

# Nicht-invasive optische Druckmessung in Lab-on-a-Chip Systemen

*Martin Nötzel<sup>1</sup>, Mathias Busek<sup>1</sup>, Frank Sonntag<sup>1</sup>*  
<sup>1</sup> *Fraunhofer IWS, Winterbergstr. 28, Deutschland,*  
*Martin.Noetzel@iws.fraunhofer.de*

## Abstract:

Die vorliegende Arbeit beschreibt ein nichtinvasives, optisches Druckmessverfahren für mikrofluidische Systeme. Angewendet wird dabei ein konfokal-chromatisches Sensorsystem, mit dem die Verwölbung einer Membran gemessen wird. Über ein Robotiksystem und optische Positionserkennung kann automatisiert an verschiedenen Druckmesspunkten detektiert werden, um damit Druckdifferenzen an Kanälen zu erfassen. Diese Ergebnisse ermöglichen eine physikalische Beschreibung mikrofluidischer Komponenten und können zur Modellbildung verwendet werden. Außerdem erlaubt das Messprinzip die automatisierte Überwachung in Perfusionszellkultursystemen.

**Key words:** Druckmessung, chromatisch-konfokal, Membran, Lab-on-a-Chip, Mikrofluidik

## Einleitung

In den letzten Jahren ist ein Lab-on-a-Chip System entwickelt worden, welches verschiedene Mikropumpen, Kanäle sowie Zellkulturbereiche vereint [1],[2],[3]. Dieses System hat das Potential die Substanztestung in der pharmazeutischen und kosmetischen Industrie zu revolutionieren, indem Tierversuche in den nächsten Jahren ersetzt werden könnten [4]. Ein wichtiger Faktor bei der Kultivierung von Humanzellen und damit von Organoiden ist die genaue Kenntnis der Strömungsverhältnisse in den Kanälen. Daraus lassen sich beispielsweise mechanische Belastung und Medienversorgung der Zellen ableiten. Mittels Particle Image Velocimetry (PIV) konnte bereits in einer vorhergehenden Arbeit die Scherkraft an kultivierten Endothelzellen bestimmt werden [5]. Im Folgenden wird eine Möglichkeit zur nicht-invasiven Druckmessung in diesen Biochips vorgestellt. Dadurch lässt sich das System strömungsmechanisch genauer beschreiben und perspektivisch physiologischer betreiben. Weiterführend können so auch Modelle abgeleitet werden. Verwendet wird hierfür ein konfokal-chromatisches Sensorsystem, mit dem die Verwölbung von im System integrierten Membranen erfasst werden kann. Durch eine geeignete Kalibrierung lässt sich so der Druckabfall entlang der Kanäle im Biochip messen. In den Arbeiten [6], [7], [8], [9] sind bereits Möglichkeiten der Druckmessung in mikrofluidischen Systemen vorgestellt worden. Der wesentliche Vorteil des hier beschriebenen

Verfahrens ist jedoch die Möglichkeit der nicht-invasiven Messung sowie die Tatsache, dass die bestehende Fluidik nur minimal modifiziert werden muss.

## Lab-on-a-chip System

Die mikrofluidische Struktur bildet eine aus Polydimethylsiloxan (PDMS) abgeformte Flusszelle. Diese wird von der Unterseite in einem Plasmabondprozess mit einem Glasobjektträger abgedichtet und oben an eine Polycarbonatplatte angegossen. Diese Anschlussplatte enthält die fluidischen und pneumatischen Konnektoren, um das System zu befüllen und die integrierten Mikroaktoren anzutreiben. Der abgeformte und gebondete Biochip kann in einem temperierbaren Support fixiert werden, um Zellen bei konstanter Temperatur zu kultivieren. Zur Steuerung der pneumatischen Aktoren und zur Temperierung wird ein externes Gerät verwendet. Der Chip ist schematisch in Abb. 1 dargestellt.

