

Mikrofluidisches Analysesystem
zur Untersuchung
von wässrigen Lösungen

der Fakultät für Elektrotechnik und Informationstechnik

der

Universität Dortmund

vorgelegte

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Ingenieurwissenschaften

von

Dipl.-Ing. Dirk Siepe

Dortmund

Juli 2003

Kurzfassung

In Zeiten immer strenger werdender Auflagen für die industrielle Abwasserentsorgung, gestiegene Qualitätskontrollen in Lebensmitteln und ein stark gestiegenes Umweltbewusstsein, ist es erforderlich, Analysegeräte zur Verfügung zu stellen, mit deren Hilfe schnell, genau und preiswert Analysen durchgeführt werden können.

Diese Arbeit hatte die Entwicklung eines mikrofluidischen Analysengerätes auf Polymerbasis zum Ziel. Die Detektion wird sowohl elektrisch/elektrochemisch als auch optisch realisiert. Als Trennverfahren kommen die Kapillarelektrophorese (CE) und die Isotachophorese (ITP) zum Einsatz.

Die einzelnen Prozessschritte wurden im Labormaßstab erprobt und anschließend größtenteils für die Großserie umgesetzt. Die Leistungsfähigkeit dieser Mikrofluidik-Chips wurde durch Forschungseinrichtungen und einen industriellen Partner unter Beweis gestellt. Mehrere im Rahmen dieser Promotion erarbeitete Verfahrensschritte wurden zum Patent [[PAT-01](#), [PAT-02](#), [PAT-03](#)] angemeldet.

Abstract

Fast, exact and cheap analytical devices for environmental control, food analysis, industrial water control and control of drink water are getting more and more important in times of restrictions for industry and a higher consciousness for our environment.

In this work the development of a microfluidic analytic plastic device was the main aim. The detection methods should enclose electrical, electrochemical and optical methods. Capillary electrophoresis and isotachophoresis are the methods for separation.

All steps of production were developed and tested in laboratory scale and most of the steps were up scaled to mass production. The power of these devices was proved by research institutes and by an industrial partner. Most of the productions steps are registered for patents [[PAT-01](#), [PAT-02](#), [PAT-03](#)].

Inhaltsverzeichnis

Danksagungen.....	v
Abkürzungsverzeichnis	vii
1. Einleitung	1
1.1 Stand der Technik	4
1.1.1 Mikrofluidische Analyse-Chips	5
1.1.2 Lab-on-a-Chip	7
1.1.3 Nachweisverfahren der Mikroanalytik	8
1.2 Anwendungen	10
1.3 Aufbau und Gliederung	12
2. Theoretische Grundlagen für die Mikroanalytik	14
2.1 Mikrofluidik	15
2.2 Flüssigkeitstransport	17
2.3 Trennverfahren.....	20
2.3.1 Kapillar-Elektrophorese (CE)	20
2.3.2 Isotachophorese (ITP)	24
2.3.3 Mehrstufige Trennverfahren	27
2.4 Elektrische und elektrochemische Detektionsmethoden	29
2.4.1 Amperometrie.....	29
2.4.2 Leitfähigkeit.....	30
3. Substratherstellung.....	32
3.1 Prägestempelherstellung: Übersicht.....	32
3.2 Design	33
3.3 Prägestempelherstellung durch Mikrofräsen	35
3.4 Prägestempelherstellung durch Dicklacktechnik und Galvanik.....	37
3.4.1 Praktische Durchführung der Dicklacktechnik	41
3.4.2 Qualität und Reproduzierbarkeit der Dicklacktechnik.....	45
3.4.3 Galvanische Abformung	46
3.5 Abformung.....	48
3.6 Auswertung	52

4.	Deckelherstellung.....	56
4.1	Metallisierung.....	56
4.1.1	Theoretische Grundlagen.....	57
4.1.2	Problemdarstellung.....	59
4.1.3	Adhäsionsverbesserung.....	60
4.2	Mikrostrukturierung durch Lift-Off Verfahren.....	62
4.2.1	Qualitätskontrolle.....	68
4.2.2	Alternative Verfahren der Mikrostrukturierung.....	70
5.	Bonding.....	71
5.1	Theoretische Grundlagen.....	71
5.2	Problemdarstellung.....	75
5.3	Technische Realisierung.....	77
5.4	Auswertung.....	81
6.	Analytik mit elektrischer Detektion.....	85
6.1	Messplatzaufbau.....	86
6.2	CE-Trennung.....	88
6.2.1	Amperometrische Detektion.....	89
6.2.1.1	Messprinzip.....	89
6.2.2	Leitfähigkeitsmessung (Conductometrie).....	91
6.2.2.1	Messprinzip.....	91
6.2.2.2	Elektrodenentwurf.....	93
6.3	ITP-Trennung.....	97
6.3.1	Messprinzip.....	97
6.4	Performanceabschätzung.....	98
7.	Optische Detektion mit integrierten Lichtwellenleitern.....	100
7.1	Realisierungsmöglichkeiten.....	100
7.2	Wellenleiterherstellung.....	103
7.3	Alternative Verfahren.....	106
7.4	Analytik mit optischen Detektionsverfahren.....	108
7.5	Lösungsabschätzung.....	110

