

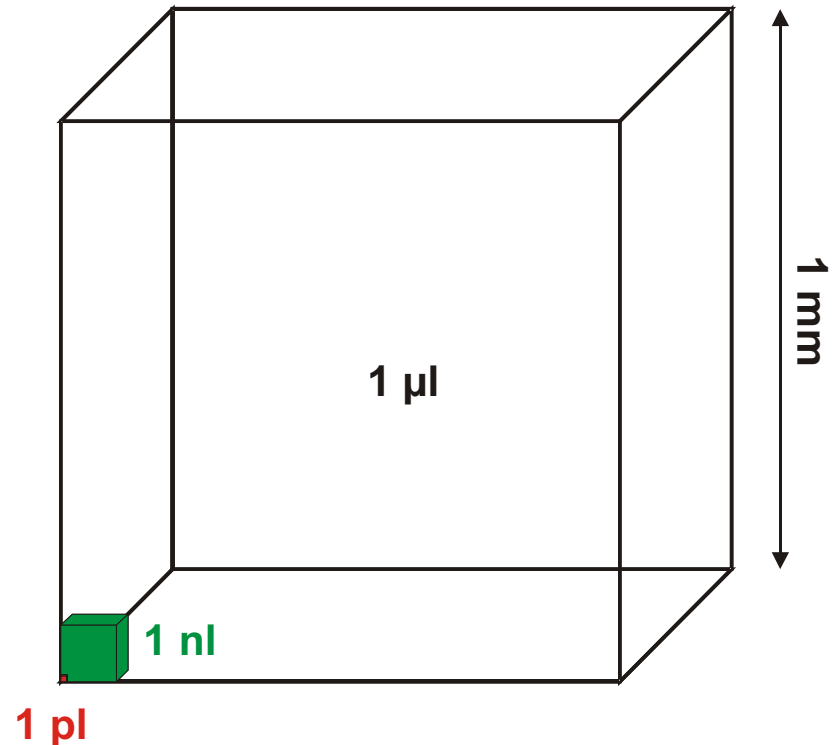
# **Papierbasierte-Mikrofluidik für zelluläre Diagnostik**

**Matthias Meier**

# Was ist Mikrofluidik?

Wissenschaft über die Kontrolle von Flüssigkeiten in Strukturen mit einer Größe von Mikrometern.

- **“Mikro” beinhaltet Volumina in  $\mu\text{l}$ ; nl; pl; fl**
  - 1 fl bis 1  $\mu\text{l}$  ( $10^{-15}$  bis  $10^{-6}$  Liter)
  - > 10er Größenordnung
- immer noch weit entfernt von molekularen Dimensionen



# Miniaturisierung

Miniaturisierung kann genutzt werden, um:

- Verbrauchskosten zu reduzieren
- Prozessketten zu parallelisieren (multiplex)
- Prozesse zu automatisieren



# Inhaltsüberblick

---

## Papierbasierte Mikrofluidik

1. Definition: Was ist Papier?
2. Charakterisierung: Wie verhält sich Papier
3. Mikrofluidische Betrachtung: Flüssigkeiten und Papier
4. Herstellung papierbasierter Mikrofluidik-Plattformen
5. Anwendung: Beispiel Blutgruppenbestimmung

# 1. Was ist Papier?

---

Papier ist ein flächiger Werkstoff, der im Wesentlichen aus Fasern meist pflanzlicher Herkunft - **Zellulose** - besteht.

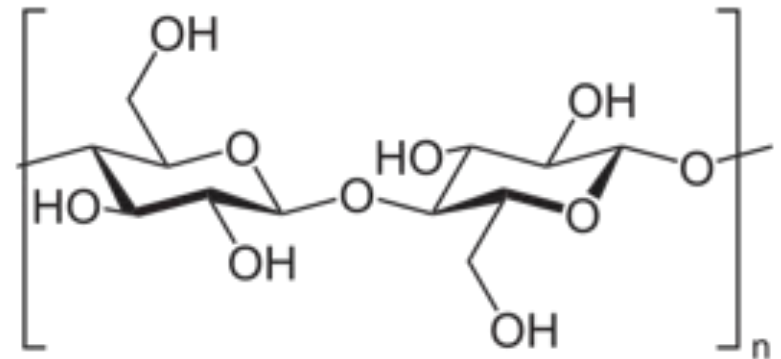
Papierherstellung erstmals erwähnt ~100 n.Chr. in China



Bild: [www.globe-views.com](http://www.globe-views.com)

# Beschreibung von Zellulose

- Polysacharid, zusammengesetzt aus  $\beta$ -D-Glukose Einheiten ( $\beta$ -1,4-glykosidische Bindung)
- mit 50% Massenanteil Hauptkomponente der pflanzlichen Zellwand
- Hydrophil, aber nicht löslich in Wasser und einer Reihe organischer Lösungsmittel



D-Glukose Einheit

# Struktur von Zellulose

Zellulose bildet Fibrillen.

