeiten in Zusammenhang mit der Art des Pipettieren auffielen, wurde diesen ebenfalls nachgegangen, um die Messung des EOF zu optimieren.

Dabei wurde festgestellt, dass die Ergebnisse die kleinsten Fehler aufwiesen, wenn bei der Current-Monitoring-Methode der Puffer nach jedem vollständigen Messzyklus in beiden Reservoirs ausgetauscht wurde und das Volumen mehr als $24\mu\text{L}$ betrug. Diese beiden Maßnahmen bewirkten eine geringere Veränderung des pH-Wertes über mehrere Messungen und damit kleinere Schwankungen in der Mobilität.

Die Hauptaufgabe war es, Oberflächenbeschichtungen in Mikrofluidikkanälen zu charakterisieren. Die ausgewählten Beschichtungen, PLL-PEG, DDM-MC und F₁₀₈ wurden hierzu untersucht auf ihren Einfluss

- auf den elektroosmotischen Fluss,
- auf die Reduktion der Proteinadsorption, am Beispiel FITC-BSA,
- auf den Kontaktwinkel an der drei-Phasengrenzfläche (Substrat, Wasser, Luft).

Hierbei kann zusammenfassend gesagt werden, dass alle drei Beschichtungen den EOF sowohl in Quarz- als auch in PDMS-Mikrofluidikkanälen reduzierten. Maximale Reduktionen ergaben sich hierbei mit den dynamischen Beschichtungen bei DDM-MC und F₁₀₈. Diese konnten den EOF, mit Reduktionen von 94% und 91% für eine DDM-MC-Beschichtung in PDMS und Quarz und 93% und 92% für eine F₁₀₈-Beschichtung in PDMS und Quarz, nahezu vollständig zum Stillstand bringen, wobei das DDM-MC in PDMS und das F₁₀₈ in Quarz jeweils geringfügig besser waren.

Die statischen Beschichtungen von PLL-PEG und DDM-MC wiesen im direkten Vergleich eine schlechtere Reduktion auf als die dynamischen Beschichtungen. Aber auch diese konnten den EOF deutlich reduzieren. Das PLL-PEG konnte hierbei mit einer Reduktion von 88% in Quarz eher überzeugen als das DDM-MC mit einer Reduktion von 70% in Quarz, zumal das DDM-MC aufgrund der höheren Viskosität auch schlechter zu handhaben war.

In Hinsicht auf die Langzeitstabilität konnte das DDM-MC als dynamische Beschichtung überzeugen. Hier war nur eine geringe Zunahme der Mobilität festzustellen. So betrug die Reduktion am ersten Tag 92%, am dritten Tag 90% und am siebten Tag 90%. Das statisch eingesetzte PLL-PEG wies bei der Langzeitbetrachtung eine leichte Schwächung der Reduktion auf, konnte den EOF aber auch nach drei und sieben Tagen mit 79% und 70% deutlich messbar reduzieren.

Bei der Proteinadsorption konnte die Fluoreszenzintensität für die beiden dynamischen Beschichtungen DDM-MC und F₁₀₈ Beschichtungen auf Quarz (63% und 63%) stärker reduziert werden als auf PDMS (22% und 26%). Da das BSA eher auf hydrophoben Oberflächen adsorbiert, korreliert die stärkere Reduktion der Fluoreszenz bei den dynamischen Beschichtungen auch mit den kleineren Kontaktwinkeln. Zwischen DDM-MC und F₁₀₈ war nur ein leichter Unterschied erkennbar. Die beiden dynamischen Beschichtungen waren also in der Reduktion der Proteinadsorption gleich zu setzen.

Entgegen der Erwartung, konnte für die PLL-PEG-Beschichtung auf PDMS statt einer Abnahme der Fluoreszenzintensität eine Zunahme um 36% beobachtet werden. Dies ist möglicherweise mit dem Spülschritt zu erklären, der alle nicht adsorbierte Proteine entfernen sollte. Ein nicht vollständiger Spülschritt führte zu einer höheren Fluoreszenzintensität durch FITC-BSA Rückstände. Auf Quarz konnte die PLL-PEG-Beschichtung erwartungsgemäß die Proteinadsorption reduzieren. Die Reduktion lag hier mit 38% niedriger als bei den beiden dynamischen Beschichtungen. Auch hier korreliert das Ergebnis der Proteinadsorption mit dem der Kontaktwinkel. Diese waren sowohl bei PDMS als auch bei Quarz für die Beschichtungen mit DDM-MC und F₁₀₈ kleiner als für die Beschichtung mit PLL-PEG.

