

# Mikrofluidik mit komplexen Flüssigkeiten

Die Mikrofluidik erlaubt es, kleinste Mengen an DNS und anderen Biomolekülen zu analysieren.

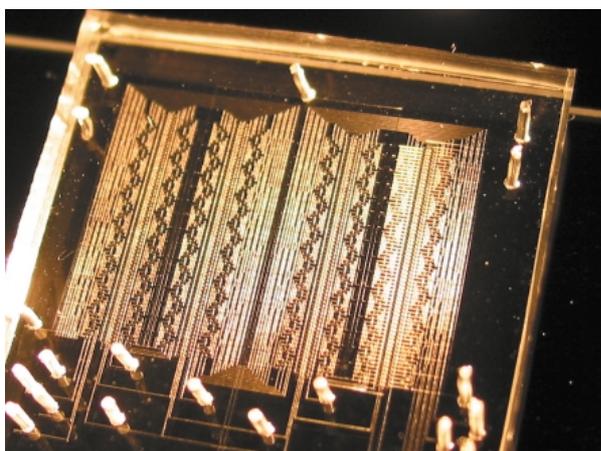
Thomas Pfohl und Stephan Herminghaus

**Die großen Fortschritte in der Biomedizin und Bioanalytik der letzten Jahre, zu denen auch die Entschlüsselung des menschlichen Genoms gehört, sind die „Antriebsmotoren“ einer fortschreitenden Miniaturisierung von Flüssigkeitssystemen, die zur Entwicklung kompletter Analysensysteme auf Chipgröße geführt hat. Diese „Mikrolabors“ erlauben es, kleinste Flüssigkeitsmengen rasch und effizient zu analysieren.**

Das dynamische Verhalten mikroskopisch kleiner Strukturen bestimmt in sehr vielen Aspekten unser Alltagsleben. Waren es bis vor kurzem noch ausschließlich elektronische Bauteile, die mehr und mehr miniaturisiert wurden und somit den Aufschwung der modernen Informationstechnologie möglich machten, wird das Konzept der Integration hochkomplexer Systeme bereits seit einiger Zeit auf mechanische und fluide Systeme erweitert. Vor allem die Manipulation kleinster Flüssigkeitsmengen (im Nanoliter- und Pikoliter-Bereich) auf chemisch wie auch auf topographisch mikrostrukturierten Oberflächen hat aufgrund ihres großen Anwendungspotenzials in der Biotechnologie weites Interesse erweckt und in kürzester Zeit neue Forschungszweige erschlossen. Zu deren Zielen gehört neben der Entwicklung neuer technologischer Konzepte auch ein detailliertes Verständnis der Fluidynamik und des molekularen Transportes in Mikro- und Nanostrukturen. Die Fortschritte in der Mikrofluidik ermöglichen zudem neuartige Experimente zu grundlegenden Fragen in der Biologie, der Physikalischen Chemie und in den Materialwissenschaften.

Zu den Aufgaben von miniaturisierten Flüssigkeitssystemen gehört etwa die Vervielfältigung, Auftrennung und Analyse von Sequenzen der Desoxyribonukleinsäure (DNS), z. B. bei der Bestimmung „genetischer Fingerabdrücke“, oder das Aussortieren und Analysieren einzelner kranker Zellen, um bestimmte Erkrankungen in sehr frühen Stadien zu diagnostizieren. Auch die Analyse der Genfunktionen („strukturelle Genomik“ [1]) stellt für eine Ära nach den Genomsequenzierungen Anforderungen, die sich nur mithilfe der Mikrofluidik erfüllen lassen: rasche und effiziente Analyse von Strukturen und Funktionen bei minimalen Substanzmengen.

Wegen des breiten Spektrums der hierbei noch offenen Fragen hat sich die Mikrofluidik rasch zu einem interdisziplinären Forschungsgebiet entwickelt, an dem



Dieser Mikrofluidik-Chip enthält auf knapp sieben Quadratzentimetern Fläche 2056 integrierte Mikroröhrchen. Der Chip erlaubt das paarweise Mischen von Flüssigkeiten in 512 Kammern, die einzeln ansteuerbar sind. (Foto: S. Maerkl, Caltech)

die Fächer Physik, Chemie, Material- und Ingenieurwissenschaften gleichermaßen beteiligt sind. Neben der Entwicklung neuer Materialien für mikrofluidische Anwendungen sowie neuartiger miniaturisierter Systembauteile steht vor allem das Verständnis des Flusses in solchen Mikrosystemen im Vordergrund. So lassen sich z. B. die in biotechnologischen Anwendungsgebieten relevanten Flüssigkeiten nicht als „einfache Flüssigkeiten“ betrachten. Meist handelt es sich um wässrige Lösungen langkettiger Makromoleküle wie DNS oder Proteinen, deren typische molekulare Abmessungen durchaus den Kanalbreiten des Mikroflusssystems vergleichbar sein können. Da sich die dynamischen Eigenschaften größerer Kettenmoleküle in einschränkenden Geometrien stark von denen im Volumen unterscheiden, kommt man deshalb um ein detailliertes Verständnis der Strömungsdynamik und des molekularen Transportes in Mikro- und Nanostrukturen nicht herum.

