

Beiträge aus der Elektrotechnik

**Sebastian Häfner**

**Komponenten- und Technologieentwicklung zur  
mikrofluidischen Abbildung einer  
biotechnologischen Prozesskette**

 VOGT

Dresden 2018

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

Bibliographic Information published by the Deutsche Nationalbibliothek  
The Deutsche Nationalbibliothek lists this publication in the Deutsche  
Nationalbibliografie; detailed bibliographic data are available on the  
Internet at <http://dnb.dnb.de>.

Zugl.: Dresden, Techn. Univ., Diss., 2018

Die vorliegende Arbeit stimmt mit dem Original der Dissertation  
„Komponenten- und Technologieentwicklung zur mikrofluidischen  
Abbildung einer biotechnologischen Prozesskette“ von Sebastian Häfner  
überein.

© Jörg Vogt Verlag 2018  
Alle Rechte vorbehalten. All rights reserved.

Gesetzt vom Autor

ISBN 978-3-95947-029-2

Jörg Vogt Verlag  
Niederwaldstr. 36  
01277 Dresden  
Germany

Phone: +49-(0)351-31403921  
Telefax: +49-(0)351-31403918  
e-mail: [info@vogtverlag.de](mailto:info@vogtverlag.de)  
Internet : [www.vogtverlag.de](http://www.vogtverlag.de)

Technische Universität Dresden

**Komponenten- und  
Technologieentwicklung zur  
mikrofluidischen Abbildung einer  
biotechnologischen Prozesskette**

**M.Sc. Sebastian Häfner**

von der Fakultät für Elektrotechnik und Informationstechnik der  
Technischen Universität Dresden

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktoringenieur**  
(Dr.-Ing.)

genehmigte Dissertation

Vorsitzender:	Prof. Dr.-Ing. habil. Gerald Gerlach
Gutachter:	Prof. Dr.-Ing. Andreas Richter
	Prof. Dr. rer. nat. habil. Brigitte Voit

Tag der Einreichung:	27.03.2018
Tag der Verteidigung:	08.06.2018



# INHALTSVERZEICHNIS

Abbildungsverzeichnis	XI
Tabellenverzeichnis	XV
Abkürzungsverzeichnis	XVII
Symbolverzeichnis	XXI
Abstract	XXIII
Zusammenfassung	1
<b>1 Einleitung, Motivation und Zielstellung</b>	<b>3</b>
1.1 Einleitung . . . . .	3
1.2 Motivation . . . . .	4
1.3 Zielstellung . . . . .	5
<b>2 Mikrofluidik - Theorie und Stand der Technik</b>	<b>7</b>
2.1 Mikrofluidik und Lebenswissenschaften . . . . .	8
2.2 Theoretische Aspekte . . . . .	9
2.2.1 Dimensionslose Kennzahlen . . . . .	9
2.2.2 Hydrodynamischer Fluss . . . . .	11
2.2.3 Diffusion und Mischen . . . . .	12
2.3 Passive mikrofluidische Komponenten . . . . .	13
2.3.1 Passive Komponenten der kontinuierlichen Mikrofluidik . . . .	14

2.3.2	Passive Komponenten der diskontinuierlichen Mikrofluidik . . .	16
2.4	Plattformtechnologien . . . . .	19
2.4.1	Mikropneumatik . . . . .	20
2.4.2	Zentrifugalmikrofluidik . . . . .	21
2.4.3	Elektrobenetzung/Digitale Mikrofluidik . . . . .	22
2.5	Zusammenfassung . . . . .	24
<b>3</b>	<b>Ausgewählte Polymere in der Mikrofluidik</b>	<b>27</b>
3.1	Elastomere . . . . .	28
3.2	Thermoplaste . . . . .	28
3.3	Hydrogele . . . . .	30
3.4	Stimuli-Sensitive Hydrogele . . . . .	31
3.4.1	Quellverhalten . . . . .	32
3.4.2	Quellkinetik . . . . .	34
3.4.3	Volumenphasenübergang . . . . .	35
3.4.4	Kritische Entmischungstemperatur . . . . .	36
3.4.5	Einsatz in mikrofluidischen Systemen . . . . .	37
3.4.6	Zusammenfassung . . . . .	41
<b>4</b>	<b>Materialien und Methoden</b>	<b>43</b>
4.1	Materialien . . . . .	43
4.1.1	Puffer . . . . .	46
4.1.2	Kulturmedien . . . . .	47
4.2	Methoden . . . . .	47
4.2.1	Thermisch-induzierte Polymerisation . . . . .	47
4.2.2	UV-induzierte Polymerisation . . . . .	48
4.2.3	Oberflächenfunktionalisierung . . . . .	50
4.2.4	Hydrogelcharakterisierung . . . . .	50
4.2.5	Mikrostrukturierung von Hydrogelen . . . . .	53
4.2.6	Herstellung mikrofluidischer Systeme . . . . .	54
4.2.7	Thermoplast-basierte Systeme . . . . .	56