- Hohlzylinder
- Länge:  
~10 -15 mm
- Durchmesser:  
~50 $\mu$ m

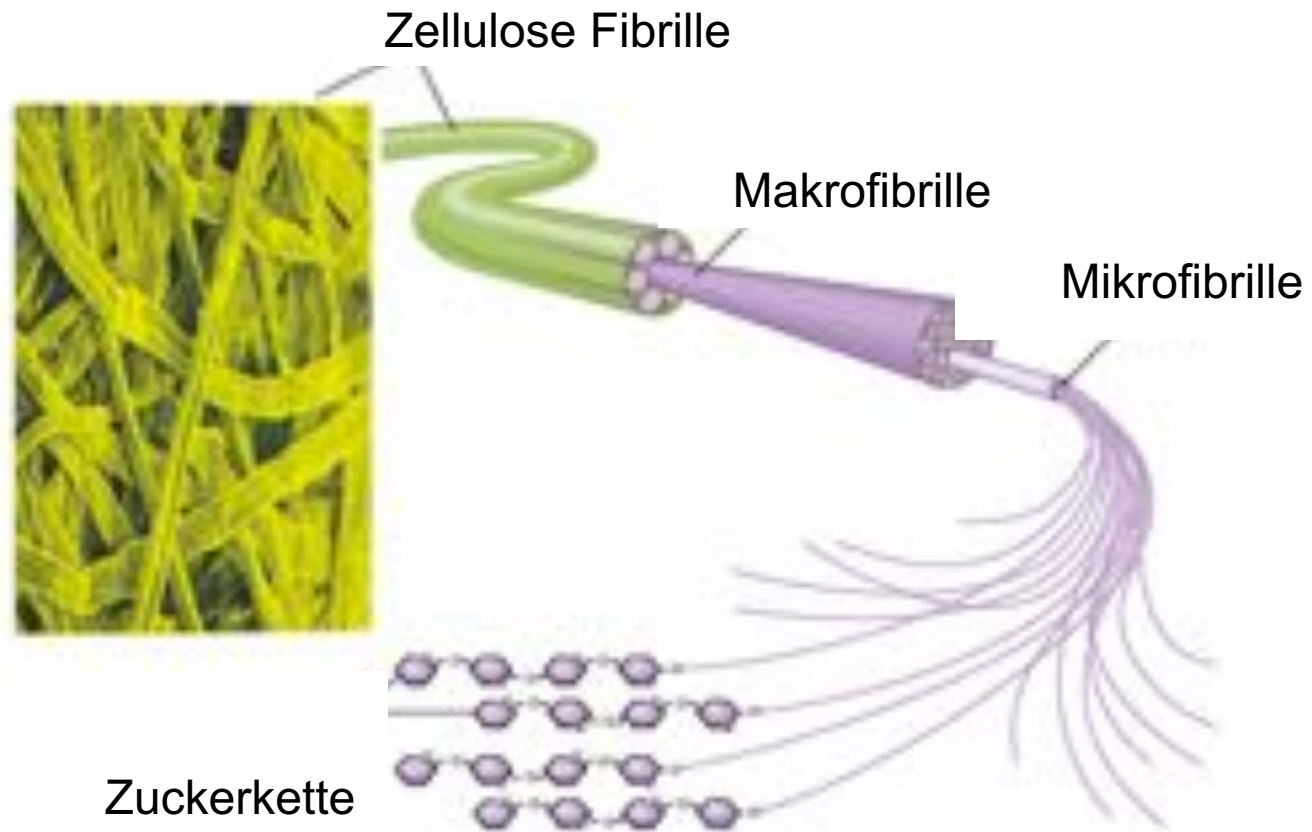


Bild: <http://nutrition.jbpub.com>

# Dichte von Zellulose

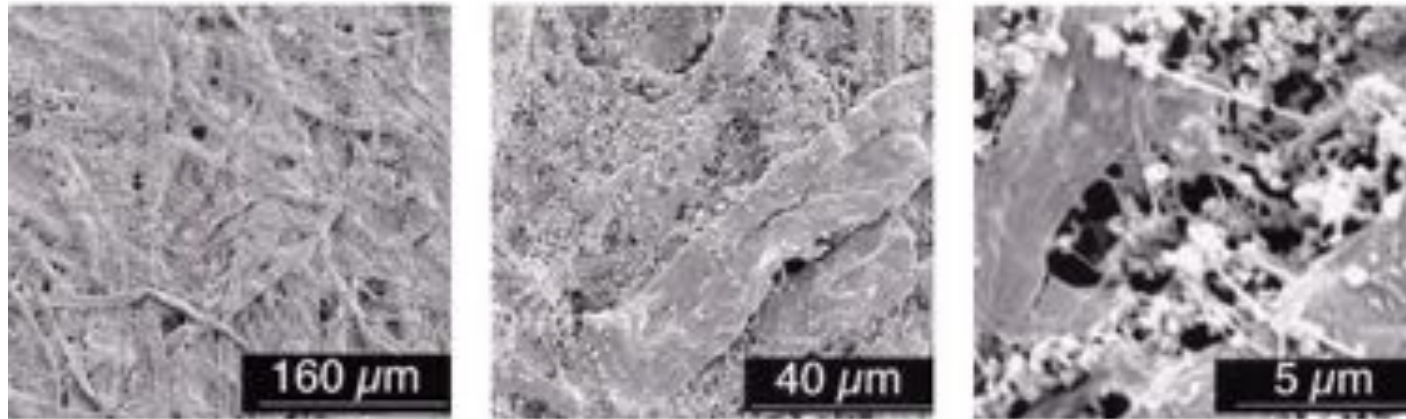
- Papier*dichte* wird als ‘Flächendichte’ ( $\text{g/m}^2$ ), ausgedrückt, nicht als Volumendichte
- Papier*dicke* variiert stark (z.B. Büropapier 96 bis 110  $\mu\text{m}$ )