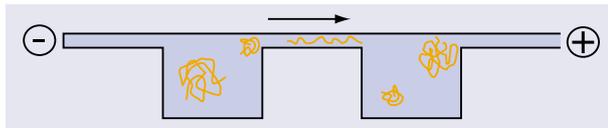
Die Implikationen eines solchen Verständnisses gehen allerdings weit über technologische Aspekte hinaus: Alles, was in lebenden Zellen abläuft, etwa der intrazelluläre Materialtransport durch das Proteinnetzwerk des Zellskeletts, letztlich alle biologischen Prozesse, involvieren mehr oder weniger stark das Fließen komplexer Flüssigkeiten in Geometrien, deren charakteristische Längenskala der Größe der transportierten Moleküle vergleichbar ist. Somit ist klar, dass wir in der hier gegebenen Kürze nur eine Auswahl von Beispielen aus diesem weiten Themenbereich ansprechen können, die zwar nicht vollständig sein, aber doch die Vielfalt der Aktivitäten illustrieren kann. Im Folgenden werden zuerst anwendungsnahe Beispiele der Mikro-

Dr. Thomas Pfohl  
und Prof. Dr.  
Stephan Herminghaus,  
Angewandte Physik,  
Universität Ulm,  
Albert-Einstein-Allee 11,  
89069 Ulm

fluidik in der Biotechnologie vorgestellt. Danach diskutieren wir Aspekte der Technologie mikrofluidischer Bauteile, das Verhalten komplexer Flüssigkeiten in Mikrosystemen sowie einige Untersuchungen im Bereich der biophysikalischen Grundlagenforschung.

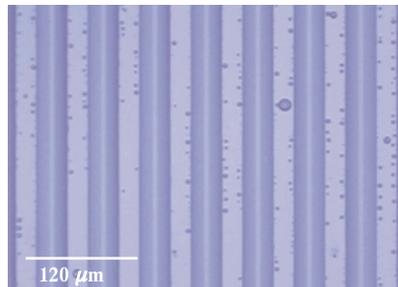
### Mikrofluidiksysteme in der Biotechnologie

Die fortschreitende Miniaturisierung von Flusssystemen in der Biotechnologie und Bioanalytik wird nicht nur durch die Reduzierung des Probenvolumens auf Nano- und Pikoliter angetrieben, sondern auch durch die deutlich verbesserten Trennleistungen, die kürzeren Analysezeiten und die höheren Nachweissensitivitäten für einzelne Substanzen, die eine Miniaturisierung mit sich bringt. Integrierte Mikrofluidikbauteile mit Pum-



**Abb. 1:** Die elektrokinetische DNS-Trennung in einem lithographisch mikrostrukturierten Kanal beruht darauf, dass es Molekülen je nach Länge unterschiedlich schwer fällt, die flachen Kanalbereiche zu durchqueren [1].

**Abb. 2:** Wasser schlägt sich auf einem streifenweise hydrophilen Substrat ( $MgF_2$ -Streifen auf dem Silikonelastomer PDMS) nieder und arrangiert sich in parallelen „Kanälen“.



pen, Ventilen, Trennsäulen und Detektoren folgen dem Konzept der sog. „totalen Analysen-Systeme“ (total (chemical) analysis systems, TAS, [2]). Idealerweise sind alle Schritte der Analyse auf einem integrierten Bauteil verwirklicht ( $\mu$ -TAS, „Lab on a chip“). Die Schritte beinhalten das Sammeln und die Vorbearbeitung der Proben, (bio)-chemische Reaktionen, die Trennung der Stoffe und deren analytischer Nachweis. Dieses Konzept wurde beispielsweise an einem Nanoliter-DNS-Analysensystem zur Vervielfältigung, Auftrennung und Nachweis von DNS-Sequenzen eindrucksvoll verwirklicht [3]. Das 47mm×5mm×1mm große Bauteil besteht aus photolithographisch hergestellten Flüssigkeitskanälen, Heizern, Temperatursensoren und Fluoreszenzdetektoren. Mit diesem Analysensystem werden die Probenvolumina einer wässrigen Enzym-Lösung und einer DNS-haltigen Lösung zunächst genau vermessen. Nach dem Zusammenmischen der beiden Lösungen vervielfältigt eine kontrollierte thermische Reaktion bestimmte DNS-Sequenzen oder baut sie ab. Anschließend werden die Reaktionsprodukte auf ein chromatographisches Gel gegeben. Durch Anlegen einer Spannung werden die (elektrisch geladenen) Moleküle durch das Gel hindurchgezogen (= Elektrophorese), wobei sie sich aufgrund der verschachtelten inneren Morphologie des Gels größenabhängig trennen. Moleküle gleicher Molmasse sammeln sich jeweils in einer sog. „Bande“. Bei fluoreszenzmarkierten Molekülen äußert sich diese in einem leuchtenden Streifen auf dem Gel, der optisch nachgewiesen werden kann. Alle Komponenten mit Ausnahme der Lichtquelle, den Druckluftanschlüssen und des Kontrollschaltkreises lassen sich auf diesem Chip unterbringen.

Nun hat man es in der Biochemie oft mit besonders großen Molekülen zu tun, die durch die üblichen

### Weiche Lithographie

Unter „weicher Lithographie“ versteht man eine ganze Klasse von Techniken, die zur Mikrostrukturierung polymerer Materialien verwendet werden. Organische Polymere bieten für die Herstellung von Mikrofluidiksystemen eine sowohl in der Biotechnologie als auch im Labor kostengünstige Alternative zu Bauteilen aus Silizium und Glas. Diese Fabrikationsmethode basiert auf dem Drucken und Verschmelzen von elastischen Polymeren. Das Silikonelastomer PDMS (quervernetztes Polydimethylsiloxan) wird besonders häufig verwendet wegen seiner vorteilhaften Eigenschaften: Es ist preisgünstig, vergleichsweise un-

giftig, chemisch inaktiv und mechanisch flexibel. Das Versiegeln mit einem Glas-, Silizium- oder auch einem weiteren PDMS-Substrat lässt sich durch die Oxidation der PDMS-Oberfläche erreichen: Diese wird reaktiv und führt bei Kontakt spontan zu einer mechanisch stabilen Verbindung.