<b>5</b>	<b>Charakterisierung PNIPAAm-basierter Hydrogele</b>	<b>59</b>
5.1	PNIPAAm-Homopolymer . . . . .	60
5.2	PNIPAAm-Copolymere . . . . .	62
5.2.1	Verwendete Comonomere . . . . .	63
5.2.2	Einfluss von Puffern . . . . .	64
5.2.3	Einfluss organischer Lösungsmittel . . . . .	68
5.2.4	Zucker-sensitive PNIPAAm-Copolymere . . . . .	71
5.3	Zusammenfassung . . . . .	75
<b>6</b>	<b>Optimierung der Fotolithografischen Mikrostrukturierung von Hydrogelaktoren</b>	<b>79</b>
6.1	Aufbau . . . . .	80
6.2	Einfluss von Sauerstoff und UV-Quelle . . . . .	82
6.3	Optimierung des Strukturierungsprozesses . . . . .	85
6.4	Zusammenfassung . . . . .	87
<b>7</b>	<b>Hochintegration von Hydrogelaktoren in mikrofluidische Systeme</b>	<b>89</b>
7.1	Diskussion von Integrationsmethoden und Methodenwahl . . . . .	90
7.2	Charakterisierung der „FlipChip“ Methode . . . . .	95
7.2.1	Einfluss der Präparationsausbeute . . . . .	95
7.2.2	Positioniergenauigkeit der Aktoren . . . . .	96
7.2.3	Zuverlässigkeit und Funktionsausbeute . . . . .	98
7.3	Thermische Steuerung hochintegrierter Hydrogelaktoren . . . . .	101
7.4	Zusammenfassung . . . . .	108
<b>8</b>	<b>Poren und Molekularsiebe auf Hydrogelbasis</b>	<b>111</b>
8.1	Konzept der chemofluidisch steuerbaren in-Chip Filter . . . . .	112
8.2	Einstellbare Mikroporen auf PNIPAAm-Basis . . . . .	114
8.2.1	Materialauswahl . . . . .	115
8.2.2	Statisches Verhalten . . . . .	116

8.2.3	Dynamisches Verhalten . . . . .	119
8.2.4	Skalierbarkeit . . . . .	121
8.3	PNIPAAm-Hydrogele als Molekularsiebe . . . . .	123
8.4	Zusammenfassung . . . . .	126
<b>9</b>	<b>Hydrogele als Speicherelemente</b>	<b>129</b>
9.1	Voruntersuchungen . . . . .	130
9.2	Auslesbare Speicherelemente auf PNIPAAm-Basis . . . . .	131
9.2.1	Konzept und Auswahl mikrofluidischer Designs . . . . .	132
9.2.2	Messaufbau . . . . .	135
9.2.3	Charakterisierung der Speicherelemente . . . . .	137
9.3	Weiterentwicklung des Speicherkonzeptes in Hybridplattformen . . . . .	145
9.4	Zusammenfassung . . . . .	149
<b>10</b>	<b>Entwicklung mikrofluidischer Batch-Kultivierungssysteme</b>	<b>151</b>
10.1	Verträglichkeit von Kultivierungsmedien und Hydrogelen . . . . .	151
10.2	Batch-Kultivierung von Mikroalgen . . . . .	152
10.2.1	Voruntersuchungen . . . . .	154
10.2.2	Mikrofluidische Kultivierung . . . . .	155
10.3	Mikrofluidische Batch-Kultivierung von Hefen . . . . .	157
10.4	Zusammenfassung . . . . .	161
<b>11</b>	<b>Diskussion</b>	<b>163</b>
<b>12</b>	<b>Ausblick</b>	<b>167</b>
	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>171</b>
<b>A</b>	<b>Anhang</b>	<b>XXV</b>