Papierform	Dichte ( $\text{g/m}^2$ )	Dicke ( $\mu\text{m}$ )
Zeitungspapier	58-69	60 - 80
Büropapier DIN A4	80	96 - 110
Blotting Papier	230	540 - 590
Zellstoff	28	~125
Papierlabel	79	63
Washi (Japan)	40-120	~40-120



# Porosität von Zellulose

Porosität: Verhältnis von Porenvolumen zu Gesamtvolumen



- Volumen von trockenem Papier besteht 50%-75 % aus Luft
- Porosität bestimmt, wie Papier mit Flüssigkeiten reagiert (Beschichtung, Fluss)
- Porengröße von Büropapier DIN A4:  **$\sim 8 \mu\text{m}$**

# Papierbasierte Mikrofluidische Analysegeräte

- Alle papierbasierten mikrofluidischen Analysegeräte ( **$\mu$ PADs**) benötigen Papiere mit definierten Parametern

Whatman Filter Paper 4, GE Healthcare



## Typical Properties - Cellulose Filters

Grade	Particle Retention* Liquid ( $\mu$ m)	Air Flow Rate (s/100 mL/in <sup>2</sup> )	Ash (%)	Typical Thickness ( $\mu$ m)	Basis Weight (g/m <sup>2</sup> )	Wet Burst (psi)	Dry Burst (psi)	Tensile M/D Dry (N/15 mm)
<b>Qualitative</b>								
1	11	10.5	0.06	180	88	0.3	16	39.1
2	8	21	0.06	190	103	0.7	16	44.6
3	6	26	0.06	390	187	0.5	28	72
4	20-25	3.7	0.06	205	96	0.7	10	28.4
5	2.5	94	0.06	200	98	0.4	21	55.6
6	3	35	0.2	180	106	0.3	15	39.1 contd >

# Fluss durch Papier

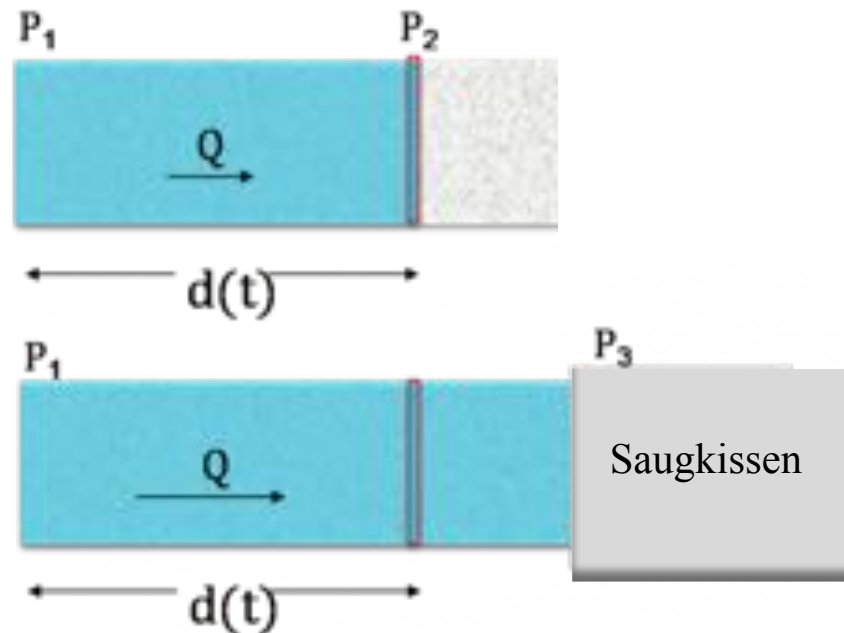
Physikalische Kraft, die eine Flüssigkeitsströmung im Papier ermöglicht:  
**Kapillarkraft** (engl. : *surface tension flow / wicking flow*)

Wechselwirkung zwischen Flüssigkeiten und porösen Zellulose-Fibrillen

Flussregime im Papier:

1. *benetzender Fluss*

2. *Fluss im vollständig benetzten Papier*



# Fließgeschwindigkeit des benetzenden Flusses

**Lucas-Washburn Gleichung** (*wicking flow*) :

Beschreibt den Kapillarfluss in einem Bündel von parallelen zylindrischen Fibrillen in Abwesenheit der Schwerkraft.