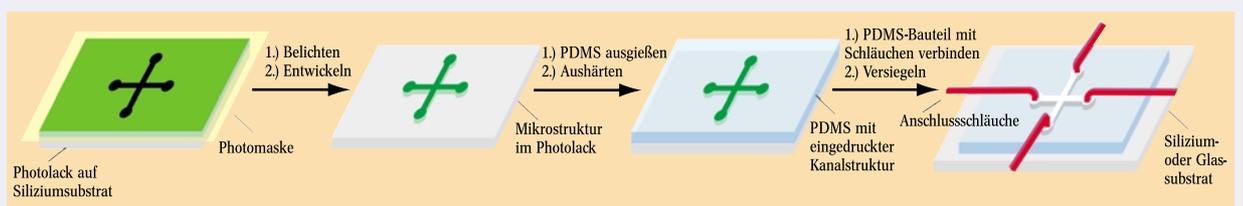
Die Abbildung zeigt die typischen Präparationsschritte bei der Herstellung eines Mikrofluidikbauteils aus PDMS. Mit Hilfe von Photolithographie wird eine Reliefstruktur auf ein mit herkömmlichem Photolack beschichtetes Silizium- oder Glassubstrat aufgebracht. Zur Herstellung der PDMS-Abgüsse können die Photo-

lackstrukturen direkt als Abgussmaske verwendet werden. Diese wird im nächsten Schritt mit dem noch unvernetzten PDMS ausgegossen, letzteres dann gehärtet. Mit einer Maske lassen sich dabei mehrere Abgüsse herstellen.

Nach dem Ablösen des PDMS-Abgusses wird dieser mit Versorgungsschläuchen versehen. Mit einem Sauerstoffplasma wird die Oberfläche des PDMS-Abgusses oxidiert und zum Abdichten mit Glas, Silizium oder einem weiteren PDMS-Bauteil in Kontakt gebracht. Ein so abgedichtetes Bauteil hält Drücken von 5–10 bar stand.

Auf die gleiche Weise lassen sich Mikrostampel aus

PDMS herstellen, mit deren Hilfe chemisch reaktive Substanzen auf ebene Oberflächen in strukturierter Weise aufgestempelt werden können. Diese Substanzen (z. B. Thiolverbindungen für Metalloberflächen, Chlorsilane für Glas und Silizium) bilden dann chemisch gebundene monomolekulare Schichten, die die chemischen Eigenschaften und die Benetzbarkeit der Oberfläche lokal verändern. Durch die Kombination von topographischer Strukturierung und Mikrostampeln lassen sich Flüssigkeiten sehr gezielt manipulieren.



Elektrophorese-Gele nur schwer hindurchpassen. Ein Ausweg besteht darin, anstelle des Gels eine künstliche Struktur auf entsprechend größerer Skala zu verwenden. In der Tat gelang es, DNS-Moleküle mit hohen Molekulargewichten durch ein lithographisch mikrostrukturiertes Kanalsystem auch ohne Elektrophorese-Gel größenabhängig zu trennen [4]. Dieser Elektrophorese-Kanal besteht abwechselnd aus tieferen und weniger tiefen Bereichen (Abb. 1), letztere sind nur ca. 100 nm hoch. Dies ist weniger als die typische Ausdehnung der wahrscheinlichsten Struktur des DNS-Makromoleküls in Lösung, einem ungeordnetem Knäuel. Der Übergang zwischen den tiefen und den flachen Kanalbereichen fällt verschieden langen Molekülen daher unterschiedlich schwer, sodass auch hier die Driftgeschwindigkeit im Elektrophoresefeld vom Molekulargewicht abhängt. Dieses neuartige Mikroelektrophorese-System wurde auf einem 15 mm langen Bauteil verwirklicht und zeigt sogar eine zehnfach schnellere Auftrennung als die herkömmlicher Standard-Gel-Elektrophorese. Darüber hinaus entfällt die Befüllung der Chips mit dem Elektrophorese-Gel, die zusätzliche und recht aufwändige Prozessschritte erfordert.

### Technologische Aspekte

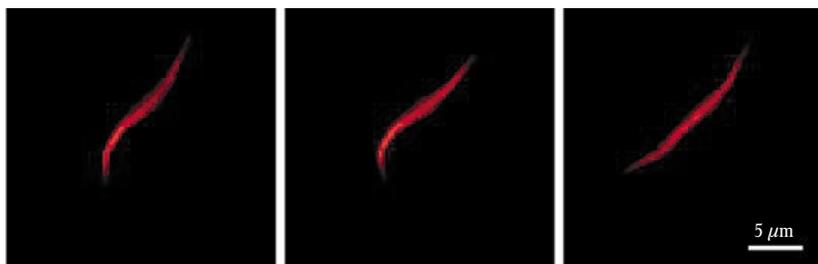
Auch bei der Entwicklung und Herstellung von Mikrofluidiksystemen werden inzwischen eine Fülle verschiedener Konzepte angewandt. Während die ersten mikrofluidischen Bauteile aus Silizium oder Glas mit herkömmlichen, aus der Mikroelektronik entlehnten Methoden (Photolithographie mit anschließendem trockenen oder nassen Ätzen) hergestellt wurden, kommen nun immer öfter Kunststoffbauteile zum Einsatz. Mit der sogenannten weichen Lithographie steht eine neuartige, auch leicht im Labor durchführbare Methode zur Herstellung von Prototypen und speziellen Mikrofluidiksystemen zur Verfügung [5]. Hierbei handelt es sich um eine ganze Klasse von Verfahren, die die Herstellung dreidimensionaler Kanalnetzwerke gestattet, mit aus elastischen Materialien bestehenden Pumpen und Ventilen (siehe Infokasten „Weiche Lithographie“) [6].

Zudem kann man mit dieser Technik auch Mikrostampel (meist aus Silikonummi) herstellen, mit deren Hilfe sich glatte Oberflächen in mikrostrukturierter Weise chemisch modifizieren lassen. Hierzu wird der Stempel mit einer reaktiven „Tinte“ imprägniert, die nach dem Druck eine chemische Bindung mit der Unterlage eingeht. Für den Druck auf Metalloberflächen eignet sich zum Beispiel eine Lösung von Alkanthiolen in einem organischen Lösungsmittel. Die Thiolgruppe (-SH) bindet an das Metall und bildet so eine feste molekulare Monoschicht, die die Metalloberfläche hydrophob macht.