# ABBILDUNGSVERZEICHNIS

2.1	Publikationszahl . . . . .	8
2.2	Mikrofluidische Mischerstrukturen . . . . .	15
2.3	Passive Größenseparationsstechniken . . . . .	16
2.4	Geometrien zu Tröpfchengenerierung . . . . .	17
2.5	T-Junction Segmentdimensionen . . . . .	18
2.6	Prinzip Mikropneumatik . . . . .	21
2.7	Prinzip und Kräfte der Zentrifugalmikrofluidik . . . . .	22
2.8	Beispiele EWOD-Plattform . . . . .	23
2.9	Konfigurationen EWOD-Plattform . . . . .	23
3.1	Struktur PDMS . . . . .	28
3.2	Strukturierungsmethoden für Thermoplaste . . . . .	29
3.3	Hydrogelarten . . . . .	30
3.4	<i>N</i> -Isopropylacrylamid (NIPAAm) . . . . .	31
3.5	Schematischer Verlauf des Volumen-Phasenübergang . . . . .	36
3.6	Prinzip eines PNIPAAm-Ventils . . . . .	39
3.7	Makroskopische Analogie Temperatur Ethanol . . . . .	40
3.8	Polymer-basierte Mikrofluidventile und Chemofluidtransistoren . . . . .	41
4.1	Schema Herstellung Polymerisationslösung . . . . .	48
4.2	Schema Fotolithografie von Hydrogelaktoren . . . . .	54
4.3	Prozessablauf Fotolithografie . . . . .	55
4.4	Prozessablauf Chipherstellung . . . . .	56

4.5	Aufbau Heißpräganlage . . . . .	57
4.6	Aufbau Thermoplast-Kaltschweißen . . . . .	57
5.1	Temperatursensitivität von PNIPAAm . . . . .	60
5.2	Lösungsmittelsensitivität von PNIPAAm . . . . .	61
5.3	Puffereinfluss auf PNIPAAm-Copolymere . . . . .	66
5.4	$T_{VP}$ -Verschiebung von PNIPAAm-co-NA . . . . .	67
5.5	Lösungsmittelsensitivitäten von PNIPAAm-Copolymere I . . . . .	69
5.6	Lösungsmittelsensitivitäten von PNIPAAm-Copolymere II . . . . .	70
5.7	Glucosesensitivität von PNIPAAm-co-BS Polymeren . . . . .	71
5.8	Fructosesensitivität von PNIPAAm-co-BS Polymeren . . . . .	72
5.9	Puffereinfluss auf PNIPAAm-co-BS Polymere . . . . .	73
5.10	$T_{VP}$ -Verschiebung bei PNIPAAm-co-BS . . . . .	74
6.1	Aufbau Polymerisationssetup . . . . .	80
6.2	Spektrale Strahlungsintensität UV-Lampe, Emissionswellenlänge UV-Laser und Absorptionsspektrum Fotoinitiator . . . . .	81
6.3	Räumliche Intensitätsverteilung verwendeter UV-Quellen . . . . .	82
6.4	Belichtungszeit-abhängiger Quellgrad unter inert/standard Bedingungen für UV-Lampe und Laser . . . . .	83
6.5	Lokale Auflösung des Polymerisationsprozesses von PNIPAAm unter verschiedenen Bedingungen . . . . .	84
6.6	Quellgrad und kooperativer Diffusionskoeffizient von PNIPAAm Gelen . . . . .	85
6.7	Mikrostrukturierte Hydrogelaktoren . . . . .	86
7.1	Prozessbeschreibung „FlipChip“ Methode . . . . .	91
7.2	Fehlstellungen bei der Ausrichtung von zwei Geometrien . . . . .	92
7.3	Positioniervorrichtung „FlipChip“ Methode . . . . .	93
7.4	Mikrofluidische Netzwerke mit hochintegrierten Hydrogelaktoren . . . . .	97
7.5	Druckstabilität und Langzeittest . . . . .	99
7.6	Ausfalltest von integrierten Ventilen . . . . .	100