8.	Zusammenfassung und Ausblick	112
8.1	Zusammenfassung	112
8.2	Ausblick	114
	Literaturverzeichnis	115

Danksagungen

Die vorliegende Arbeit entstand in den Jahren 1998 bis 2002 am Arbeitsgebiet Mikrostrukturtechnik der Fakultät für Elektrotechnik und Informationstechnik der Universität Dortmund bei Herrn Prof. Dr.- Ing. Andreas Neyer im Rahmen eines Industrieprojektes mit der Firma Merck KGaA, Darmstadt und der Bio-Gen-Tec Initiative NRW. Diesen sei hier für die finanzielle Unterstützung gedankt.

Herrn Prof. Neyer danke ich für die interessante Themenstellung, die freundliche Betreuung und die ständige Begleitung der vorliegenden Arbeit durch zahlreiche Gespräche und Anregungen.

Herrn Prof. Dr.-Ing. Goser danke ich für die Übernahme des Koreferats,

Herrn Dr. Matthias Jöhnck für die immer fruchtbare Zusammenarbeit zunächst am Arbeitsgebiet Mikrostrukturtechnik und später als Mitarbeiter der Merck KGaA,

Herrn Dr. Stanislawski stellvertretend für die Microfluidics Gruppe bei Merck KGaA,

all meinen Kollegen am Arbeitsgebiet Mikrostrukturtechnik und am Lehrstuhl Hochfrequenztechnik (Prof. Voges) für die anregenden Gespräche, die immerwährende Unterstützung und das freundschaftliche Verhältnis. Insbesondere möchte ich an dieser Stelle Axel Rudzinski, Markus Fleger und Matthias Maluck (Arbeitsgruppe Mikrofluidik), Erik Rabe und Björn Wittmann (Galvanik), Stefan Lehmacher und Stefan Kopetz (Abformtechnik), Markus Teepe (Fotolithografie), sowie Oliver Kaiser, Won Jong Kang, Martin Hoffmann, Dirk Nüsse, Peter Kopka, Michael Kahl, Dirk Culemann, Maxim Fadel und Robert Stonies erwähnen.

Mein besonderer Dank gilt auch den Studien- und Diplomarbeitern Björn Callsen, Andreas Heckmann, Benjamin Bauer und Stefan Strüwing, die wichtige Beiträge zu dieser Arbeit geleistet haben.

Iris Spengler, Petra Sauerland, Petra Pottgießer, Hans-Georg Scholz, Werner Grunwald sowie den Mitarbeitern der mechanischen Werkstatt, vor allem Peter Glatzel, danke ich für die reibungslose Zusammenarbeit und tatkräftige Unterstützung.

Den Mitarbeitern des ISAS (Institut für Spektrochemie und angewandte Spektroskopie), insbesondere Herrn Dr. Roland Hergenröder, Herrn Dr. Benedikt Grass, Herrn Dr. Günter Weber, Herrn Oliver Vogt und Frau Silke Homann danke ich für die durchgeführten Analysen und den regen Informationsaustausch.

Ich danke meiner Familie und meinen Freunden, die mich immer unterstützt und motiviert haben.

Abkürzungsverzeichnis

μTAS:	Mikro Total Analysis System
AG MST:	Arbeitsgebiet Mikrostrukturtechnik, Fak. ET/IT der Universität Dortmund
CE:	Kapillar Elektrophorese (Capillary Electrophoresis)
COC:	Copolymer Topas
DNA	Genetischer Code
DIN	Deutsches Institut für Normung e.V.
EOF:	Elektroosmotischer Fluss
ESI	Electro-Spray-Injection
HMDS:	Hexamethyldisiloxan
HV:	Hochspannung (engl.: High Voltage)
IR:	Infrarot, Wellenlänge zwischen 980 und 2500 nm
ISAS:	Institut für Spektrochemie und angewandte Spektroskopie
ITP:	Isotachophorese
LOD:	Limit of Detektion (Detektionslimit)
MS	Massenspektrometrie
nl	Nanoliter (10^{-9} l)
PC:	Polycarbonat
PDMS:	Polydimethylsiloxan
PMMA:	Polymethylmethacrylat (Plexiglas [®])
UV:	Ultraviolett, Wellenlänge zwischen 150 und 320 nm
VE- Wasser	Voll Entsalztes Wasser
VIS:	sichtbarer Bereich (engl.: visible) Wellenlänge zwischen 230 und 980 nm