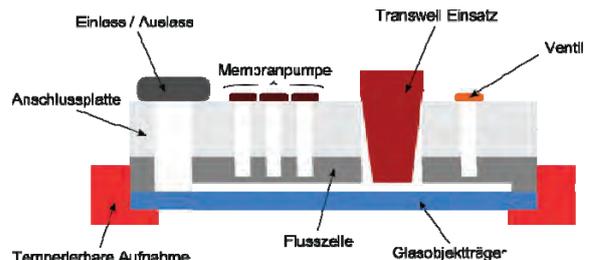


Abb. 1. Schematischer Querschnitt eines Multi-organchips

Die Abformwerkzeuge für die Herstellung der Chips können mittels Laserstrukturierung flexibel entworfen und in kurzer Zeit gefertigt werden. Um Membranen an beliebigen Stellen in der Fluidik, z.B. für die Druckmessung, zu integrieren können spezielle Abstandshalter in die Anschlussplatte eingeschraubt werden. Dadurch lassen sich Durchmesser und Dicke der Membran sehr genau einstellen.

### Prinzip

Strömt ein Fluid mit konstantem Volumenstrom durch die Kanalstruktur fällt über diese eine Druckdifferenz ab. Da der Druck innerhalb der Kanäle größer als der Luftdruck ist, werden integrierte Membranen wie in Abb. 2 dargestellt nach oben ausgelenkt. Diese Verwölbung wird für eine runde Membran nach [10] wie folgt beschrieben:

$$\mathbf{z}(\mathbf{r}) = \mathbf{z}_{\max} \left( 1 - \frac{r^2}{r_0^2} \right)^2 \quad (1)$$

Dabei ist die Maximalauslenkung  $z_{\max}$  direkt proportional zum angelegten Druck, allerdings gehen auch die Membrandicke und die Materialeigenschaften des PDMS in diesen Wert ein. Die verwendeten Membranen haben einen Radius von 1,5 mm und eine Dicke von 300  $\mu\text{m}$ . Misst man nun an mindestens zwei Messpunkten, kann ein Druckverlust ermittelt werden. Zur Messung der Verwölbung aus der Ruhelage eignet sich ein optischer Sensor, z.B. ein konfokal-chromatischer Abstandssensor.

Da die genauen Materialeigenschaften des verwendeten Silikons nicht genau bekannt sind und die Membranen herstellungsbedingt recht große Toleranzen in ihren geometrischen Abmessungen aufweisen, kann kein exakter mathematischer Zusammenhang zwischen Druck und Auslenkung formuliert werden. Vielmehr ist es sinnvoll als Referenz für die Messung eine Kalibrierkurve aufzunehmen, welche den Zusammenhang zwischen Druck und Membranverwölbung wiedergibt. Da gemäß (1) die Auslenkung der Membran und damit das Auflösungsvermögen in der Mitte der Membran am größten sind, sollte die Messung dort erfolgen. Um eine möglichst genaue Positionierung des Sensors über dem Biochip und eine Automatisierung der Messung zu ermöglichen wird ein elektronisch gesteuertes Mehrachs-Positioniersystem mit hoher Präzision und Wiederholgenauigkeit eingesetzt. In dem die Kalibrierung vor jeder Messung an gleicher Stelle durchgeführt wird können Fehler durch Positionierabweichungen vermieden werden.

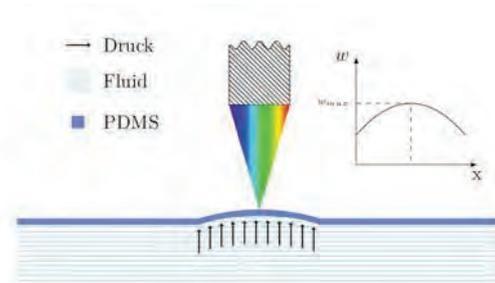


Abb. 2. Prinzip der optischen Druckmessung an PDMS-Membranen

### Druckmessfluidik

Um das Messsystem zu verifizieren, wird die in Abb. 3 verwendete fluidische Struktur genutzt. Sie besteht aus zwei fluidischen Kontaktierungen, drei Druckmessmembranen und zwei Mäanderstrukturen.