7.7	Mikroskopaufnahmen eines aktuierten Ventils . . . . .	102
7.8	Prinzip des optoelektrothermischen Controllers . . . . .	104
7.9	Individuelle optoelektrothermische Ansteuerung . . . . .	106
7.10	Optoelektrothermische Ventilaktuation . . . . .	107
8.1	Konzept chemofluidische Poren und Filter . . . . .	113
8.2	Fotolithografische Batch-Fertigung von Hydrogelporen . . . . .	115
8.3	Materialauswahl für Hydrogelporen . . . . .	116
8.4	Mikroskopaufnahmen zirkulärer Hydrogelporen . . . . .	117
8.5	Mikroskopaufnahmen rechteckiger Hydrogelporen . . . . .	118
8.6	Mikroskopaufnahmen kreuzförmiger Hydrogelporen . . . . .	118
8.7	Statisches Verhalten zirkulärer Hydrogelporen . . . . .	119
8.8	FEM Simulation zirkuläre Pore . . . . .	120
8.9	Statisches Verhalten rechteckiger Hydrogelporen . . . . .	121
8.10	Statisches Verhalten kreuzförmige Hydrogelporen . . . . .	122
8.11	Dynamisches Verhalten von Hydrogelporen . . . . .	122
8.12	Skalierung von Mikroporen . . . . .	123
8.13	REM-Aufnahmen gefriergetrockneter PNIPAAm-Gele . . . . .	124
8.14	Lösungsmittelabhängige Fluoresceindiffusion in PNIPAAm-Gele . . . . .	125
8.15	Einstellbare PNIPAAm-basierte Diffusionsbarrieren . . . . .	125
8.16	PNIPAAm-Gele als Größenausschlussfilter . . . . .	126
9.1	Voruntersuchungen zu Heterophasen-Manipulatoren . . . . .	131
9.2	Simulation Scherrate Speicherelemente . . . . .	133
9.3	Mikrofluidische Designs auslesbare Speicher . . . . .	135
9.4	Messaufbau Speicherelementcharakterisierung . . . . .	136
9.5	Aufnahmen Messaufbau Speicherelemente . . . . .	137
9.6	Auslesen eines Speicherelements . . . . .	138
9.7	Auslesefunktion eines Speicherelements . . . . .	138

9.8	Auslesefunktion von Hydrogelspeichern . . . . .	139
9.9	Zeitverhaltens von Hydrogelspeichern . . . . .	142
9.10	Zeitkonstanten, Quellgrad und Diffusionskoeffizient . . . . .	143
9.11	Architektur von Hydrogelventilen . . . . .	146
9.12	Aufbau der Hybridplattform . . . . .	147
9.13	Steuerung der Hybridplattform . . . . .	148
9.14	Digitale Hydrogel-basierte Mikrofluidik . . . . .	149
10.1	PNIPAAm-co-NA Gele in Kultivierungsmedien . . . . .	152
10.2	Makroskopische Batch-Kultivierung von Algen . . . . .	154
10.3	Verschlussysteme Algenkulturgefäße . . . . .	155
10.4	Vergleich von Kultivierungsbedingungen . . . . .	156
10.5	Mikrofluidisches Kultivierungssystem für Mikroalgen . . . . .	157
10.6	Mikrofluidischen Algenkultivierungskammer . . . . .	158
10.7	Mikroskopische Aufnahme Algenbewegung . . . . .	158
10.8	Prinzipskizze Kultivierungssystem mit Befeuchtung . . . . .	159
10.9	Mikrofluidisches Kultivierungssystem für Hefen . . . . .	159
10.10	Wachstumskurve einer Hefekultur . . . . .	160
12.1	Vollpolymere mikrofluidisches Kultivierungssystem . . . . .	168
12.2	Konzeptskizze Hydrogelspeicher . . . . .	169

# TABELLENVERZEICHNIS

4.1	Verwendete Chemikalien und Materialien. . . . .	43
4.2	Zusammensetzung verwendeter Puffer. . . . .	46
4.3	Zusammensetzung von Algen- und Hefemedien. . . . .	47
4.4	Ansatz thermisch-induzierten Hydrogelpolymerisation . . . . .	48
4.5	Zusammensetzung der Lösungen für UV-induzierte Polymerisation (Comon. = Comonomer). . . . .	49
5.1	Verwendete Comonomere . . . . .	63
5.2	Struktur verwendeter Comonomere . . . . .	65
6.1	$SD_{D_{koop}}$ und $\bar{Q}_m$ PNIPAAm-Homopolymeren . . . . .	85
7.1	Vergleich von Integrationsmethoden für Hydrogelaktoren . . . . .	90
7.2	Präparationsausbeute „FlipChip“ Methode. . . . .	95
7.3	Erzielte Integrationsdichten von Hydrogelaktoren . . . . .	96
7.4	Zeitkonstanten Öffnungs- und Schließvorgang . . . . .	108
9.1	Dimensionen Speicherelemente . . . . .	135
9.2	Vergleich verschiedener Kanalstrukturen und Hydrogelgrößen. . . . .	140



# ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

$\mu$ TAS	Micro Total Analysis System (dt.: Mikrototalanalysestystem)
AAPT	(3-Acrylamidopropyl)trimethylammoniumchlorid
ABTS	2,2'-Azino-di-(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonsäure)
AMPS	2-Acrylamido-2-methylpropansulfonsäure
BIS	<i>N,N'</i> -Methylenbisacrylamid
BS	3-(Acrylamido)phenylboronsäure
bzw.	beziehungsweise
CFD	Computitional Fluid Dynamics (dt.: Numerische Strömungsmechanik)
CVPT	Chemical Volume Phase Transition Transistor
DLS	Dynamische Lichtstreuung
DNA	Deoxyribonucleic Acid (dt.: Desoxyribonukleinsäure)
DFR	Dry Film Resist (dt.: Trockenfilmlack)
EWOD	Electrowetting on Dielectrics (dt.: Elektrobenetzung)
FACS	Fluorescence-Activated Cell Sorting (dt.: Fluoreszenz-unterstützte Durchflusszytometrie)
HEMA	2-Hydroxyethylmethacrylat
HEPES	2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure
IPN	Interpenetrierende Netzwerke

ITO	Indium-Thin-Oxid (dt.: Indium-Zinn-Oxid)
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
KPS	Kaliumpersulfat
LCD	Liquid Crystal Display (dt.: Flüssigkristallanzeige)
LCST	Lower Critical Solution Temperature (dt.: untere kritische Entmischungstemperatur)
LIGA	Lithografie-Galvanik
Loc	Lab-on-a-Chip (dt.: Labor-auf-dem-Chip)
LSI	Large Scale Integration
MEMS	Mikro-Elektro-Mechanische-Systeme
MIS-CVPT	Membrane Isolated Chemical Volume Phase Transition Transistor
mVLSI	Microfluidic Very Large Scale Integration
NA	Natriumacrylat
NIPAAm	<i>N</i> -Isopropylacrylamid
NMR	Nuclear Magnetism Resonance (dt.: Kernspinresonanz)
PBS	Phosphate buffered Saline (dt.: phosphatgepufferte Salzlösung)
PCR	Polymerase Chain Reaction (dt.: Polymerase-Kettenreaktion)
PDMS	Poly(dimethylsiloxan)
PEG	Poly(ethylenglykol)methylethermethacrylat
PET	Polyethylenterephthalat
PHEIC	Public Health Emergency of International Concern
PNIPAAm	Poly( <i>N</i> -Isopropylacrylamid)
PoC	Point-of-Care (dt.: patientennahe)

PTFE	Polytetrafluorethylen
REM	Rasterelektronenmikroskopie
RNA	Ribonucleic Acid (dt.: Ribonukleinsäure)
SD	Standardabweichung
SMD	Surface-mounted device (dt.: oberflächenmontiertes Bauelement)
TEMED	<i>N,N,N',N'</i> -Tetramethylethyldiamin
T <sub>g</sub>	Glasübergangstemperatur
Tris	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
T <sub>VP</sub>	Volumenphasenübergangstemperatur
u.a.	unter anderem
UCST	Upper Critical Solution Temperature (dt.: obere kritische Entmischungstemperatur)
V/V	Volumen/Volumen
UV	Ultraviolett
WHO	World Health Organization
z.B.	zum Beispiel



# SYMBOLVERZEICHNIS

$\epsilon$	Scherrate
$\eta$	Kinematische Viskosität
$\eta$	Dynamische Viskosität
$\lambda$	Wellenlänge
$\Pi_D$	Quelldruck
$\Pi_E$	Elastische Eigenschaften Polymerkette
$\Pi_O$	Osmotischer Druck
$\rho$	Dichte
$\sigma$	Oberflächenspannung
$\tau$	Zeitkonstante
A	Fläche
Ca	Kapillarzahl
$D_{\text{koop}}$	Kooperativer Diffusionskoeffizient
$D_A$	Scheinbarer Diffusionskoeffizient
D	Diffusionskoeffizient
F	Funktionsausbeute
$F_C$	Coriolis-Kraft
$F_E$	Euler-Kraft
$F_Z$	Zentrifugalkraft