Derart chemisch strukturierte Oberflächen erlauben die Kontrolle von Flüssigkeiten auch ganz ohne topographische Struktur. Abb. 2 zeigt Wasser, das sich auf einem streifenweise hydrophilen Substrat niederschlagen und sich dementsprechend von selbst in parallelen „Kanälen“ arrangiert hat [7]. Flache Oberflächen haben den Vorteil, dass es keine durch Staubpartikel etc. verstopften Kanäle geben kann. Fremdkörper lassen sich einfach abwaschen. Allerdings geht mit den freien Flüssigkeitsoberflächen auch ein Problem einher: Aufgrund der Oberflächenspannung sind nämlich nur solche Flächen stabil, deren Krümmung überall denselben Wert hat. So sind beispielsweise zwei un-

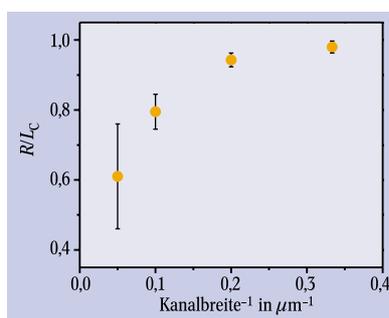
terschiedlich große Tropfen, die über eine Flüssigkeitsbrücke in Verbindung stehen, nicht stabil: Der größere Tropfen „frisst“ immer den kleineren. Zudem muss die zweite Variation der Gesamtoberfläche nach der Flächenform positiv sein, sonst treten dynamische Instabilitäten auf.

Hier ist jedoch eine interessante Lösung in Sicht, die unter dem Begriff „Elektrobenetzung“ bekannt ist (siehe Infokasten „Elektrobenetzung“). Nicht nur lassen sich durch Anlegen geeigneter elektrischer Felder die Kontaktwinkel der Flüssigkeit am Substrat gezielt beeinflussen. Jüngst gelang es auch zu zeigen, dass die elektrischen Felder an der Flüssigkeitsoberfläche zur Stabilisierung einer großen Klasse von Oberflächenformen führen, deren Krümmung alles andere als räumlich konstant ist (z. B. kleine Tröpfchen in Kontakt mit großem Tropfen) [8].

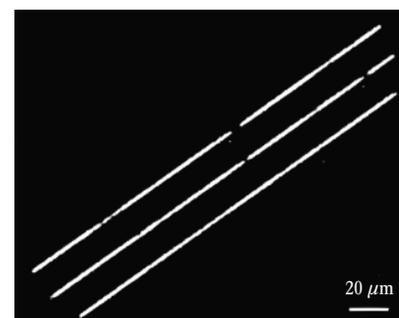


**Abb. 3:** Fluktuieren eines einzelnen Aktin-Filaments im zellenfreien Medium. Diese

fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen sind im Abstand von 5 s entstanden.



**Abb. 4:** Einfluss geometrischer Einschränkung auf die mittlere Verstreckung einzelner Aktin-Filamente: mit Abnahme der Kanalbreite werden die Filamente im Mittel weiter verstreckt, d. h. das Verhältnis des End-zu-End-Abstands ( $R$ ) zur Konturlänge ( $L_c$ ) wird größer und nähert sich dem Wert 1 an.



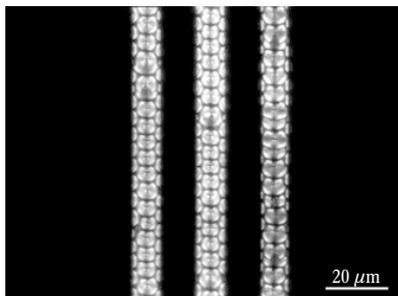
**Abb. 5:** Dieses Bild zeigt ein Mikrokanalsystem mit hunderten von parallelen Kanälen. Nur drei davon, die mit DNS gefüllt wurden, sind unter gekreuzten Polarisatoren zu sehen. Die DNS-Moleküle richten sich bevorzugt entlang der Kanäle aus und drehen die Polarisationsrichtung so, dass das Licht den Analysator passieren kann.

### Komplexe Fluide in Mikrostrukturen

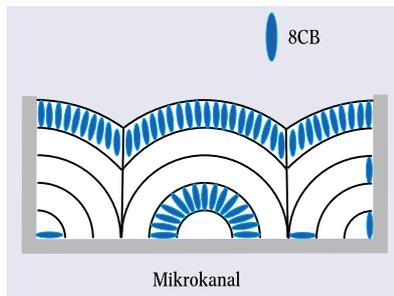
Der charakteristische Fluss in Mikrokanälen mit Kanalbreiten unterhalb von 100 μm und typisch erreichten Strömungsgeschwindigkeiten von wenigen mm/s fällt aufgrund der niedrigen Reynolds-Zahl in das Regime der laminaren Strömung: die viskosen Kräfte dominieren über die Trägheitskräfte und lassen keine Turbulenz entstehen (siehe Infokasten „Strömungsprofile“). Insofern scheinen die hydrodynamischen Aspekte der Mikrofluidik besonders überschaubar zu sein. In den langen und schmalen Geometrien der Mikrokanalsysteme bewegt sich die gesamte Flüssigkeit parallel zur örtlichen Orientierung der Kanalwände. Impuls-, Massen- und auch der Wärmetransport senkrecht zur Flussrichtung geschehen im Wesentlichen durch Diffusion und Wärmeleitung. Tatsächlich treten

allerdings aufgrund der geringen Abmessungen eine Reihe von bisher nur teilweise verstandenen Effekten auf. Allein die Reibung der Flüssigkeit an den Kanalwänden erweist sich bei näherer Betrachtung als hochkompliziert. Es ist nämlich keineswegs so, dass die Strömungsgeschwindigkeit an der Wand einfach verschwindet. Vielmehr beobachtet man oft einen gewissen Schlupf zwischen Flüssigkeit und Substrat, der von der Beschaffenheit der beteiligten Oberflächen ebenso abhängt wie von den rheologischen Eigenschaften der Flüssigkeit.