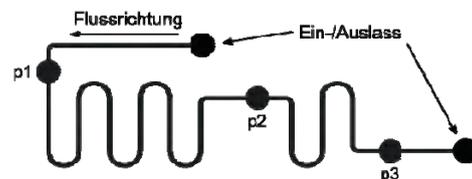


Abb. 3. Fluidische Struktur zur Verifizierung der Druckmessung

Wird ein Fluid durch die Mäander gepumpt, kommt es entlang der Kanäle zu einem Druckabfall, welcher nach dem Hagen-Poiseuille Gesetz wie folgt bestimmt ist:

$$\Delta p = \frac{8\eta \cdot l}{\pi \cdot r^4} \cdot V' \quad (2)$$

Dabei bezeichnet  $\eta$  die dynamische Viskosität des perfundierten Mediums,  $l$  die Länge und  $r$  den hydraulischen Durchmesser des Kanals sowie  $V'$  den Volumenstrom, mit dem das Medium durch den Kanal strömt. In Analogie zu einem Spannungsteiler addieren sich die Teildruckdifferenzen zur Gesamtdruckdifferenz:

$$p_2 - p_1 \approx 2,1 \cdot (p_3 - p_2) \quad (3)$$

Dieser mathematische Zusammenhang soll messtechnisch überprüft werden.

### Sensor

Um die Verwölbung der Membran zu bestimmen, kommt ein konfokal-chromatischer Sensor *IFS 2404-1,5* der Firma  $\mu$ -EPSILON zum Einsatz. Dieser ist auch bei der Messung an

transparenten Materialien wie dem genutzten PDMS geeignet.

Das über eine Weißlichtquelle erzeugte Licht wird über eine Faser zum Sensor geleitet. Durch Dispersion erzeugt dort ein geeignetes optisches System ein Farbspektrum. Befindet sich das Messobjekt innerhalb dieses Spektrums, wird ein Teil des Lichts an der Grenzschicht reflektiert, wieder in die Faser eingekoppelt und über ein Spektrometer ausgewertet. Dadurch kann jedem reflektierten Spektralanteil ein entsprechender Abstand vom Sensor zugeordnet werden. Dies ermöglicht auch die Messung an transparenten Multilagensystemen.

### Automatisiertes Handlingsystem

Das automatisierte Handling der Lab-on-Chip-Systeme erfolgt mit der von der GeSiM mbH und dem Fraunhofer IWS entwickelten, universellen Geräteplattform [11] (Siehe Abb. 4).

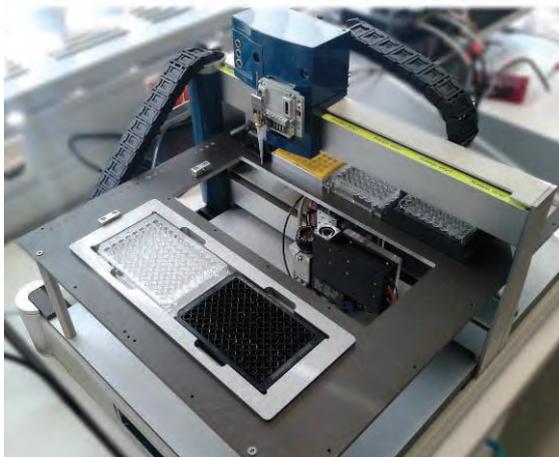


Abb. 4. Foto Zwei-Ebenen-Portal-Robotik-System, Arbeitsplatte bestückt mit Mikrotiterplatten und Pipettenspitzen, Dosierkopf bestückt mit Aufnahme für passive Einwegpipetten, Sensorkopf bestückt mit Kamera, Fluoreszenzmodul und Faseraufnahme

Diese ermöglicht eine kontinuierliche Überwachung und Versorgung von Lab-on-a-Chip Systemen. Die Plattform kombiniert eine Zwei-Ebenen-Portal-Robotik-Lösung mit präzisiertem, aseptischem Fluidhandling sowie unterschiedlichen Messsystemen für die nicht-invasive online Überwachung und ermöglicht so die vollautomatisierte Abarbeitung komplexer, benutzerdefinierter Abläufe. Die Lab-on-a-Chip-Systeme befinden sich in einer temperierbaren Aufnahmeplatte, die zwischen den beiden Brücken angeordnet ist. Auf der oberen Brücke sitzt ein frei positionierbarer Dosierkopf, der mit unterschiedlichen Fluidhandlingsystemen (aktive und passive Pipetten) und Werkzeugen (Magnetgreifer,