G	Gibbs'sche Energie
I	Absorption
J	Teilchenfluss
K	Ausleseeffizienz
L	Charakteristische Dimension
$\bar{M}$	Mittelwert
p	Druck
P	Präparationsausbeute
Pe	Péclet-Zahl
$Q_m$	Massenquellungsgrad
T	Temperatur
v	Strömungsgeschwindigkeit
V	Volumen
$\dot{V}$	Volumenstrom
We	Weber-Zahl
Re	Reynolds-Zahl

# ABSTRACT

The biotechnology is one of the key enabling technologies of the 21<sup>st</sup> century. Due to their potentials in solving the world hunger problem, finding sustainable energy productions or cures for diseases the biotechnology has become one of the most important research areas over the last decades. In the biotechnological research microfluidic systems become more and more important because of their various advantages over conventional systems. Single cell analytic as well as high-throughput drug discovery or tissue engineering are only a few examples for microfluidics in biotechnology. With an increase in the applications also the requirements on the microfluidic systems and their functionalities increase. Normally, active elements like valves are used to solve most of the microfluidic operations, but they are not capable to address all requirements which are needed to fulfil a biotechnological process line.

The presented work attempts to set up microfluidic systems for a biotechnological process line by using micrometre actuators made of stimuli-responsive polymers. Various hydrogel types were investigated regarding their behaviour in different media. Here, it is shown that the gels' chemistry has a strong influence on the media compatibility.

The photolithographic process for actuator micropatterning is optimised and used in a production technique to fabricate high integrated microfluidic system for the cultivation of microorganisms.

For separation tasks of microorganisms or molecules the normally used thermal based concept to adopt hydrogel properties is changed to a chemical concept. This concept is successfully evaluated for a micropore and a molecular sieve based on hydrogels. The usage of hydrogel-based molecular sieves as matrices for (bio-)chemical reactions or as storing elements with a dispensing functionality is discussed.



# ZUSAMMENFASSUNG

Die Gesellschaft des 21. Jahrhunderts steht vor den Herausforderungen der Bekämpfung des Welthungers, der Bereitstellung erneuerbarer Energien und der Behandlung schwerer Erkrankungen. Die Biotechnologie bietet das Potential zur Lösung dieser Probleme einen wesentlichen Beitrag zu leisten. Dabei gewinnen in der biotechnologischen Forschung zunehmend mikrofluidische Systeme an Bedeutung z.B. in der Einzelzellanalytik, den Hochdurchsatz-Untersuchungen oder der Gewebezüchtung. Mit steigendem Einsatzpotential erhöhen sich auch die Anforderungen, welche an die Operationsmöglichkeiten der Systeme gestellt werden. In der Regel kommen aktive Elemente wie Ventile zum Einsatz, welche eine Vielzahl an Operationen ermöglichen, nicht aber eine ganze biotechnologische Prozesskette abdecken können.

In der vorliegenden Arbeit wird der Versuch unternommen, eine biotechnologische Prozesskette mikrofluidisch abzubilden. Dabei werden Mikroaktoren genutzt, welche auf stimuli-sensitiven Hydrogelen basieren. An unterschiedlichen Hydrogelen wird der Einfluss von Prozessmedien und Puffern auf die Eigenschaften der Gele diskutiert. Es zeigt sich eine starke Abhängigkeit der Eigenschaftsänderung von der chemischen Zusammensetzung der Hydrogele.

Um hochintegrierte und reproduzierbar arbeitende Systeme herzustellen, wurde in einem ersten Schritt die Mikrostrukturierung der Hydrogele optimiert und anschließend ein Verfahren zur Fertigung von hochintegrierten mikrofluidischen Batch-Kultivierungssystemen für Mikroalgen und Hefen entwickelt.

Zur Separation von kultivierten Organismen und zur Trennung von Molekülen wird das thermische Steuerkonzept von Hydrogel-basierten Elementen hin zu einer chemischen Steuerung verändert. Der erfolgreiche Einsatz dieser Konzeptänderung wird an einer Mikropore und an Molekularsieben demonstriert. Eine Weiternutzung von Hydrogel-basierten Molekularsieben als auslesbare Molekülspeicher oder Reaktionsmatrizes wird im Rahmen eines neuen mikrofluidischen Elements diskutiert.