Zudem zählen, wie bereits erwähnt, die anwendungsrelevanten Flüssigkeiten zur großen Klasse der komplexen Flüssigkeiten. Die Miniaturisierung der Flusssysteme sorgt somit dafür, dass „finite size“-Effekte in der Strömungsdynamik deutlich zu Buche schlagen. Diese Effekte können sehr schön an den



**Abb. 6:**  
 ► a) Polarisationsmikroskopisches Texturbild dreier mit dem smektischen Flüssigkristall 8CB (Smektik A) gefüllter Silizium-Mikrokanäle, die zuvor mit einem positiv geladenen Polyelektrolyten beschichtet wurden. Die Texturbilder entstehen durch unterschiedliche Orientierungen der doppelbrechenden smektischen Flüssigkristallschichten in den Mikrokanälen.



► b) Skizze der komplexen Schichtstruktur der in einem Mikrokanal „eingesparten“ smektischen Flüssigkristall-Moleküle (Seitenansicht). Die Struktur der smektischen Schichten wird durch die unterschiedliche molekulare Orientierung des Flüssigkristalls an den Grenzflächen zur Luft und zu den Wänden, sowie durch die geometrischen Randbedingungen bestimmt

dynamischen Eigenschaften größerer Kettenmoleküle in einschränkenden Geometrien beobachtet werden, die sich deutlich vom Verhalten in der Volumenphase unterscheiden. Aktin, ein Protein des intrazellulären Fasernetzwerks, das aufgrund seiner Steifheit zu den sog. semiflexiblen Polymeren gezählt wird, ist ein vorzügliches Modellmolekül für Untersuchungen zum Einfluss geometrischer Einschränkung. Einzelne Aktin-Filamente (Durchmesser: ca. 10 nm, Länge: mehrere µm) lassen sich durch Fluoreszenzmarkierung direkt beobachten und auch in zellenfreien Medien polymerisieren. Da die typischen Energien für das molekulare Verbiegen im Bereich der thermischen Energie liegen, zeigen einzelne Filamente, ähnlich wie bei der Brownschen Molekularbewegung, ein unregelmäßiges Fluktuieren (Abb. 3). Werden diese Filamente in Mikrokanälen unterschiedlicher Kanalbreiten bei konstanter Kanaltiefe (ca. 3 µm) polymerisiert, wird eine Ver Streckung der Aktin-Filamente mit Abnahme der Kanalbreite beobachtet (Abb. 4). Dabei fluktuieren die Filamente um ihre gestreckte Form, und der mittlere Abstand zwischen den beiden Filamentenden nimmt mit zunehmender Ver Streckung zu.

Neben den steiferen Aktin-Filamenten werden auch weitaus flexiblere Makromoleküle wie DNS, deren Konturlängen im Bereich der Kanalbreiten liegen, von der räumlichen Einschränkung stark beeinflusst [9]. So lassen sich DNS-Moleküle in wässrigen Lösungen mit mittleren und höheren DNS-Konzentrationen (größer als etwa 10 mg/mL) parallel zur Kanalrichtung orientieren. Die molekulare Orientierung lässt sich aufgrund der doppelbrechenden Eigenschaften der ausgerichteten Moleküle mit Hilfe der Polarisationsmikroskopie sichtbar machen (Abb. 5). Liegt die Konturlänge der DNS-Stränge unterhalb der Kanaldimensionen, wird keine Vorzugsorientierung beobachtet. Die Ausrichtung makromolekularer Materialien, die zumeist zweidimensionale flüssigkristalline Strukturen bilden, ist von großem Interesse vor allem für die Strukturaufklärung mithilfe von Röntgenstrahlung, die durch eine Vorzugsorientierung der Moleküle deutlich einfacher, oft überhaupt erst möglich wird [10].

Auch aus kleineren Molekülen bestehende Materialien, die flüssigkristalline Phasen ausbilden können, werden durch die geometrische Einschränkung stark beeinflusst. Abbildung 6a zeigt ein Beispiel: Die mikroskopische Domänenstruktur des smektischen Flüssigkristalls 8CB (4'-n-Octyl-4-Cyanobiphenyl; Moleküllänge ca. 3 nm) wird deutlich von der Geometrie der Mikrokanäle bestimmt, obwohl die molekularen Längen des Flüssigkristalls um Größenordnungen kleiner sind als die Kanaldimensionen. Die mit Polarisationsmikroskopie beobachtete Textur des Flüssigkristalls ist auf die unterschiedliche Orientierung der Flüssigkristall-Moleküle an den Grenzflächen 8CB/Luft (senkrecht zur Grenzfläche) und 8CB/Kanalwände (parallel zu den Wänden) zurückzuführen (Abb. 6b). Durch die Nähe der Wand wird somit die Morphologie im gesamten Kanalbereich determiniert.