1. Einleitung

In den letzten Jahren ist die Nachfrage nach schnellen und preiswerten analytischen Messverfahren, wie sie mit Hilfe von mikrostrukturierten Analysegeräten durchgeführt werden können, erheblich gestiegen. Die Steigerungsraten für diesen Bereich werden in verschiedenen Marktstudien als überdurchschnittlich hoch eingeschätzt (s. Tab. 1.1). Dies ist zum einen auf ein gesteigertes Umweltbewusstsein und zum anderen auf eine Sensibilisierung der Bevölkerung in Bezug auf Trinkwasser und Lebensmittelqualität zurückzuführen. Hier seien auch auf die Bedrohung durch terroristische Anschläge [[NAN-02](#)] und den Weinskandal in den späten achtziger Jahren verwiesen [[DON-99](#)]. Eine weitere Anwendung ist die Entschlüsselung des menschlichen Genoms (DNA Sequenzierung), welches auch zur Verbrechensbekämpfung eingesetzt wird [[KAY-97](#), [POL-02](#), [GID-99](#), [HMJ-02](#)]. Weiterhin werden mikrofluidische Analysensysteme für den biomedizinischen Bereich (Proteomics) und den pharmazeutischen Bereich (Medikamentenentwicklung, kombinatorische Bibliotheken) benötigt [[LIN-01](#), [CAL-02](#), [FLU-02](#), [MIC-02](#), [ORC-02](#)].

Quelle	Markt	Marktvolumen in Mio. USD	Zukünftiges Marktvolumen	Steigerungs- Rate (%)
Lehmann Brothers 1997	BioMEMS		23.000 (2004)	
NEXUS Studie 1998	Lab-on-a-chip	0	1.000 (2002)	
BioInsight 1999	Biochips	11	157 (2005)	33
Frost & Sullivan	Biochips	40	6.300 (2005)	48
MarktIntel 1999	Blut-Analyse		540 (2003)	
System Planning Co.	μ -Fluidik		2.600-4.600 (2003)	25-33
Biotechcoverage.com	Biochips	2150	10.000 (2004)	

Tabelle 1.1: Marktstudien μ -Fluidik-Chips [[BEC-02](#)]

Entscheidend bei all diesen Anwendungen ist, dass sie mit herkömmlichen Analysemethoden nur sehr zeitintensiv durchzuführen sind (DNA Sequenzierung) [[KUT-00](#)] oder aufgrund des hohen benötigten Probenvolumens gar nicht durchgeführt werden können. Erst durch den Einsatz von mikrostrukturierten Analyseeinheiten (s. Abb. 1.1) ist es sinnvoll möglich, solche Messungen durchzuführen. Während vor einigen Jahren die kriminalistische Auswertung von Genproben noch eine Frage von Tagen war, ist es heute mit multiparallelen Analysewerkzeugen in einigen Stunden möglich [[AMS-02](#)]. Durch die erheblich geringere Probenmenge die bei mikrostrukturierten Analyseeinheiten benötigt wird, kann eine Unter-

suchung auch bei geringsten Mengen sichergestellter Proben durchgeführt werden und der Bedarf an teuren Markierstoffen kann stark reduziert werden oder diese können je nach verwendeter Detektionsart sogar ganz entfallen.



Abb. 1.1: Mikrostrukturierter Analysechip mit Fluidikstrukturen, Elektroden und Reservoiröffnungen [[CAL-01](#)]

Eine andere Anwendung lässt erkennen, dass der Zeitfaktor in unserer Gesellschaft immer wichtiger wird. Die Abwasserkontrolle in modernen Industriebetrieben kann aufgrund der vorhandenen Messmethoden nur einmal pro Stunde durchgeführt werden. Durch eine Kaskadierung der Klärwerke ist es zwar möglich, einen Störfall der innerhalb dieser Stunde aufgetreten ist zu lokalisieren, jedoch ist der Schadensfall dann bereits eingetreten. Stellvertretend seien hier Störfälle bei den Chemieunternehmen Sandoz (1986) in Basel und BASF in den 80ern und 90ern genannt. Mit mikrofluidischen Analysegeräten, wie sie während dieser Arbeit entwickelt wurden, ist eine quasikontinuierliche Messung der Abwässer möglich und somit eine drastische Reduzierung von Umwelt belastenden Stoffen in Aussicht gestellt.