$$L = \sqrt{\frac{\gamma D t}{4\eta}}$$

**L** - zurückgelegte Distanz der Flüssigkeitsfront

**$\eta$**  - Viskosität

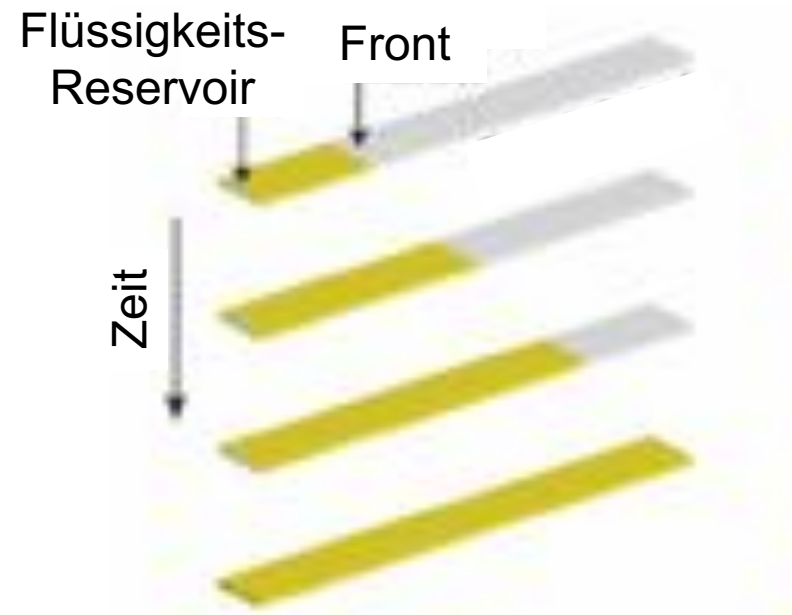
**$\gamma$**  - effektive Oberflächenspannung

**D** - durchschnittliche Porengröße der Zellulose

**t** - Zeit

# Grenzbedingungen der Washburn Gleichung

1. Die Porengröße im Papier ist überall gleich groß
2. Das Papier hat keine Verunreinigungen
3. Die Menge einer Flüssigkeit ist unbegrenzt  $\rightarrow$  der Nachfluss bricht nicht ab



# Einengender und Verbreiternde Fluss

Fragestellung:

Fließt die Flüssigkeitsfront in beiden Streifen gleich schnell?



# Einengender und Verbreiternde Fluss

## A) Einengender Fluss

*enger Kanal trifft breiteren Kanal*

Grenzbedingung Nr. 3 ist gebrochen

> Fließgeschwindigkeit der Front **verlangsamt sich!**

## B) Verbreiternde Fluss

*breiter Kanal trifft engeren Kanal*

breiter Kanal dient als nicht-limitierendes Reservoir

> Fließgeschwindigkeit der Front **ändert sich nicht.**



# Fließverhalten durch Papier

---

## Kaffee Flecken

Flüssigkeit fließt ungerichtet  
auf dem Papier:

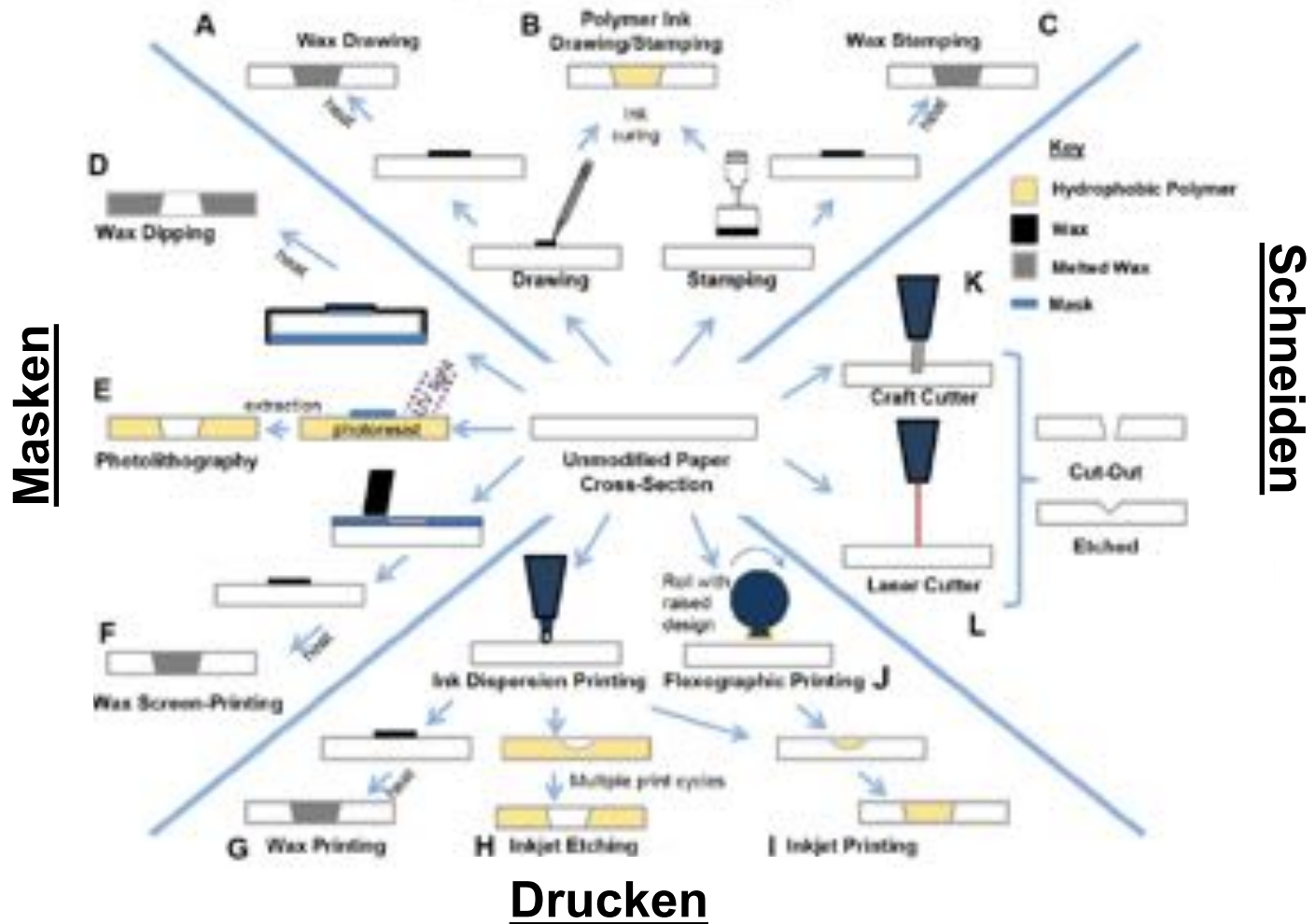




# $\mu$ PAD Herstellverfahren im Überblick

## Handfertigung

Cate et al. Anal. Chem. 2014



# Wachs-Druck von $\mu$ PADs

Carillho et al. 2009 Anal. Chem.

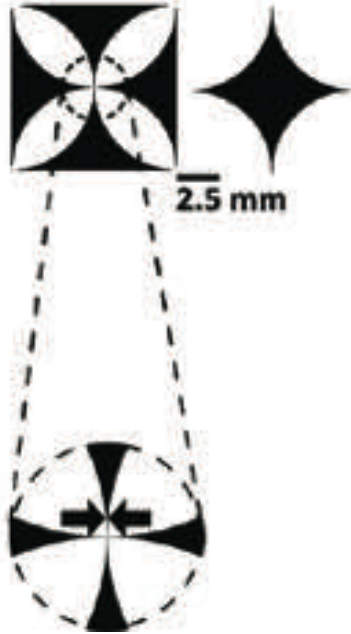
1. Layoutdesign    ➡    2. Druck  $\mu$ PAD    ➡    3. Wieder-  
aufschmelzen



**Materialien:** Wax basierte Tinte (50-60  $\mu$ m dicke Waxlage wird auf das Papier gebracht). Die Tinte ist eine Mixture aus hydrophoben Urethanen, Kohlenwasserstoffen, and Farbstoffen (Schmelztemperatur  $\sim 120^{\circ}\text{C}$ )

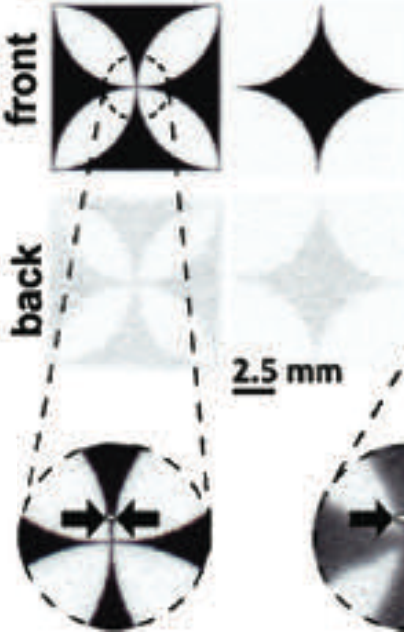
# Auslösung eines Wachs-Drucks

## 1. Layoutdesign



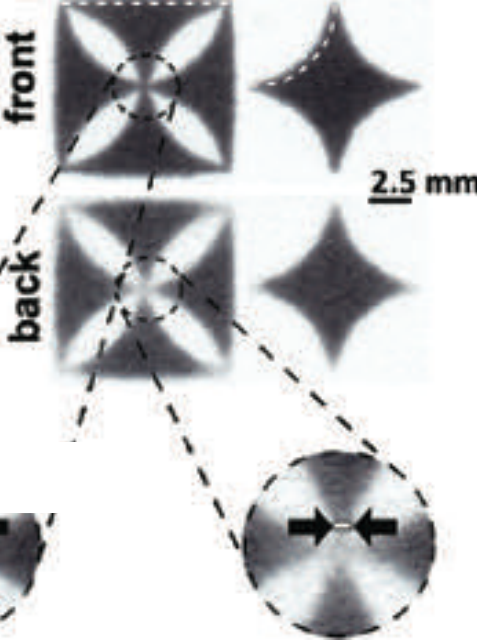
CAD  
Programm

## 2. Druck $\mu$ PAD



Drucker  
1000dpi =  
> 25 $\mu$ m

## 3. Wieder Aufschmelzen



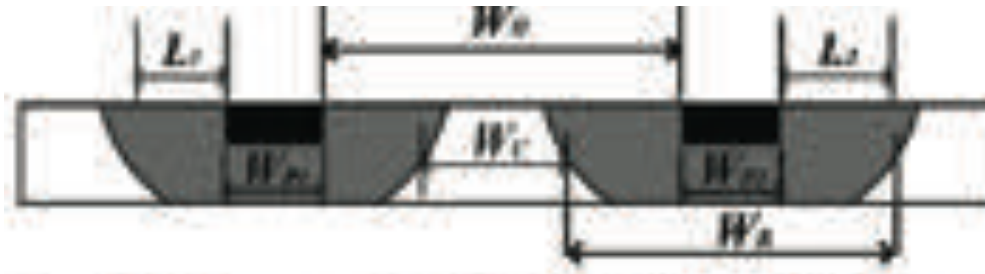
Fluss!  
(ca. Faktor 4)