### Grundlagenforschung mit mikrofluidischen Bauelementen

Der Einfluss von sehr einfachen Geometrien auf das Fließverhalten komplexer Flüssigkeiten lässt sich für grundlegende Experimente beispielsweise in der Bio- und Polymerphysik nutzen. Ein hierbei häufig eingesetztes Mikrofluidik-Bauteil besteht aus zwei gekreuz-

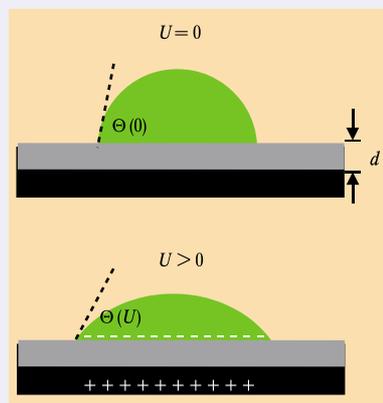
### Elektrobenetzung

Auch bei der Elektrobenetzung nutzt man aus, dass die meisten praktisch relevanten Flüssigkeiten Elektrolyte, also elektrisch leitfähig sind. Setzt man einen Tropfen einer solchen Flüssigkeit auf eine feste Unterlage, so bildet sich zunächst ein bestimmter Kontaktwinkel  $\theta$  aus, der durch die Bilanz der beteiligten Grenzflächenenergien bestimmt ist. Wenn das Substrat nun aus einer Isolatorschicht der Dicke  $d$  mit darunter liegender Elektrode besteht, letztere also mit dem Tropfen einen Plattenkondensator bildet, kann dieser Kontaktwinkel durch Anlegen einer Spannung  $U$  variiert werden, denn die Bilanz der Grenzflächenenergien wird nun durch die Feldenergie im Kondensator und durch die von der Spannungsquelle geleistete Arbeit modifiziert. Die Änderung des Kontaktwinkels wird durch die sog. Lippmann-Gleichung

$$\cos\theta(U) = \cos\theta(0) + \frac{\epsilon\epsilon_0 U^2}{2\gamma d}$$

bestimmt und kann einige 10 Grad beitragen ( $\epsilon$ : Dielektrizitätskonstante des Isolators;  $\gamma$ : Oberflächenspannung der

Flüssigkeit), wobei der Kontaktwinkel  $\theta$  mit steigender Spannung  $U$  kleiner wird. Das elektrische Feld oberhalb des Tropfens führt zu einem Druckbeitrag an der Flüssigkeitsoberfläche, der dem Kapillardruck der gekrümmten Oberfläche entgegengerichtet ist. Interessanterweise führt dies dazu, dass eine Fülle fluider Oberflächenstrukturen stabilisiert werden können, die sonst aufgrund der Kapillarkräfte dynamisch instabil wären [8].



ten Kanälen [11]. Wie Abb. 7 zeigt, bietet diese Anordnung die Möglichkeit, einen Flüssigkeitsstrahl in der Mikrostruktur hydrodynamisch zu fokussieren, was ein weites Experimentierfeld eröffnet. Abb. 7a zeigt die hydrodynamische Fokussierung einer wässrigen Fluorescein-Lösung. Der Strom mit fluoreszenzmarkiertem Wasser im Einlasskanal erscheint grün und wird durch die beiden Seitenkanäle mit unmarkiertem Wasser zu einem dünnen Strahl zusammengequetscht. Die Breite des Strahls kann durch das Verhältnis der Flussraten  $Q_1$  des Einlasskanals (Kanal 1) und  $Q_2$  der Seitenkanäle (Kanäle 2) gezielt eingestellt und wesentlich kleiner werden als die tatsächliche Kanalbreite (Abb. 7b).

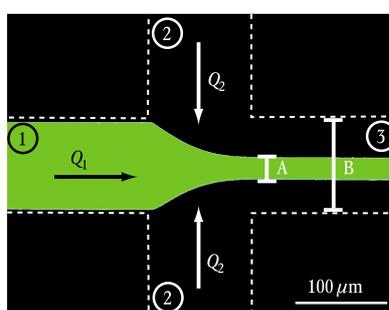
Dieses Bauteil ermöglicht es u. a., schnelle Reaktionen bei Mischprozessen zu untersuchen, wenn die Lösungen im Einlasskanal und in den Seitenkanälen unterschiedliche Reaktanden enthalten. Die verschiedenen Lösungen fließen dabei laminar nebeneinander. An der Grenzfläche werden die Reaktanden durch molekulare Diffusion vermischt und dadurch die Reaktion zwischen den einzelnen Komponenten gestartet.

Die Mischzeit kann durch die Breite des fokussierten Strahls eingestellt werden. So diffundieren kleinere Moleküle mit einem molekularen Gewicht von 500 bis 1000 g/mol in verdünnten wässrigen Lösungen eine Strecke von  $50 \mu\text{m}$  in etwa 5 s, während die Diffusionszeit bei einer Strecke von  $1 \mu\text{m}$  nur 2 ms beträgt [2]. Bei einem kontinuierlichen Zufluss der Lösungen mit konstanter Zusammensetzung erreichen die Strömung, der Grad der Durchmischung und der Status der Reaktion einen quasi-stationären Zustand. Durch Messungen an mehreren, verschieden weit „flussabwärts“ gelegenen Orten lässt sich die zeitliche Entwicklung der Reaktion ermitteln.

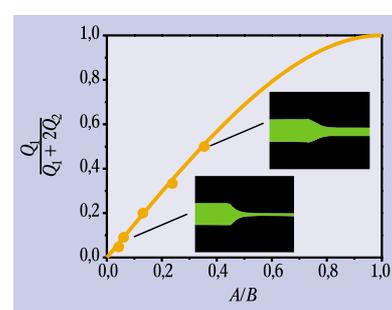
Mit dieser eleganten Methode gelang es, die ersten Stadien der Faltung von Proteinen [12] und Ribonukleinsäure (RNS) [13] mit Hilfe von Röntgen-Kleinwinkel-Streuexperimenten (Synchrotron-Röntgenstrahlung) zu untersuchen. Die Faltung wird durch das Zumischen von Komponenten aus den Seitenkanälen induziert, bei der Proteinfaltung z. B. durch die Änderung des pH-Werts, bei der RNS durch das Zumischen von  $\text{MgCl}_2$ . Die hydrodynamische Fokussierung treibt hierbei die zeitliche Auflösung der Faltungsprozesse in den Submillisekundenbereich. Neben der sehr hohen zeitlichen Auflösung hat diese Methode den Vorteil, mit sehr geringen Probenmengen auszukommen. Dadurch werden Messungen an Biomaterialien, die oft nur mit großem Aufwand isoliert werden können, überhaupt erst möglich.