Die Einsatzmöglichkeiten gerade im Bereich der Life-Science sind hier noch gar nicht absehbar [[NAN-02](#)]. Durch die DNA-Sequenzierung und einen möglichen Einsatz in der Akut-Diagnostik ist eine effektivere Behandlung von Krankheiten denkbar [[REG-99](#), [COL-97](#)]. Somit ist z.B. eine gezieltere Medikamentierung mit speziellen Antibiotika möglich und auf einen Einsatz von Breitbandantibiotika mit den Nachteilen der erhöhten Nebenwirkungen und der Resistenz vieler Virenstämme gegen die Wirkstoffe kann verzichtet werden.

Aus diesen Gründen sind in den letzten Jahren erhebliche Anstrengungen unternommen worden, um Analysegeräte zu entwickeln, die mit wenigen nl Probe auskommen, schnelle

Resultate ermöglichen und über eine einfache und damit handhabungssichere Technik verfügen [KUT-00]. Dies meint z.B., dass das Anlegen einer Spannung an einen Kanal erheblich einfacher zu integrieren ist, als das Anlegen einer Druckdifferenz, wie es bei einer Chromatographie nötig ist, da keinerlei bewegliche Teile wie Pumpen oder Ventile benötigt werden.

Um diesen gestiegenen Bedarf an Analyseeinheiten (Chips) decken zu können, ist es erforderlich große Stückzahlen preiswert herstellen zu können. Hierbei ist eine gute Reproduzierbarkeit der Fluidikstrukturen und eine Umsetzung auf eine maschinelle Fertigung eine Grundvoraussetzung. Für Plastik sind solche Herstellungsprozesse beherrschbar und etabliert [KAL-01]. Durch Abformprozesse wie Heißprägen oder Spritzguss sind die Substrate in großen Stückzahlen produzierbar. Hierbei sind Abformgenauigkeiten von wenigen μm über eine Fläche von mehreren cm^2 realisierbar [KAL-01, SIE-98, MIC-02].

Problematisch stellt sich die Herstellung entsprechender Vorformen für diese Replikationsprozesse, die strukturierte Metallisierung im μm Bereich von Kunststoffen, insbesondere Platin auf PMMA und die flüssigkeitsdichte Verklebung von mehreren Komponenten dar. Die dieser Arbeit zugrunde liegenden Forschungen betrafen hauptsächlich die o. g. Punkte. Für die einzelnen Teilaufgaben konnten Lösungen entwickelt werden und zu einem Mikrosystem zusammengefügt werden. Dieses System umfasst ein mikrostrukturiertes Substrat, einen mikrostrukturiert metallisierten Deckel und eine flüssigkeitsdichte und justierte Verbindung beider Komponenten. Somit konnten mikrofluidische Bauteile für die Ionenanalytik mit den Verfahren der Isotachophorese (ITP s. Abb. 1.2) [GRA-01] und Kapillarelektrophorese [SIE-00] (CE s. Abb. 1.16) realisiert werden.

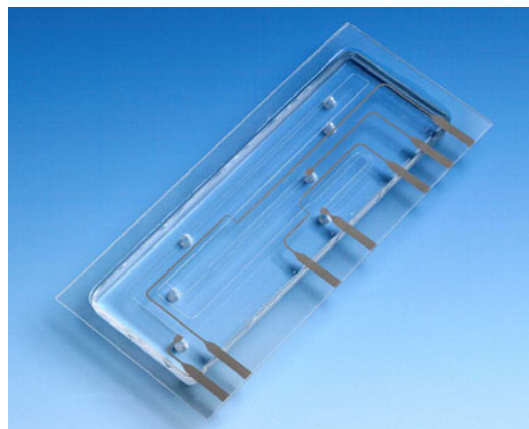


Abb. 1.2: Plastikchip für die ITP

1.1 Stand der Technik

In den letzten Jahren ist die Zahl der Forschungsgruppen, die sich mit mikrofluidischen Analysegeräten beschäftigen, sprunghaft gestiegen. Dies ist auch an der Zahl der Veröffentlichungen und Herausgabe neuer Magazine abzulesen. So ist im September 2001 ein neues Journal mit dem Titel „Lab-on-a-Chip“ veröffentlicht worden, ein weiteres Magazin „Sensors & Actuators B“ beschäftigt sich ebenfalls schwerpunktmäßig mit mikrostrukturierter Analysetechnik.

Die Mehrzahl dieser Gruppen beschäftigt sich mit der Entschlüsselung des menschlichen Genoms [[SWA-00](#), [LEE-01](#), [LAG-00](#), [DIN-98](#)]. Für diesen Sektor hat die Firma Caliper ein erstes komplettes Analysesystem auf den Markt gebracht (s. Abb. 1.3) [[CAL-01](#)].



