



# Mit Tröpfchen Spielen

## Modulare Tröpfchen-basierte Mikrofluidik mit Sensorpartikeln

Jérémy Bell<sup>1</sup>, Kornelia Gawlitzka<sup>1</sup>, Knut Rurack<sup>1</sup>

**M**ikrofluidische Systeme sind leistungsstarke analytische Tools mit attraktiven Eigenschaften wie miniaturisierter Größe, geringem Reagenzien- und Probenverbrauch, schneller Ansprech- und kurzer Messzeit. Der Bedarf solcher leistungsstarken, miniaturisierten und direkt vor Ort anwendbaren Sensorsysteme steigt kontinuierlich, hauptsächlich durch das Bedürfnis der Gesellschaft, schneller, besser und umfassender über kritische Faktoren im Lebens- und Arbeitsumfeld sowie der Umwelt informiert zu sein.

Die Mikrofluidik ist eines der vielversprechendsten Formate für die Vor-Ort-Analytik flüssiger Proben, ob in der Umweltüberwachung, der Gefahrenabwehr, der Prozesskontrolle oder der medizinischen Diagnostik. Obwohl in den letzten zwei Jahrzehnten eine enorme Entwicklung in Bezug auf Miniaturisierung und Integration analytischer Methoden stattgefunden hat, ist eine Fülle von Synergismen aus der Kombination empfindlicher optischer Detektion, vor allem Fluoreszenz, mit sensorisch leistungsstarken Indikatorpartikeln und den Adaptionmöglichkeiten miniaturisierter analytischer Systeme zu erwarten. Die Komplexität der Infrastruktur, die für die Entwicklung und

das Testen individuell angepasster Mikrofluidik-Chips notwendig ist, hat allerdings bislang zu keiner breiten Akzeptanz dieser Technologie auch auf industrieller Ebene geführt. Neben den klassischen Mikrofluidik-Chips gibt es alternative Ansätze mit modularen Schlauchsystemen, die sogenannte 3D-Mikrofluidik, die sich durch eine hohe Flexibilität sowie einfache Handhabung und Komponentenintegration auszeichnen. Unter Verwendung von „Off-the-shelf“-Komponenten können solche kostengünstigen Systeme nicht nur für Anwendungen mit einer flüssigen Phase, sondern auch für

Tröpfchen-basierte Flüssig-flüssig-Extraktionssysteme eingesetzt werden.

### Modulare „Off-the-shelf“-Mikrofluidik

Typischerweise werden mikrofluidische Systeme in monolithischer Form mittels Mikrofertigungstechnik bzw. zunehmend auch mittels additiver Fertigung hergestellt. Der Wunsch, die Mikrofluidik leichter zugänglich zu machen, hat zur Entwicklung der „modularen Mikrofluidik“ geführt, bei der ein fluidisches System aus einem Baukasten einzelner Kom-

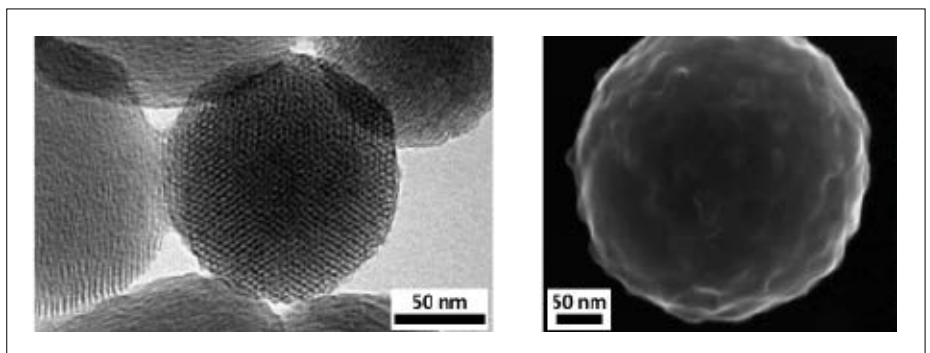


Abb. 1: Im mikrofluidischen Chip eingesetzte Sensorpartikel: a) MSNs vom Typ MCM-41 und b) SiO<sub>2</sub>-Kern/MIP-Schale-Mikropartikel.