# 1 EINLEITUNG, MOTIVATION UND ZIELSTELLUNG

## 1.1 Einleitung

Im Jahr 2014 brach in den westafrikanischen Ländern Guinea, Liberia und Sierra Leone eine Epidemie des hämorrhagischen Fiebers Ebola aus. Am 08.08.2014 erklärte die WHO (World Health Organization) die Ebola-Epidemie zum internationalen Gesundheitsnotfall (Public Health Emergency of International Concern, PHEIC), ein Beleg dafür, dass solche Epidemien nicht nur ein großes Problem für betroffene Regionen darstellen, sondern die ganze Welt betreffen.<sup>[1]</sup>

Von März 2014 bis März 2016 erkrankten nachweislich 28.616 Menschen an diesem Fieber, wobei für 11.310 Infizierte die Krankheit tödlich verlief.<sup>[2]</sup> Erfolgreiche medikamentöse Behandlungen existieren für die meisten hämorrhagischen Fieber bisher nicht. Als präventive Maßnahmen gegen eine Ausbreitung solcher Epidemien, werden Menschen mit auffälligen Symptomen vor der Ausreise aus den betroffenen Gebieten zunächst unter Quarantäne gestellt und auf das Virus getestet. Eine wirksame Quarantäne für hunderte bis tausende Menschen und molekularbiologische Untersuchungen aller Betroffenen stellen u.a. Hilfsorganisationen, aber auch Diagnostik-Laboratorien vor riesige logistische und finanzielle Herausforderungen.

Nachgewiesen werden Ebola-Erkrankungen üblicherweise mittels Methoden der Polymerase-Kettenreaktion (polymerase chain reaction, PCR). Hierbei wird im Blut eines potentiell Infizierten nach der genetischen Erbinformation (Deoxyribonucleic Acid, DNA) des Erregers gesucht. Dieses Verfahren erfordert speziell ausgerüstete Laboratorien, spezielle Nachweisreagenzien und geschultes Personal, weshalb solche Tests in der Regel kostenintensiv und zeitaufwändig sind. Schnelle, einfache und mobile Testverfahren wie der Blutzucker- oder der Schwangerschaftstest sind für die Diagnose von Infektionskrankheiten wie Ebola erstrebenswert. Die Untersuchung auf Krankheitserreger könnten so dezentral vorgenommen werden und würden

Quarantänezeiten verkürzen.

Die Firma Corgenix stellte 2016 den ReEBOV-Test vor, welcher nicht das genetische Material, sondern Proteine des Ebola-Virus nachweist.<sup>[3]</sup> Der Test kommt in der Funktionsweise einem Schwangerschaftstest gleich und ist somit einfach in der Handhabung und mobil einsetzbar. Der größte Vorteil liegt jedoch in seiner Geschwindigkeit. Während ein DNA-Nachweis 12h dauern kann, liegt beim ReEBOV-Test bereits nach 15 min ein Ergebnis vor.

Die Funktionsweise des Tests beruht auf dem Prinzip des seitlichen Flusstests (lateral flow test). Eine Blutprobe des Patienten (lediglich 30  $\mu$ l) wird zunächst auf das Probenpad eines immunochromatografischen Teststreifens pipettiert. Puffer, welcher sich im Teströhrchen befindet, initiiert den Transport der Blutprobe und die Separation des Blutplasmas. Das Antigen VP40 des Ebola-Virus' absorbiert an Nanopartikeln während des Fluidflusses und bildet Antigen-Nanopartikel-Komplexe, welche an einer Antigen-spezifischen Testlinie im Streifen gefangen werden und eine lokale Farbänderung verursachen. Diese Farbänderung gibt schlussendlich Auskunft darüber, ob eine Patient infiziert ist oder nicht. Der Flüssigkeitstransport im Teststreifen erfolgt über den Kapillareffekt, ein Effekt, welcher in einem Teilgebiet der Mikrosystemtechnik häufig zum Transport von Flüssigkeiten Anwendung findet, der Mikrofluidik.

## 1.2 Motivation

Die Mikrofluidik beschäftigt sich mit der Entwicklung und Nutzung von Technologien, welche die Manipulation kleinster Flüssigkeitsvolumina ermöglichen und dabei eine Vielzahl von Vorteilen gegenüber etablierten makrofluidischen Systemen aufweisen. Besonders in den Lebenswissenschaften spielen solche mikrofluidische Systeme zunehmend eine tragende Rolle und ersetzen mitunter „traditionelle“ Technologien wie Well-Plate, Petrischale oder Eppendorf-Tube. Mikrosysteme für den Einsatz in der Biotechnologie oder medizinischen Diagnostik erfordern eine kostengünstige Herstellung. Prädestiniert hierfür sind Produkte aus Polymeren, welche einen wesentlichen Aspekt medizintechnischer Produkte, die „Einmalnutzung“, gewährleisten.