Im Rahmen dieser Arbeit konnte festgestellt werden, dass sich alle drei Beschichtungen eignen, um den EOF und die Proteinadsorption zu reduzieren. Außerdem stellte sich heraus (im Vergleich mit Literaturwerten oder durch direkte Messung), dass die Reduktionen bei dynamischer Beschichtung immer stärker waren als bei statischer. Bei den dynamischen Beschichtungen war die DDM-MC-Beschichtung der F₁₀₈-Beschichtung überlegen. Bei der statischen Beschichtungen konnte das PLL-PEG gegenüber dem DDM-MC eindeutig die besseren Ergebnisse erzielen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass sich die Beschichtungen zur EOF-Kontrolle und Reduktion der Proteinadsorption eignen. Um die Beschichtungen weiter zu charakterisieren, kann man die Temperatur-, pH- und Spannungsabhängigkeiten noch eingehender untersuchen. Auch bei der Viskosität von DDM-MC ist anzunehmen, dass diese eine entscheidende Rolle spielt. So wäre zum Beispiel eine Messreihe mit verschiedenen Viskositäten denkbar.

Eine ganz entscheidende Fragestellung ist auch, welche Beschichtung sich für welches Experiment am besten eignet. So ist zum Beispiel die Trenneffizienz bei Proteinen stark von der eingesetzten Beschichtung abhängig. Die Adsorption von DNA und anderen Molekülen muss noch weitergehend untersucht werden.

Es konnte in PDMS-Mikrofluidikkanälen bereits qualitativ gezeigt werden, dass PLL-PEG- und DDM-MC-Beschichtungen die Adsorption von 1,9 μm und 0,5 μm großen Latex-Partikeln in einer Mikrofluidikanwendung deutlich reduzierten. Außerdem konnte in einem PDMS-Mikrofluidikkanal eine reduzierte DNA-Adsorption bei einer PLL-PEG-Beschichtung beobachtet werden. Die dielektrophoretische Migrationsrichtung einer DNA wurde, zumindest qualitativ, in einem PLL-PEG beschichteten PDMS-Mikrofluidikkanal nicht verändert. Die genauen Auswirkungen der Beschichtungen müssen aber in weiteren Experi-

menten noch untersucht werden.

Literatur

- [1] REYES, D.R., D. IOSSIFIDIS, P.-A. AUROUX und A. MANZ: *Micro Total Analysis Systems. 1. Introduction, Theory, and Technology*. Anal. Chem., 74:2623–2636, 2002.
- [2] AUROUX, P.-A., D. IOSSIFIDIS, D.R. REYES und A. MANZ: *Micro Total Analysis Systems. 2. Analytical Standard Operations and Applications*. Anal. Chem., 74:2637–2652, 2002.
- [3] VILKNER, T., D. JANASEK und A. MANZ: *Micro Total Analysis Systems. Recent Developments*. Anal. Chem., 76:3373–3386, 2004.
- [4] MESCHEDER, D.: *Gerthsen Physik*. Springer Verlag, 2002.
- [5] KUCHLING, H.: *Taschenbuch der Physik*. Leipziger Verlag, 2004.
- [6] DEMTRÖDER, W.: *Experimentalphysik 1, Mechanik und Wärme*. Nummer 3. Auflage. Springer Verlag, 2004.
- [7] KUHN, R. und S. HOFFSTETTER-KUHN: *Capillary Electrophoresis: Principles and Practice*. Springer Verlag, 1993.
- [8] DEMTRÖDER, W.: *Experimentalphysik 2, Elektrizität und Optik*. Springer Verlag, 2004.
- [9] CONLISK, A.T.: *The Debye-Hückel approximation: its use in describing electroosmotic flow in micro- and nanochannels*. Electrophoresis, 26(10):1896–1912, May 2005.
- [10] GROSSMANN, P.D. und J.C. COLBURN: *Capillary Electrophoresis- Theory and Practice*. Academic Press, 1992.
- [11] PROBSTEIN, R.F.: *Physicochemical Hydrodynamics, An Introduction*. John Wiley and Sons, Inc., second Auflage, 2003.
- [12] WEINBERGER, R.: *Practical Capillary Electrophoresis*. Academic Press, Inc., 1993.
- [13] ALTRIA, K.D.: *Capillary Electrophoresis Guidebook- Principles, Operation, and Applications*. Humana Press Inc., 1996.
- [14] HUANG, X., M.J. GORDON und R.N. ZARE: *Current-Monitoring Method for Measuring the Electroosmotic Flow Rate in Capillary Zone Electrophoresis*. Anal. Chem., 60:1837–1838, 1988.
- [15] BEBBE, D.J., G.A. MENSING und G.M. WALKER: *Physics and Applications of Microfluidics in Biology*. Annual Review of Biomedical Engineering, 4:261–286, 2002.
- [16] REGTMEIER, J.: *Alternativer Migrationsmechanismus in Mikrofluidiksystemen: Absolut negative Mobilität*. Diplomarbeit, Universität Bielefeld, 2005.