Abb. 1.3: Caliper DNA-Sequenzierung Laboratory [[CAL-01](#)]

Die hierbei verwendete Detektionstechnik ist die Fluoreszenzdetektion, die den optischen Messverfahren zugeordnet werden kann.

Weitere Schwerpunktthemen der kommerziellen mikrofluidischen Analytik sind die klinische Forschung, zu der auch der Bereich der Proteomics (Proteinanalyse) gehört und die „in-vitro“ Diagnose, dies sind Untersuchungen, die direkt im Körper durchgeführt werden. Weitere Gebiete sind die „Bio Defence“ – z.B. Abwehr von terroristischen Anschlägen auf Talsperren -, Animal – Food – Environment Analyse und die Forensic (gerichtsmedizinische Untersuchungen) [[NAN-02](#)]. Die hier entwickelten mikroanalytischen Chips sind dem Bereich der Lebensmittelanalyse zuzuordnen, da es sich um Bereiche der Ionenanalytik handelt.

Im Folgenden werden die unterschiedlichen Ansätze für die Mikrofluidik-Chips für den Bereich der Ionenanalytik gegenübergestellt.

1.1.1 Mikrofluidische Analyse-Chips

Das am häufigsten in der Ionenanalytik eingesetzte Trennverfahren ist die Kapillarelektrophorese (CE). Hierbei werden die verschiedenen Ionenarten durch Anlegen eines elektrischen Feldes auf Grund ihrer spezifischen Ladung und Größe getrennt (s. Kapitel 2.1). Neben der CE ist die Isotachophorese (ITP) ein wichtiges Trennverfahren in der Analytik. Die Hauptunterschiede zwischen den einzelnen Lösungsansätzen liegen in der Materialwahl, dem Detektionsverfahren, dem Flüssigkeitstransport und dem Design.

Glaschips

Das am häufigsten verwendete Material für CE-Chips ist Glas. Dies wird nasschemisch geätzt und anschließend thermisch oder anodisch gebondet [FAN-02, GUI-01]. Glas ist als Werkstoff chemisch inert, d.h. Glas wird durch die zu untersuchende Flüssigkeit nicht angegriffen. Zudem ist Glas einfach flüssigkeitsdicht zu verkleben und weiterhin optisch transparent. Als Nachteil kann sicherlich die relativ teure Herstellung der Substrate angesehen werden. Die Kosten für solch einen Chip liegen bei ca. 200 USD [MIC-01]. Neben dem Einsatz in der Ionenanalytik kommen Glaschips hauptsächlich in der DNA-Analyse zum Einsatz. Die ersten Glaschips wurden im Jahr 1990 in der Literatur erwähnt [MAN-90]. Die auch heute noch verwendete Kreuzstruktur wurde ebenfalls in diesem Zusammenhang zuerst erwähnt (s. Abb. 1.4) [JAC-94].

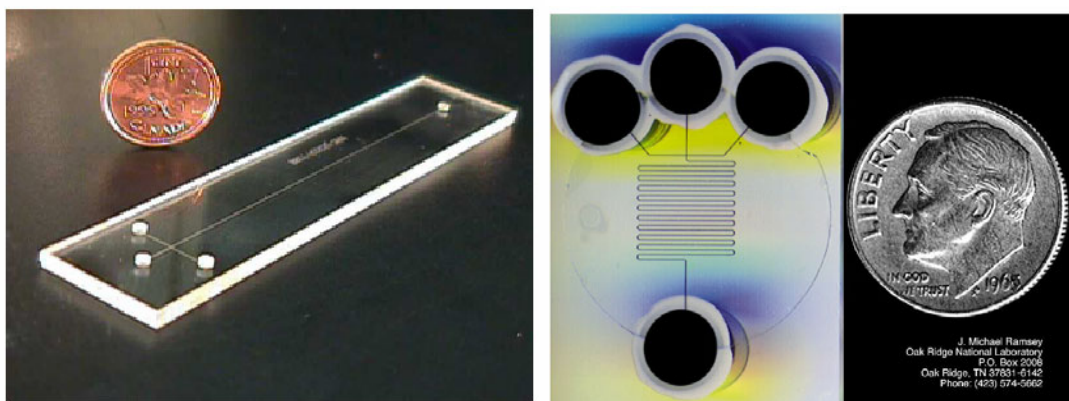


Abb. 1.4: Glaschips für die Ionenanalytik [MIC-01, RAM-00]

PDMS-Chips

Als kostengünstige Methode, Prototypen herzustellen, kann das relativ neue Verfahren der PDMS Strukturierung angesehen werden [COO-01, COO-02, DUF-98]. Hierbei wird das PDMS über eine Vorform, wie sie auch zur Kunststoffstrukturierung eingesetzt wird gegossen und härtet dort aus (s. Abb. 1.5 a)). Das Bonden von PDMS ist mit Hilfe von Plasma-behandlung einfach zu realisieren. PDMS ist zudem in den relevanten Wellenlängenbereichen hoch transparent (s. Abb. 1.5 b)).