Pinzetten, RFID-Reader, ...) ausgestattet werden kann. Der frei positionierbare Sensorkopf an der unteren Brücke kann mit unterschiedlichen Messsystemen (Kamera, Mikroskop, Fluoreszenzmessung, ...) bestückt werden. So kann jedes Lab-on-a-Chip System separat mit unterschiedlichen Medien versorgt und charakterisiert werden.

### Messaufbau

Der Messaufbau besteht im Wesentlichen aus einem PC, dem konfokal-chromatischen Sensorsystem, einem elektronischen Druckregler, einer Spritzenpumpe sowie dem Robotiksystem und dem Biochip mit der Mikrofluidik. Das Robotiksystem wird verwendet um Kamera und Sensor relativ zu der Fluidik zu positionieren. Über das Kameramodul können Positionsmarken auf dem Chip gezielt erkannt und angefahren werden. Zusätzlich wird eine Spritzenpumpe verwendet, um einen kontinuierlichen Volumenstrom zu erzeugen. Über den PC kann der gesamte Messplatz gesteuert werden. Die Kalibrierung erfolgt mit Hilfe des beschriebenen Druckreglers. Eine entwickelte Software steuert automatisiert alle Komponenten und nimmt die Messwerte des Abstandssensors auf.

### Durchführung

Nachdem der Lichtpunkt des Sensors mit Hilfe des Kameramoduls in der Mitte der Membran positioniert wurde, kann mit der Aufnahme der Kalibrierungskurve der ersten Membran begonnen werden. Der Biochip ist zu diesem Zeitpunkt bereits vollständig und luftblasenfrei mit Wasser befüllt worden. In einem Bereich von  $-(0...200)$  mbar wird die Membran mit Unterdruck beaufschlagt und die dazugehörige Verwölbung der Membran gemessen.

Nach der Aufnahme der Kalibrierungskurve, wurde die Spritzenpumpe zugeschaltet und der konstante Volumenstrom auf 20 ml/h eingestellt. Die Membran beginnt sich dadurch aus der Ruhelage heraus zu verformen, bis ein Maximum erreicht wird. Unter Verwendung der zuvor ermittelten Kalibrierungskurve kann der statische Druck an dieser Stelle des Kanals ermittelt werden. Nach der gleichen Verfahrensweise, wird an allen drei Messmembranen der Druck ermittelt, aus denen sich die Druckdifferenzen über die Mäander ermitteln lassen.

### Ergebnisse

Wie weiter oben beschrieben, muss jede Membran vor der eigentlichen Druckmessung kalibriert werden. Beispielhaft ist in Abb. 5, die sich ergebende Funktion für die Membran p1

dargestellt. Diese wurde durch folgende quadratische Ausgleichsgerade angenähert:

$$p(y) = 863z^2 + 966z + 0,4.$$

Dabei steht  $p$  für den Druck und  $z$  für die Verwölbung. Die Mittelwerte der absoluten Drücke an den drei Messmembranen für  $N=5$  Wiederholungen fasst Tab.1 zusammen.

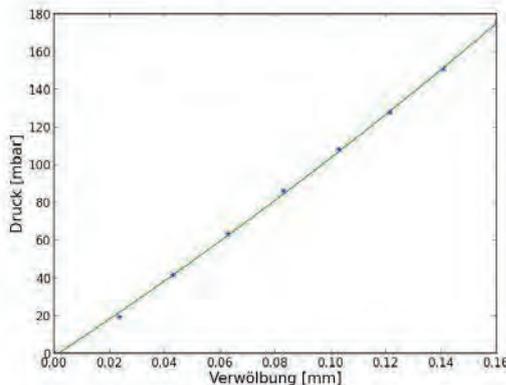


Abb.5. Kalibrierungskurve von Druck zu Verwölbung einer PDMS-Membran

Tab. 1: Absolute Druckwerte an den Messmembranen

p1 in mbar	p2 in mbar	p3 in mbar
109	77	8

So ergeben sich über die beiden Mäander in Flussrichtung die Druckdifferenzen  $\Delta p_1 = 69 \pm 5$  mbar und  $\Delta p_2 = 33 \pm 5$  mbar. Nach (3) würde man ausgehend von  $\Delta p_1$  für  $\Delta p_2$  einen Druckabfall  $\Delta p_{2E} = (59 \dots 80)$  mbar erwarten. Die Messergebnisse stimmen daher sehr gut mit den erwarteten Werten überein.