Dienen bei dem in Abb. 7 vorgestellten Mikro-Bauteil die Kanäle 1 und 3 als Einlasskanäle eines kontinuierlichen Flüssigkeitsstroms gleicher mittlerer Flussgeschwindigkeit (Abflüsse über die Seitenkanäle 2), so lässt sich eine hyperbolische Strömung mit einem Stagnationspunkt in der Mitte des Kreuzes erzeugen (Abb. 8) [14]. Wird ein kettenförmiges Makromolekül an diesen Stagnationspunkt gebracht, kann es aufgrund des örtlich homogenen Geschwindigkeitsgradienten aus seiner statistischen Knäuelstruktur in eine gestreckte Molekülkonformation gebracht werden. Auf diese Weise gelang es, den Einfluss der Strömung des Lösungsmittels auf die Konformation einzelner Makromoleküle am Beispiel fluoreszenzmarkierter  $\lambda$ -Bakteriophagen-DNS mittels Fluoreszenzmikroskopie zu beobachten. Hierbei zeigten sich frappierende Unter-

schiede im Verhalten des Einzelmoleküls und dem ganzen Molekülensembles. Bei Untersuchungen an Polymerlösungen, die nur über das Ensemble gemittelte Werte der Konformationen bzw. Verstreckungen der Makromoleküle ergeben, tritt bei einem bestimmten Wert der angelegten Strömung eine abrupte Streckung der Moleküle auf, die z. B. durch optische Doppelbrechung leicht nachgewiesen werden kann. Dies passiert, wenn die hydrodynamische Kraft die entropische Elastizität des Makromoleküls übertrifft. Im Gegensatz dazu beobachtet man am Einzelmolekül keine plötzlich einsetzende Streckung bei einem bestimmten Strömungswert, sondern eine von Molekül zu Molekül unterschiedliche Dynamik. Nicht nur der dynamische Verlauf, sondern auch der Endzustand der Verstreckung individueller Moleküle kann sehr unterschiedlich sein. Er hängt deutlich von der anfänglichen Gleichgewichtskonformation der ungeordneten Makromolekül-Knäuel beim Einsetzen der hydrodynamischen Strömung ab. Das hat beispielsweise zur Folge, dass



**Abb. 7:**  
**► a)** Eine hydrodynamisch fokussierte Fluorescein-Lösung, aufgenommen mit einem Fluoreszenzmikroskop. Zur besseren Orientierung sind die Kanalwände der beiden gekreuzten Mikrokanäle (hergestellt in Kunststoff PMMA) gestrichelt angedeutet.



**► b)** Verhältnis des Flusses im Einlasskanal 1 zum Gesamtfluss als Funktion der Breite des fokussierten Flüssigkeitsstrahls. Diese Breite lässt sich durch die relativen Flussraten gezielt einstellen. Die durchgezogene Linie erwartet man bei einem Poiseuille-Profil in Kanal 3.

### Strömungsprofile

Das Strömungsverhalten einer Flüssigkeit in einer bestimmten experimentellen Situation lässt sich u. A. durch die sog. Reynolds-Zahl  $Re$  charakterisieren. Diese ist definiert als

$$Re = \frac{v l \rho}{\eta}$$

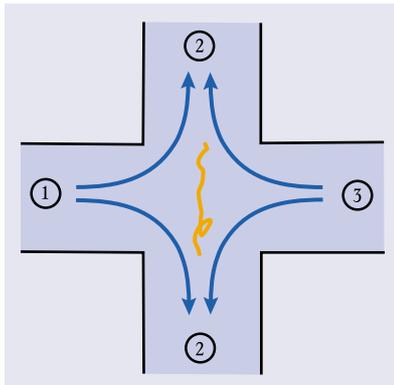
wobei  $v$  die Strömungsgeschwindigkeit,  $l$  die typische räumliche Ausdehnung des Systems (z. B. die Kanalbreite),  $\rho$  die Massendichte der Flüssigkeit und  $\eta$  ihre dynamische Viskosität ist. Aufgrund der geringen Abmessungen mikrofluidischer Bauelemente ist  $Re$  hier selten größer als eins. Da Turbulenz erst bei etwa  $Re = 200$  einsetzt, hat man es in mikrofluidischen Bauteilen stets mit laminaren Strömungen zu tun, und Trägheitseffekte können weitgehend vernachlässigt werden.

In diesem Falle wird Strömung in guter Näherung durch  $\eta \Delta v = \text{grad } p$  beschrieben, wobei  $p$  das Druckfeld bezeichnet. Für die Strömung in einem geraden Kanal, in dem der Druck in Längsrichtung abfällt, ergibt sich daraus ein parabelförmiges Geschwindigkeitsprofil (Poiseuille-Profil), wobei

meist angenommen wird, dass die Strömungsgeschwindigkeit an der Kanalwand verschwindet. Tatsächlich ist dies jedoch durchaus nicht immer der Fall, und die Reibungsmechanismen, die hier eine Rolle spielen, werden zur Zeit intensiv erforscht [15].

Wenn die Strömungsgeschwindigkeit wie oben dargelegt über den Kanalquerschnitt variiert, kommt es bei chromatographischen Prozessen zwangsläufig zu einer Verbreiterung der Banden. Es wäre daher wünschenswert, ein eher pfropfenartiges Flussprofil zu haben. Dies lässt sich mit Hilfe der sog. Elektroosmose näherungsweise erreichen, die auf geladene Suspensionen (Elektrolyte) angewendet werden kann. Meist adsorbiert nämlich ein Ionentyp stärker an der Kanalwand als der andere, wodurch die Suspension im Kanal eine elektrische Nettoladung bekommt. Treibt man den Fluss nun durch ein längs des Kanals gerichtetes elektrisches Feld, kann man die Flüssigkeit mit nahezu homogenem Geschwindigkeitsprofil durch den Kanal „schieben“.

selbst bei den höchsten erreichbaren Fließgeschwindigkeiten bei weitem nicht alle Makromoleküle auf ihre komplette Konturlänge verstreckt werden können. Dies zeigt, dass zum mikroskopischen Verständnis des Verhaltens stark verdünnter Polymerlösungen die dynamischen Eigenschaften individueller Makromoleküle gesondert erforscht werden müssen.