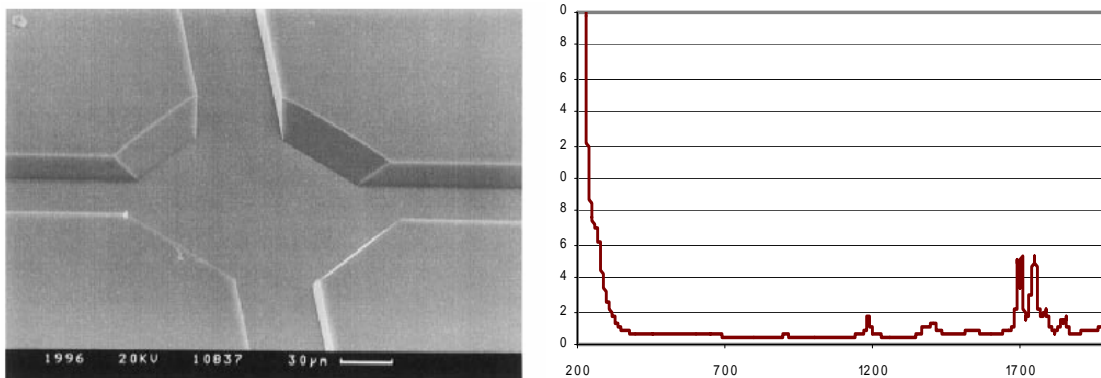


Abb. 1.5: a) PDMS Bauteil mit 50 µm Strukturbreite und 20 µm Tiefe, die schrägen Flanken kommen vom anisotropen nasschemischen Ätzen der Silizium-Vorform.
b) Transmissionskurve PDMS [COO-01]

Kunststoff-Chips

Die dritte Klasse von Mikrofluidik-Chips sind die Chips aus Kunststoff, wie sie auch in der vorliegenden Arbeit entwickelt wurden (s. Abb. 1.6). Der Hauptvorteil der Kunststoff-Chips liegt in der kostengünstigen Massenfertigung durch Abformprozesse. Durch extrem reproduzierbare Ergebnisse [KAL-01] kann das Hauptaugenmerk auf die Herstellung einer hochpräzisen Vorform gelegt werden.

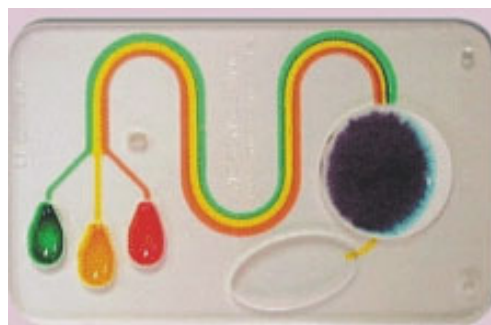


Abb. 1.6: Kunststoffchip für die Mikrofluidik [MIC-02]

Nachteile bei den Kunststoffen liegen in den weiteren Verarbeitungsprozessen wie dem zerstörungsfreien, justierten Kleben und dem mikrostrukturierten Metallisieren mit chemisch inerten Metallen. Mittlerweile gibt es verschiedene Forschungsgruppen, die den Vorteil von Kunststoff-Chips erkannt haben [[MIZ-02](#), [GRE-01](#)].

1.1.2 Lab-on-a-Chip

Der Lab-on-a-Chip Ansatz verfolgt den Gedanken der Mikrosystemtechnik am konsequentesten. Hier ist nicht nur der Analysechip, sondern teilweise auch das komplette Umfeld (Anschlusstechnik, Auswertelektronik) auf dem Chip bzw. auf der gleichen Plattform integriert [[KUT-00](#)]. Ein Beispiel für diesen Gedanken ist in Abbildung 1.7 zu erkennen. Im linken Teil befindet sich der Analytikchip mit den Fluidikkanälen, auf der rechten Seite ist die Elektronik für diese Einheit untergebracht. Ziel der Forschungen ist es hier jedoch, das Umfeld wesentlich kleiner zu gestalten, so soll z.B. die Energieversorgung erheblich verkleinert werden und die Anschlusstechnik zur Außenwelt durch Systeme wie PCMCIA erfolgen.