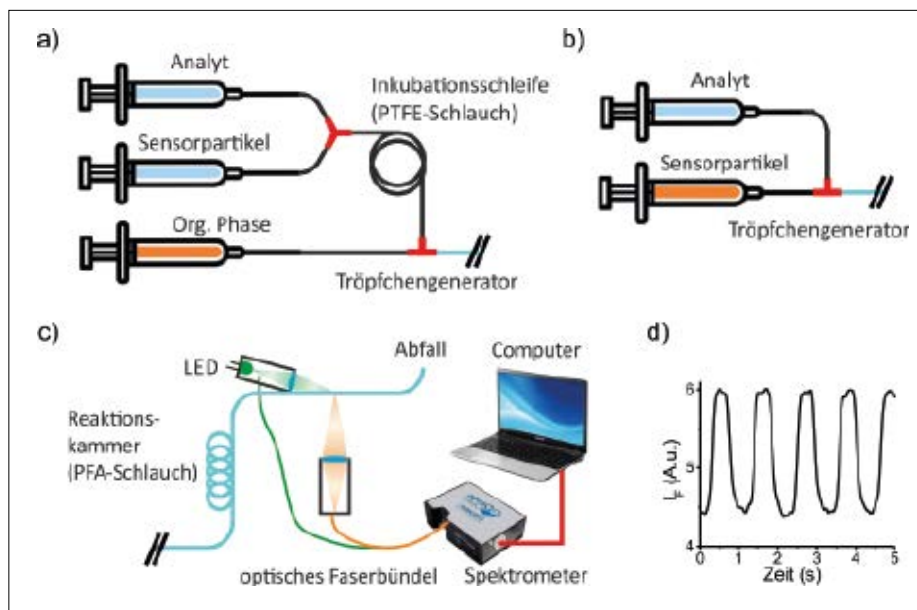


Abb. 2: Schema des auf PTFE- und PFA-Schläuchen basierenden, modularen mikrofluidischen Systems. Aufbau bis zur Tröpfchenerzeugung für a) gesteuertes Indikatorfreisetzungssystem für den  $\text{Hg}^{2+}$ -Nachweis und b)  $\text{SiO}_2$ -Kern/MIP-Schale-Partikel für den 2,4-D-Nachweis. c) Reaktionskammer und optischer Detektionsaufbau für die Fluoreszenzanalyse der Tropfen. d) Typisches, mit einem Spektrometer gemessenes Fluoreszenzsignal von einzelnen Tröpfchen.

ponenten beliebig zusammengesetzt werden kann [1,2]. Dieser Ansatz ist vergleichbar mit dem diskreten Design von Steckplatinen in der Elektronikindustrie, die häufig schneller auf den Markt gebracht werden können als anwendungsspezifisch integrierte Schaltungen (ASIC). Die Verwendung von Standardkomponenten bzw. kommerziell erhältlichen Anschlussstücken ermöglicht dabei den Aufbau großer 3D-Mikrofluidik-Systeme, die modular, vielseitig und durch einfache Netzwerkanalyseverfahren berechenbar sind. Ein modularer Ansatz zum Bau eines Tröpfchenbasierten Systems würde beispielsweise vier Designschritte beinhalten, für Tröpfchengenerator, Mischkammer, Reservoir/Reaktionskammern und Modul zur optischen Abfrage.

#### Schlauchsysteme zum Arbeiten mit Tröpfchen

Aufgrund der für die Spurenanalyse benötigten Signalintensität ist eine Homogenität der Tröpfchen bezogen auf Volumen, Frequenz und Stabilität unabdingbar. Daher wurde für den fluorometrischen Sensor ein modularer Aufbau aus PTFE-(Polytetrafluorethylen) und PFA-(Perfluoroalkoxyalkan) Schläuchen, die Durchmesser im Mikrometerbereich haben und durch Mikrostecker verbunden sind, gewählt. Dieses flexible Design ermöglicht die Verwendung mehrerer Einlässe oder zweiphasiger "Stop-Flow"-Aufbauten, wodurch sensorische Partikel maßgeschneidert integriert werden können.

Wie bei konventionellen Mikrofluidik-Chips konnten stabile und homogene Wassertröpfchen in einem kommerziellen Mikro-T-Stück durch Scherkräfte und Grenzflächenspannungen an der Flüssig-Flüssig-Grenzfläche erzeugt werden. Die organische Trägerphase, die eine geringere Grenzflächenspannung gegenüber den Kanalwänden aufweist, wird dabei parallel, die wässrige Phase senkrecht zum Auslass injiziert. In Abhängigkeit von den Flussraten können so Tröpfchen mit einer Frequenz von 0.5 bis 1.5 Hz und Volumina zwischen 25 und 300 nL generiert werden.