Hervorzuheben sind Systeme, die über Funktionalitäten verfügen welche über die Eigenschaften passiver Kanalstrukturen hinaus reichen. Soll z.B. eine biotechnologische Prozesskette realisiert werden, sind aktive (oder steuerbare) Elemente unumgänglich. Filtereinheiten, Biomarker-Harvester, parallele Batch-

Kultivierung und die Steuerung des Fluidflusses sind Beispiele für Abläufe in einem biotechnologischen Prozess, welche allerdings die bloße Nutzung von Ventilen überschreiten. Es werden somit Plattformtechnologien notwendig, welche eine in sich geschlossene Herstellungstechnologie aufweisen, eine Vielzahl an verschiedenen Funktionalitäten und Fluidoperationen ermöglichen und darüber hinaus skalierbar und kostengünstig in ihrer Herstellung sind.

Stimuli-sensitiven Hydrogele ermöglichen die Entwicklung solcher multilateralen Plattformtechnologien. Durch den Einsatz dieser Materialien können aktiv steuerbare Komponenten gefertigt werden, welche über externe oder interne Kontrollmechanismen adressierbar sind. Die Vielfalt der realisierbaren Bauelemente, die Möglichkeit der funktionellen und technischen Skalierbarkeit sowie die einfache und kostengünstige Herstellung machen Hydrogel-basierte Bauelemente und Systeme zu einer unglaublich vielseitigen und mächtigen mikrofluidischen Plattformtechnologie, welche es stetig weiterzuentwickeln gilt. Die Etablierung bestehender Elemente, die Erstellung von Fertigungstechnologien und neuartigen Systemansätzen sowie die Erprobung in biotechnologischen Prozessen sind aktuelle und zukünftige Entwicklungsschritte.

## 1.3 Zielstellung

Die vorliegende Arbeit hat zum Ziel, Elemente und Systeme darzustellen, welche für den Einsatz in einer mikrofluidisch abgebildeten biotechnischen Prozesskette geeignet sind. Die Abschnitte der Prozesskette umfassen dabei die Kultivierung, die Separation und die Analytik.

Das zentrale Element der Systeme bilden stimuli-sensitive Hydrogele. Entscheidend für eine mögliche Anwendung sind zunächst die Untersuchung der Hydrogele bezüglich ihrer chemischen Zusammensetzung, Kompatibilität zu relevanten Prozessmedien (Puffer), Steuergrößen (organische Lösungsmittel, Temperatur, Zucker) und Miniaturisierbarkeit und Reproduzierbarkeit. In der Arbeit werden zunächst Hydrogele unterschiedlicher Zusammensetzung untersucht und Schlussfolgerungen bezüglich der Prozesskompatibilitäten gezogen.

Einen wesentlichen Bestandteil biotechnologischer Prozessketten bildet die Kultivierung von Mikroorganismen. Dafür sind Kultivierungssysteme notwendig, welche die parallele Kultivierung von mehreren, voneinander separierten Organismen erlauben (Batch-Kultivierung). Für solch parallel arbeitende Systeme sind mikrofluidische Chips mit hochintegrierten aktiven Elementen notwendig, für die

es eine Fertigungstechnologie zu entwickelt gilt.

Nach der Kultivierung von Mikroorganismen erfolgt in der Regel eine biochemische Charakterisierung entweder der Organismen selbst oder des verbleibenden Mediums. In beiden Fällen müssen die Organismen zunächst von der Matrix bzw. dem Medium abgetrennt werden. Dies kann mikrofluidisch über Siebe erfolgen. Um den Herstellungsaufwand der Systeme gering und deren Effizienz hoch zu halten, sind Siebstrukturen mit einer variablen Siebweite zu entwickeln. Im Anschluss an die Separation müssen für die Charakterisierung wichtige Biomoleküle (Biomarker) isoliert und vor Degradation geschützt werden. Dafür sind Hydrogele zu etablieren, welche über adaptierbare Filterfunktionen verfügen und eine weiterführende Nutzung als Reaktionsmatrix oder auslesbare Molekülspeicher erlauben.