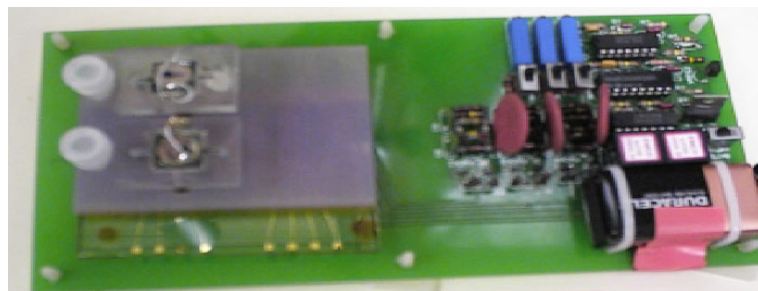


Abb. 1.7: Beispiel für ein Lab-on-a-Chip System [[YUE-02](#)]

Bei diesen Systemen wird großer Wert darauf gelegt, dass einzelne Komponenten wie das Fluidiksystem separat getauscht werden können. Im Gegensatz zur Elektronik muss dieses nach etwa hundert Messungen ausgetauscht werden. Andere Gruppen integrieren die Elektronik nicht auf den Chip, sondern entwickeln separat die weiteren Komponenten [[PAI-02](#)], wie dies auch zu dieser Arbeit geschehen ist.

1.1.3 Nachweisverfahren der Mikroanalytik

Neben der reinen Herstellungstechnologie ist das verwendete Detektionsverfahren zum Ionennachweis entscheidend für die Funktion des Analysegerätes und dessen Aufbau. Durch die Verwendung von integrierten Detektionselektroden ist beispielsweise kein thermisches Bonden mehr möglich, da ansonsten die Elektroden zerstört würden. Durch das gewählte Detektionsverfahren wird teilweise auch das Einsatzgebiet der jeweiligen Analyseeinheiten festgelegt, da bei der Fluoreszenzdetektion nur fluoreszierende Stoffe detektiert werden können. Im Folgenden wird auf die unterschiedlichen Detektionsverfahren im Bereich der mikrofluidischen Analytik eingegangen.

Elektrische Detektion

Da sich verschiedene Ionen in ihrer elektrischen Leitfähigkeit unterscheiden, liegt es nahe, diese durch eine Leitfähigkeitsmessung zu detektieren. Das Detektionslimit ist mit 10^{-15} mol eher gering, reicht jedoch für viele Messungen vollkommen aus [[GUI-01](#)]. Der Vorteil dieses Detektionsverfahrens liegt darin, dass die Detektion im Hochspannungsfeld durchgeführt wird und durch die Verwendung einer Wechselspannung keine Umsetzung an den Elektroden erfolgt. Andererseits kann durch in den Chip integrierte Elektroden ein aufwendiger Messaufbau wie bei der Fluoreszenzdetektion entfallen. Dies ist gerade bei einem portablen Einsatz vorteilhaft.

Elektrochemische Detektion

Neben der elektrischen Detektion, die die reine Leitfähigkeit der Ionen misst, wird bei der elektrochemischen Detektion (Amperometrie) die Umsetzung der verschiedenen Ionen an den Elektroden – ähnlich einer Batterie – gemessen. Das Detektionslimit für die Amperometrie ist mit 10^{-18} mol besser als bei der Leitfähigkeitsmessung, die Messung kann jedoch einerseits nicht im Hochspannungsfeld erfolgen und andererseits entsteht an der Kathode Wasserstoff, der den Kanal verstopfen und damit die Messung zerstören kann. Trotz dieser Probleme beschäftigen sich einige Forschergruppen mit dieser Detektionsmethode [[FEN-01](#), [FU-00](#), [VOE-97](#), [WAN-00](#)]. Während dieser Forschungsarbeit sind verschiedene Ansätze zur Amperometrie entstanden, die jedoch nicht reproduzierbar und damit einsetzbar waren.

Optische Detektion

Um Probleme bei der Detektion in Bezug auf eine chemische Umsetzung an den Detektionselektroden zu vermeiden, kann die Detektion auch optisch durch Absorptions- oder Fluoreszenzmessung erfolgen [COL-01, CHI-97, TSU-00]. Nachteilig ist jedoch, dass die Wellenleiter für die Detektion bisher nicht integriert realisiert werden konnte, sondern ein zusätzlicher Aufbau notwendig war. Der Begriff μ TAS ist sicherlich zumindest fraglich, wenn der optische Aufbau zur Detektion auf konventionelle Aufbauten zurückgreift und damit auch in der Größe limitiert ist. Durch die Integration der Wellenleiter in den Fluidikchip, ist jedoch eine Miniaturisierung möglich (s. Abb. 1.8). Erste Erfolge wurden auch in diesem Bereich erzielt, es liegt jedoch noch eine Menge Potential in diesem Bereich, hauptsächlich in Bezug auf die Ankopplung und das Detektionslimit.