### Zusammenfassung und Ausblick

Es konnte ein Messverfahren etabliert werden, dass für die optische nichtinvasive Druckmessung in den beschriebenen Lab-on-a-Chip Systemen geeignet ist. Durch die Integration von zwei Messmembranen lässt sich der Druckabfall über beliebige mikrofluidische Strukturen bestimmen. In weiterführenden Arbeiten wird anstelle der Spritzenpumpe die integrierte Peristaltikpumpe zur Förderung des Fluids verwendet werden. Dadurch kommt es zu einer pulsartigen Strömung und die Membranverwölbung kann nunmehr in positiver und negativer Richtung erfolgen. Außerdem wird eine Triggerung der Messwertaufnahme benötigt werden. Weiterhin ist eine gleichzeitige Messung von Druckdifferenz und Volumenstrom geplant. Dazu wird die bereits etablierte

PIV-Messung und die hier beschriebene Druckmessung am selben Biochip durchgeführt werden.

### Danksagung

Diese Arbeit wurde im Rahmen des ZIM-Projekts „SimFluNet“ vom Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie gefördert.

Die Autoren danken der GeSiM mbH für die Unterstützung bei der Softwareentwicklung für das Zwei-Ebenen-Portal-Robotik-System.

### Literatur

- [1] Marx, U. et al: 'Human-on-a-chip' Developments: A Translational Cutting-edge Alternative to Systemic Safety Assessment and Efficiency Evaluation of Substances in Laboratory Animals and Man?, ATLA 40, 235–257, 2012.
- [2] Sonntag, F. et al: Design and prototyping of a chip-based multi-micro-organoid culture system for substance testing, predictive to human (substance) exposure, Journal of Biotechnology 148, 70–75, 2010.
- [3] Wagner, I. et al.: A dynamic multi-organ-chip for long-term cultivation and substance testing proven by 3D human liver and skin tissue co-culture, Lab on a Chip 13, 3538–3547, 2013
- [4] Baker, M.: A LIVING SYSTEM ON A CHIP, Nature 471, 661–665, 2011.
- [5] Schimek, K. and Busek, M. et al. "Integrating biological vasculature into a multi-organ-chip microsystem". In: Lab on a Chip 13 (2013), 3588–3598
- [6] Chueh-Yu Wu, Wei-Hao Liao und Yi-Chung Tung. „A seamlessly integrated microfluidic pressure sensor based on an ionic liquid electrofluidic circuit“. In: Micro Electro Mechanical Systems (MEMS), 2011 IEEE 24th International Conference on. 2011, S. 1087–1090.
- [7] Y. Tung und C. Wu. „Pressure sensors and electrical circuits made with liquids“. In: SPIE (2012).
- [8] H. Chung K. and Lee und H. Lu. „Multiplex pressure measurement in microsystems using volume displacement of particle suspensions“. In: Lab Chip 9 (23 2009), S. 3345–3353.
- [9] L. Wang u. a. „Polydimethylsiloxane-integratable micropressure sensor for microfluidic chips“. In: Biomicrofluidics 3.3, 034105 (2009), Timoshenko,
- [10] S.; Woinowsky-Krieger, S.: Theory of plates and shells, 2<sup>nd</sup> edition, McGraw-Hill Book Company, 1959.
- [11] F. Sonntag u. a. „Universelle Plattform für die automatisierte, amperometrische Überwachung von Reporter-genassays“. In: Dresdner Beiträge Medizintechnik (2012), S. 189–192, ISBN: 978-3-942710-96-1.