- [17] CAMPBELL, D.J., K.J. BECKMAN, C.E. CALDERON, P.W. DOOLAN, R.H. MOORE, A.B. ELLIS und G.C. LISENSKY: *Replication and Compression of Bulk Surface Structures with Polydimethylsiloxane Elastomer*. J. Chem. Educ., 76:537, 1999.
- [18] HELLMICH, W., J. REGTMEIER, T.T. DUONG, R. ROS, D. ANSELMETTI und A. ROS: *Poly(oxyethylene) based surface coatings for poly(dimethylsiloxane) microchannels*. Langmuir, 21(16):7551–7557, Aug 2005.
- [19] ARULANANDAM, S. und D. LI: *Determining zeta Potential and Surface Conductance by Monitoring the Current in Electro-osmotic Flow*. J Colloid Interface Sci, 225(2):421–428, May 2000.
- [20] HUANG, N.-P. und R. MICHEL: *Poly(L-lysine)-g-poly(ethylene glycol) Layers on Metal Oxide Surfaces: Surface- Analytical Characterization and Resistance to Serum and Fibrinogen Adsorption*. Langmuir, 17(2):489–498, 2001.
- [21] *Homepage von Sigma-Aldrich*.
http://www.sigmaaldrich.com/Area_of_Interest/Europe_Home/Germany.html, August 2007.
- [22] DANG, F. und K. KAKEHI: *Hybrid Dynamic Coating with n-Dodecyl beta-D-Maltoside and Methyl Cellulose for High-Performanc Carbohydrate Analysis on Polymer(methyl methacrylate) Chips*. Anal. Chem., 78:1452–1458, 2006.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen danken, die mich während dieser Arbeit unterstützt haben und ein Gelingen so erst möglich gemacht haben.

Zuerst möchte ich Herrn Prof.Dr. Dario Anselmetti danken für die Möglichkeit, meine Arbeit in seiner Arbeitsgruppe zu schreiben.

Auch Frau PD Dr. Alexandra Ros möchte ich, für die ergiebigen Diskussionen und das in mich gesetzte Vertrauen danken.

Herrn Dr. Andreas Hütten möchte ich für die Erstellung des Zweitgutachtens danken.

Herrn Dipl.Phys. Jan Regtmeier danke ich für die Einweisungen während meiner Zeiten als SHK und meiner Bachelorarbeit. Er hat durch die vielen konstruktiven Diskussionen und Korrekturen sehr zum Gelingen meiner Arbeit beigetragen.

Herrn Dipl.Biotech. Dominik Greif möchte ich für die hilfreiche Unterstützung danken, ebenso wie für die Diskussionen und das Korrekturlesen meiner Arbeit.

Herrn Dr. Armin Brechling danke ich für die freundliche Leihgabe des Goniometers und die Einweisung in die Kontaktwinkelmessungen.

Herrn Christoph Kleimann danke ich für das angenehme Miteinander als Bürokollegen und die gerne angenommenen Ablenkungen vom Schreiben.

Herrn Dr. Andy Sischka möchte ich für die gemeinsame Zeit im Labor danken. Er hat mir die oftmals langwierigen Messzeiten verkürzt.

Herrn Dipl.Ing. Christoph Pelargus danke ich für die prompten Hilfen bei meinen Computerproblemen.

Für die Unterstützung besonders in den Anfängen des TEX-ens möchte ich Herrn Lukas Bogunovic danken.

Ich möchte aber auch allen anderen Mitarbeitern der Abteilung für *Biophysik und angewandte Nanowissenschaften* danken für das freundliche Miteinander.

Frau Carolin Rademacher möchte ich für die gemeinsam durchgestandene Studienzeit danken. Die vielen Probleme mit unserem neuen Studiengang haben wir, denke ich, ganz gut bewältigt. Die letzten zwei Jahre schaffen wir auch noch!

Meinem Freund Tim gebührt ein ganz dickes Dankeschön. Er ließ mich den Uni-Alltag so manches Mal vergessen und hat auch meine Launen, wenn es mal nicht so laufen wollte, tapfer ertragen. Ich freue mich, sein Interesse an meiner Arbeit geweckt zu haben. Sein „negativ geladener Dreck“ amüsiert mich noch immer.

Ganz besonders möchte ich meinen Eltern danken für ihren Zuspruch und die Geduld in allen Höhen und Tiefen meines gesamten Studiums. Ihretwegen war es mir erst möglich meinem Studium so zielgerichtet nachzugehen. Ich habe das gute Gefühl mit ihnen auch den Rest meines Studiums zu meistern.