Auflösung:

# Wax Drucken von $\mu$ PADs

Wiederaufschmelzen des Wachses auf der Papieroberfläche führt zu:

- **Vertikale-Verbreiterung:** generiert hydrophobe Barrieren in z-Richtung
- **Laterale-Verbreiterung:** verringert Auflösung des Drucks, generiert hydrophobe Barrieren in x- und y- Richtung



# Anwendungsbeispiel für $\mu$ PADs

## $\mu$ PADs zur Blutgruppenbestimmung

Blut wird klassifiziert auf Grundlage von Gegenwart oder Absenz von Antigenen auf der Oberfläche roter Blutkörperchen

Antigene können sein:

- Proteins
- Carbohydrates
- Glycoproteins
- Glycolipids



Bild: <http://universalhealthcarela.com/>

# Das AB0 Blut-Typisierungssystem

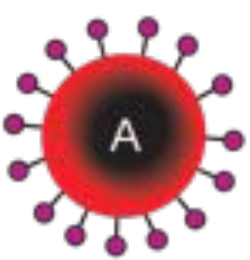
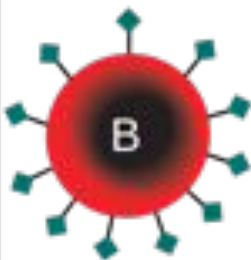
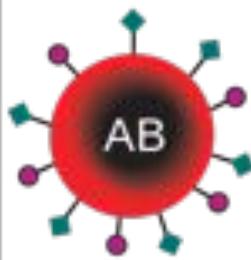
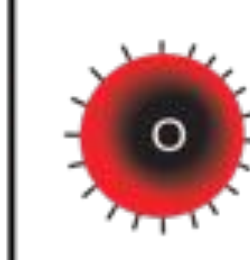






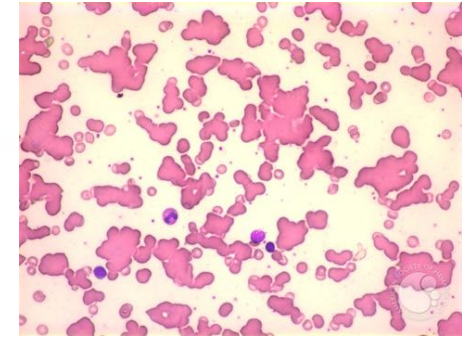
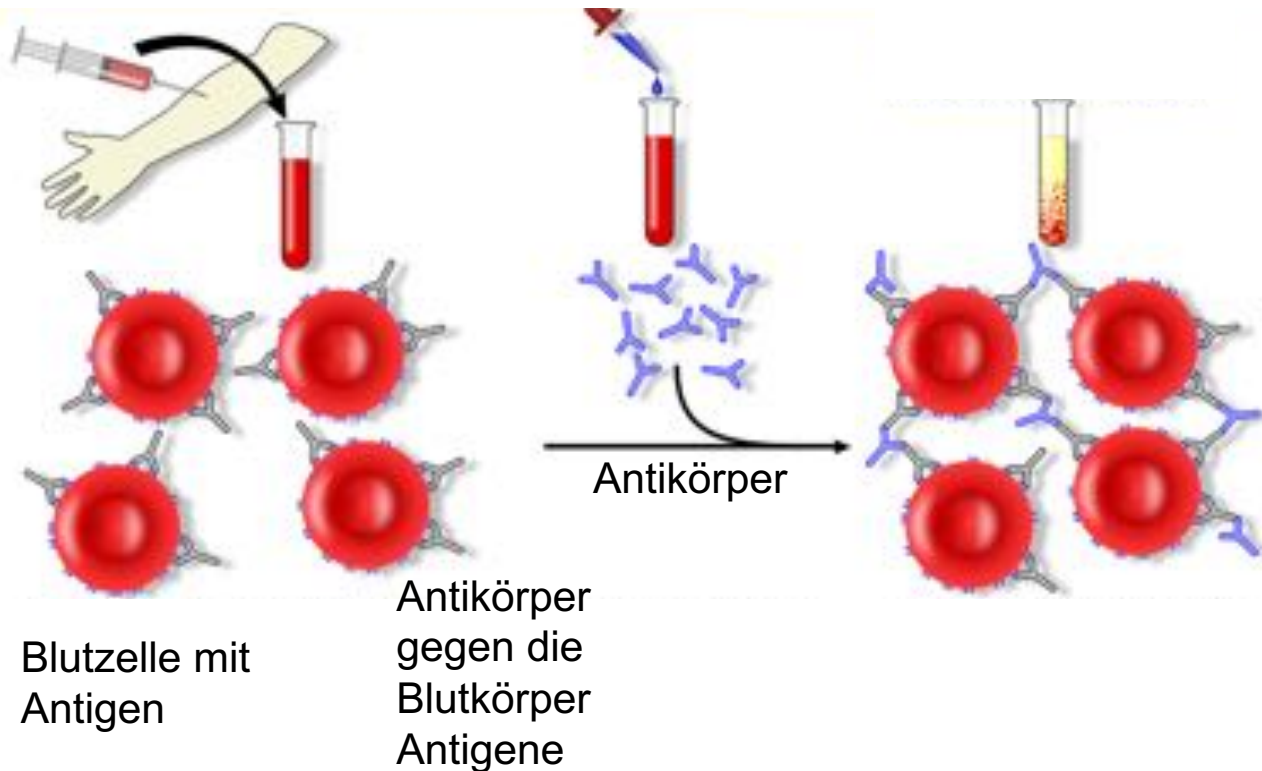
	Group A	Group B	Group AB	Group O
Red blood cell type				
Antibodies in Plasma	 Anti-B	 Anti-A	None	 Anti-A and Anti-B
Antigens in Red Blood Cell	 A antigen	 B antigen	 A and B antigens	None