**Abb. 8:** Skizze eines hyperbolischen Strömungsprofils in gekreuzten Mikrokanälen mit angelegter Verstreckung eines einzelnen DNS-Makromoleküls [14].

### Was fließt in der Zukunft auf uns zu?

Die hier angesprochenen Untersuchungen in geometrisch einfach aufgebauten Mikrofluidiksystemen lassen die Vielfalt der zukünftigen Experimente und Ergebnisse nur erahnen, die durch eine Verringerung der Kanaldimensionen in den Nanometerbereich oder unter komplexeren Randbedingungen (etwa durch kompliziertere Kanalgeometrien) zu erwarten sind. Daneben wird die Miniaturisierung, Kombination und Parallelisierung von Mikrofluidikkomponenten, die durch die „weiche Lithographie“ und Ausweitung auf drei Dimensionen „intelligente Bauteile“ hervorbringen wird, weiter fortschreiten. Während die Entwicklung von Mikrofluidiksystemen gegenwärtig im Wesentlichen von Anwendungen in der Bioanalytik bestimmt sind, werden in der Zukunft wohl auch völlig neue technologische Anwendungen diskutiert werden. Die Entwicklung von „mikrofluidischen Fabrikationsstraßen“ zur Herstellung von neuartigen intelligenten Materialien werden bereits diskutiert. Auch an ein gezieltes Zusammenwirken der Mikrofluidik mit den in der Natur bereits optimierten „molekularen Nanomaschinen“, wie Aktin/Myosin oder Tubulin/Kinesin, ist denkbar. Durch Selbstassemblierung von Biomaterie in anorganischen Mikrostrukturen wird es so vielleicht gelingen, „molekulare Cyborgs“ zu entwickeln: hochintegrierte Hybridsysteme, die dann z. B. in Blutgefäße eingeschleust werden, um dort hochspezifische Aufgaben zu erfüllen. Im Vergleich zu den konventionellen „top-down“-Ansätzen würden solche Systeme über die eleganten Reparaturmechanismen der Natur verfügen, an deren Mangel bisher jeder Versuch, künstliche Nanomaschinen zum Laufen zu bringen, gescheitert ist.

### Literatur

- [1] T. Szyperski, Nachrichten aus der Chemie **50**, 1128 (2002)
- [2] S. C. Jakeway, A. J. de Mello und E. L. Russell, Fresenius Journal of Analytical Chemistry **366**, 525 (2000)
- [3] M. Burns et al., Science **282**, 484 (1998)
- [4] J. Han und H. G. Craighead, Science **288**, 1026 (2000)
- [5] G. M. Whitesides und A. D. Stroock, Physics

- Today, Juni 2001, S. 42
- [6] M. A. Unger, H.-P. Chou, T. Thorsen, A. Scherer, S. R. Quake, Science **288**, 113 (2000)
  - [7] H. Gau, S. Herminghaus, P. Lenz und R. Lipowsky, Science **283**, 46 (1999)
  - [8] F. Mugele und S. Herminghaus, Appl. Phys. Lett. **81**, 2303 (2002)
  - [9] T. Pfohl et al., Langmuir **17**, 5343 (2001); M. C. Choi, S. Köster, A. Otten, Y. Li, C. R. Safinya und T. Pfohl, vorgesehen zur Publikation
  - [10] G.-C. L. Wong, Y. Li, I. Koltover, C. R. Safinya, Z. Cai und W. Yun, Appl. Phys. Lett. **73**, 2042 (1998).
  - [11] J. B. Knight, A. Vishwanath, J. P. Brody und R. H. Austin, Phys. Rev. Lett. **80**, 3863 (1998)
  - [12] L. Pollack et al., Phys. Rev. Lett. **86**, 4962 (2001)
  - [13] R. Russell et al., Proc. Nat. Acad. Science of the USA (PNAS) **99**, 4271 (2002)
  - [14] D. E. Smith und S. Chu, Science **281**, 1335 (1998)
  - [15] U. Raviv und J. Klein, Science **297**, 1540 (2002)

### Die Autoren

**Thomas Pfohl** studierte Chemie in Mainz und promovierte 1998 am MPI für Kolloid- und Grenzflächenforschung (Berlin) über die Benetzung von Alkanen auf Flüssigkeits- und Festkörperoberflächen. Nach einem zweijährigen Forschungsaufenthalt am Materials Research Laboratory an der University of California at Santa Barbara stieß er zur Abteilung Angewandte Physik an der Uni Ulm. Seit 2001 leitet er eine unabhängige Emmy-Noether-Nachwuchsgruppe mit dem Forschungsschwerpunkt Mikrofluidik und Biomaterie. In seiner Freizeit widmet er sich sowohl aktiv wie auch passiv dem Fußballspiel.



**Stephan Herminghaus** studierte Physik in Mainz, promovierte dort 1989 über Laserablation, ging für ein Jahr als Postdoc zu IBM (Almaden) und habilitierte sich 1994 an der Uni Konstanz über Oberflächenplasmonen und dünne Filme. Danach baute er am MPI für Kolloid- und Grenzflächenforschung (Berlin) eine eigene Gruppe auf, die sich mit Benetzung und Strukturbildung an Grenzflächen befasste. Zu diesem Thema rief er in dieser Zeit auch ein DFG-Schwerpunktprogramm ins Leben. Seit 1999 leitet er die Abteilung Angewandte Physik an der Uni Ulm. Als Sprecher des dortigen Musikischen Zentrums kann er auch seinen übrigen Neigungen wie bildende Kunst und Gesang nachgehen (wenn er nicht gerade Cocktails mixt).