Durchmischung, Reaktion und/oder Extraktion wird anschließend durch chaotische Advektion erzeugt, indem der PFA-Schlauch am Auslass um eine Metallstange gewickelt wird. Eine Optimierung des Fluidik-Systems ist dabei durch die Modularität des Schlauchsystems sehr einfach. Soll die Flussrate halbiert werden, müssen lediglich die Schläuche z. B. mit einer Schere gekürzt werden, was deutlich einfacher ist, als einen neuen Chip herzustellen. Die einfache Anpassung der Schlauchlängen ist im Normalfall ausreichend, um quantitative Reaktion oder Extraktion zu erreichen. Zusätzlich sorgen die inerten PTFE-PFA-Wände der Schläuche für ideale Bedingungen, um auch ohne regelmäßige Spülvorgänge reproduzierbare Experimente ohne Memory-Effekte durchführen zu können. Neben der Flexibilität haben die PFA-Schläuche auch den Vorteil, dass sie transparent sind und so die Möglichkeit zur direkten Messung von Fluoreszenzsignalen bieten.

### Integration fluoreszierender Sensorpartikel

Der oben skizzierte Ansatz konnte für zwei unterschiedliche fluoreszierende Sensorpartikel realisiert werden. Hierbei handelt es sich um 0,4 µm-große Silikat-Kernpartikel, die eine 5 nm-dünne molekular geprägte Polymerschale (MIP) tragen, die das Anbinden des Pestizids 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D) durch einen Fluoreszenzanstieg anzeigt [3], sowie um ein gesteuertes Indikator-Freisetzungssystem für den Hg<sup>2+</sup> Spurennachweis in Trinkwasser, der auf mesoporösen Silikat-Nanopartikeln (MSN) basiert [4].

Die SiO<sub>2</sub>-Kern/MIP-Schale-Partikel enthalten ein fluoreszierendes Monomer, welches direkt in die MIP-Schale polymerisiert ist und beim Anbinden von 2,4-D aufleuchtet. Diese Partikel werden in der organischen Phase eingesetzt, so dass der Analyt aus der wässrigen Phase extrahiert und in der organischen Phase detektiert werden kann. Der Einsatz eines T-förmigen Mikrotropfengenerators erlaubt dabei die Erzeugung homogener Wassertröpfchen in der Chloroform-Trägerflüssigkeit ohne spezielle Probenvorbereitung; Extraktion und Detektion können so innerhalb von 100 s durchgeführt werden.

Das gesteuerte Indikator-Freisetzungssystem besteht aus MSN-Partikeln, deren Poren mit einem Farbstoff beladen und danach durch ein Fängermolekül, welches selektiv mit Hg<sup>2+</sup> reagiert, verschlossen werden. Hier werden die Partikel in der wässrigen Phase eingesetzt. In Anwesenheit von Hg<sup>2+</sup> werden die Poren geöffnet, der Farbstoff in die wässrige Phase freigesetzt und anschließend in die organische Phase extrahiert. Dementsprechend ist ein Inkubationsschritt in der organischen Phase vor der Tröpfchenbildung wichtig, was durch Einsatz eines Schlauches mit passender Länge erreicht wurde. Die wässrige Probe und die Partikellösung werden mit Hilfe eines Y-Stückes in eine Inkubationsschleife injiziert, um dort für 100 s zu verweilen. Anschließend werden homogene Wassertröpfchen in der Dichlormethan-Trägerflüssigkeit im T-förmigen Mikrotropfengenerator erzeugt und der quantitative Phasentransfer des Farbstoffes innerhalb von ca. 8 min durchgeführt.

### Analytisches Gerät

Die Fluoreszenzdetektion bedingt den Einsatz eines modularen optischen Aufbaus, welcher auf einem optomechanischen Würfel basiert. Durch die Verwendung von Schläuchen ist der Winkel zwischen Anregungs- und Emissionslicht frei wählbar, wodurch der für eine optimale Streulichtunter-