Bild: <http://www.wiki.com>

# Das AB0 Blut-Typisierungssystem

## Coombs-Test:



<http://hematology.org>

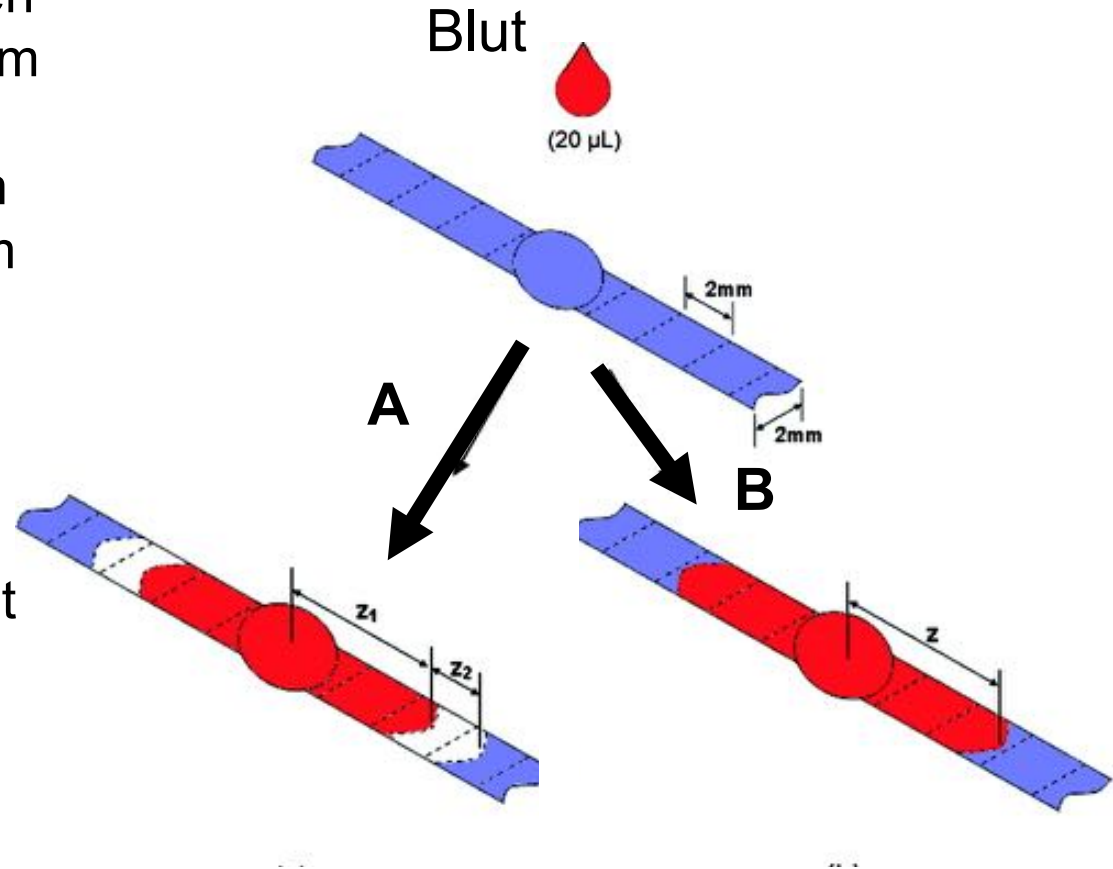
Resultat: Agglomeration (Verdickung)



# Das AB0 Blut-Typisierungssystem

Khan et al. Anal.Chem. 2012



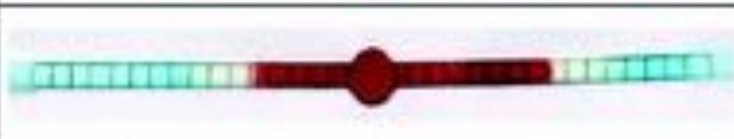
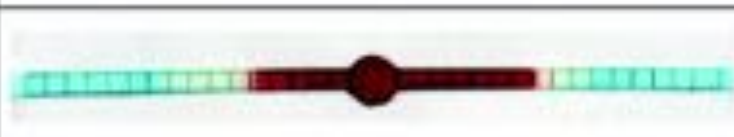

- A)**
- Blutzellen interagieren mit Antikörper auf dem  $\mu$ PAD
  - Zellen agglomerieren und trennen sich vom Plasma
- B)**
- Blutzellen interagieren **nicht** mit Antikörper auf dem  $\mu$ PAD
  - Zellen und Plasma fließen gleich schnell





# Das AB0 Blut-Typisierungssystem

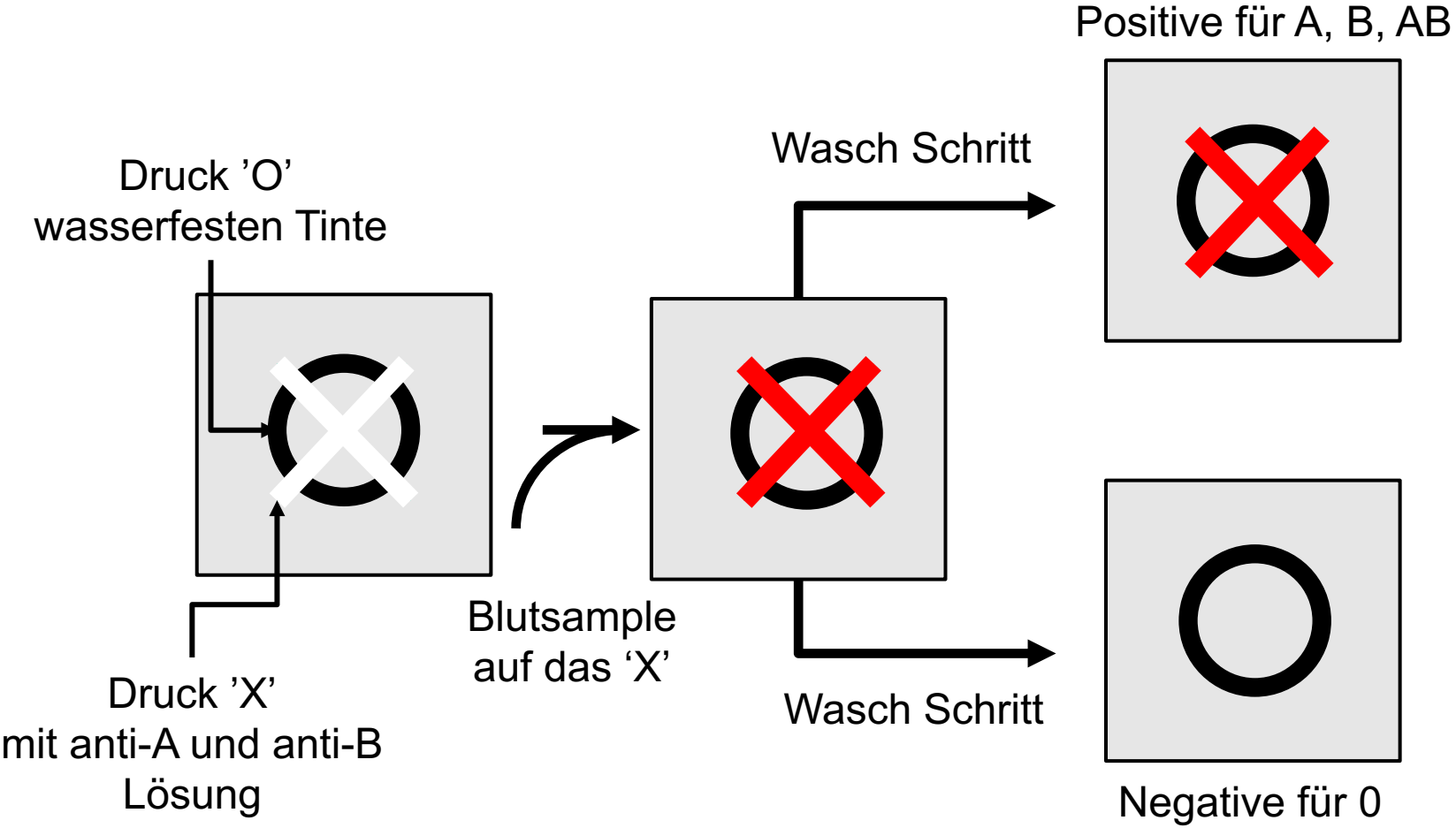
Auf dem  $\mu$ PAD:

Anti-A Konzentration auf dem $\mu$ PAD	'AB+' Blutgruppe auf dem $\mu$ PAD
0.0 x	
0.2 x	
0.6 x	
0.8 x	
1.0 x	

# Programmierung von Papier



# Auf dem Papier "Schreiben"



# Auf dem Papier "Schreiben"



Einfach und eindeutig.

# Resümee

---

1. Aus was besteht Papier?
2. Welche zwei Flußregime gibt es auf dem Papier?
3. Wie können wir Fluß auf Papier steuern?
4. Wie können Blutgruppen auf einem  $\mu$ PAD nachgewiesen werden?