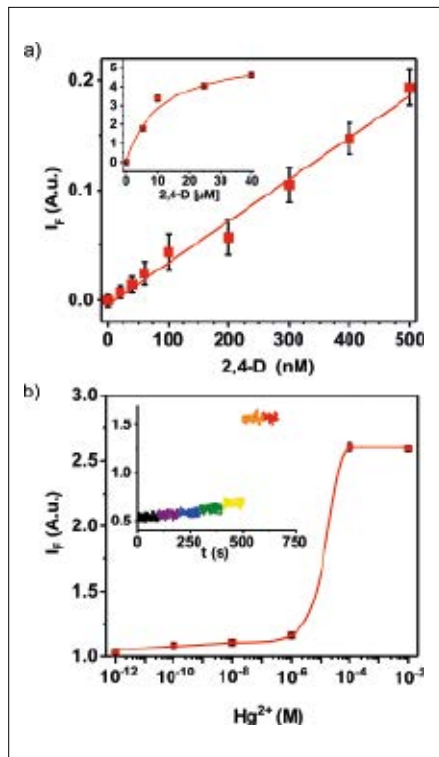


Abb. 3: Kalibrierkurven für steigende Konzentrationen von 2,4-D (a) und Hg<sup>2+</sup> (b) in Wasser, aufgenommen mit einem kombinierten System aus modularer Mikrofluidik und Sensorpartikeln.

drückung am besten geeignete Winkel von 90° eingesetzt werden kann. In herkömmlichen Mikrofluidik-Chips ist dabei nicht nur ein 90°-Winkels schwer zu realisieren, sondern die 3D-Mikrofluidik bietet auch wesentlich mehr Flexibilität in Bezug auf die Positionen der LED-Anregungslichtquelle und der Detektionsoptiken.

Um das Signal-Rausch-Verhältnis zu verbessern, wurde ein Bandpassfilter zwischen LED und Linse, die den Strahl auf den Schlauch fokussiert, positioniert. Das Emissionslicht wird durch ein Bündel von sechs optischen Fasern fokussiert und über einen Bandpassfilter in ein USB-Spektrometer geleitet. Je nach eingesetztem Sensorsystem können nach Signalerfassung die Fluoreszenzintensitäten der organischen Phase mit Kern-Schale-MIP-Partikeln oder freigesetztem Farbstoff durch Datenverarbeitung unter Verwendung logischer Gleichungen extrahiert werden. Die zusätzliche Trennung der Signale der organischen und wässrigen Phase ermöglicht sowohl die Identifizierung also auch die Entfernung von Ausreißern, die

beispielsweise durch Bläschenbildung oder Partikelaggregate auftreten können.

Für beide vorgestellten Sensorsysteme liefert der entwickelte Aufbau gute Ergebnisse mit akzeptablen Standardabweichungen von 0,5-1% für Fluoreszenzmessungen bei einer Messzeit von 100 s. Es können Konzentrationen an 2,4-D bzw. Hg<sup>2+</sup> bis zu 20 nM bzw. 0.1 nM detektiert werden, wobei eine Linearität bis in den mikromolaren Konzentrationsbereich gegeben ist. Somit können die Anforderungen, die durch Gesundheits- und Umweltoorganisationen (EU, WHO, EPA) für Grund- und Trinkwasser gestellt werden, überwacht werden [5-7].

### Ausblick

Für ein kommerzielles Gerät für die Echtzeitanalytik im Feld könnten die elektronischen und mikrofluidischen Komponenten weiter integriert und miniaturisiert werden, indem beispielsweise das Spektrometer durch Photodioden, die computerintegrierte durch eine bordeigene Datenverarbeitung sowie die Spritzenpumpen zur Probeninjektion durch einen Bypass einer Entwässerungsanlage oder eines anderen Wassermanagementsystems oder potenziell kontaminiertem AQUIFERS ersetzt werden.

Durch die Modularität der vorgestellten Plattform sowohl in Hinblick auf die Mikrofluidik als auch die Sensorpartikel birgt dieses flexible System ein enormes Potential für die Entwicklung integrierter chemischer Sensoren zur Überwachung einer großen Anzahl wichtiger chemischer Analyten in flüssigen Proben, ob von Einzelstoffen oder gleichzeitig von mehreren Analyten („Multiplexing“), nicht nur im Bereich Umwelt, sondern auch in Pharmazie, Lebensmittelchemie, Biochemie oder Medizin.

### Zugehörigkeit

<sup>1</sup>Fachbereich 1.9 Chemische und optische Sensorik, Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (BAM), Berlin, Deutschland

### KONTAKT |

#### Dr. Knut Rurack

Leiter des Fachbereichs 1.9 Chemische und optische Sensorik, Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (BAM), Berlin, Deutschland  
knut.rurack@bam.de  
www.bam.de



Chemgapedia-Artikel zur Sensorik:  
<http://bit.ly/GIT-Sensorik>



Referenzen:  
<http://bit.ly/GIT-Rurack>