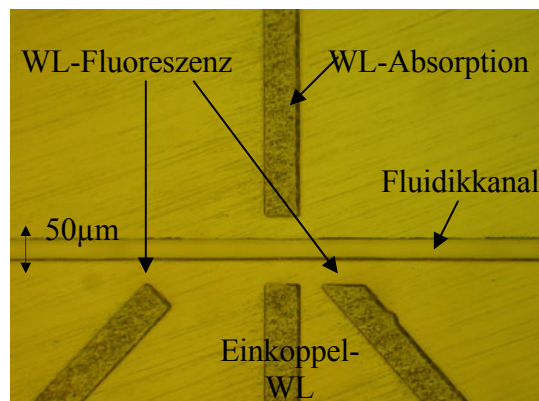


Abb. 1.8: Kombination Fluidikkanal/optischer Wellenleiter

Massenspektrometrie

Ist eine noch größere Messempfindlichkeit erforderlich, muss auf eine kombinierte Analyse zurückgegriffen werden. Ein Ansatz, der von mehreren Forschungsgruppen verfolgt wird, ist die Trennung auf dem Mikrofluidik-Chip mit anschließender Kopplung an ein Massenspektrometer (s. Abb. 1.9) [LIN-01, OLE-00]. Damit ist ein Detektionslimit von bis zu 10^{-17} mol möglich. Hauptvorteil dieser Methode ist jedoch, dass auch Informationen über die Struktur der Analyten erhalten werden. Ein weiterer Vorteil liegt darin, große Volumina, die für die Analyse jedoch nicht interessant sind, nicht in das Spektrometer einzubringen, sondern vorher auszuschleusen, was ein wichtiges Kriterium bei der Untersuchung von Proteingemischen ist.

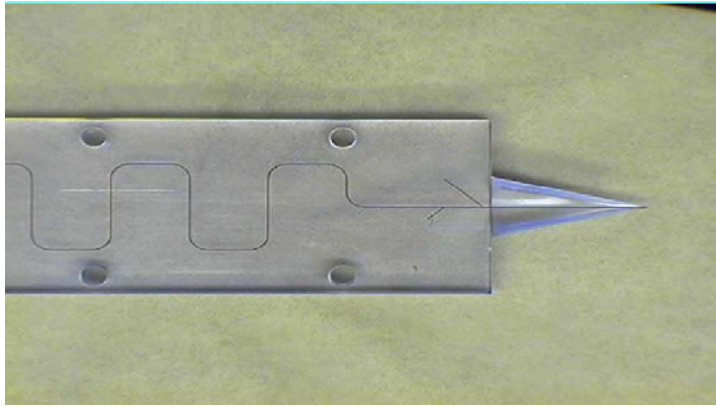


Abb. 1.9: Chip mit hybrider Kopplungsdüse für eine MS Detektion [[LIN-01](#)]

1.2 Anwendungen

Um die Bedeutung der mikrofluidischen Analytik nochmals zu verdeutlichen, werden einige exemplarische Anwendungen aufgeführt und daran die Vorteile der μ -TAS dargestellt.

Ein Haupteinsatzgebiet der mikrofluidischen Analytik liegt in der Analyse von DNA Fragmenten, hierbei spielt vor allem die Schnelligkeit und das geringe Probenvolumen eine Rolle. Hauptwerkstoff ist hierbei Glas [[WOO-97](#), [HAA-99](#)]. In der jüngeren Vergangenheit finden jedoch immer mehr Kunststoffsubstrate [[LIU-01](#)] bzw. PDMS-Substrate [[EFF-97](#)] Einzug in diesen Analysezeitweig. Um DNA-Fragmente detektieren zu können, ist es wünschenswert eine PCR (Polymer Chain Reaction), auf den Chip zu integrieren [[SFU-02](#)]. Hierzu sind Temperaturen von 47-55, 70-75 und 95° C erforderlich, die nicht von allen Werkstoffen ohne Deformation erreicht werden können ($T_{g, PMMA}$ 96° C) [[BEC-02](#)].

Ein zweites Einsatzgebiet ist die klinische Diagnostik. Hier sind preiswerte Einmalprodukte der Schlüssel zum Marktzugang, beispielhaft seien hier Blutzuckermessgeräte, Blutanalysegeräte und Lab-on-disc Systeme [[EHR-02](#)] erwähnt. Bei den Blutzuckermessgeräten erfolgt der Bluttransport über ein mikrofluidisches Bauteil und die Auswertung erfolgt über ein angeschlossenes Kompaktgerät (s. Abb. 1.10) [[ROC-02](#)]. Bei dem Blutanalysegerät beispielsweise von i-STAT erfolgt die Auswertung über ein klassisches Halbleitergerät, wogegen der Flüssigkeitstransport und die Dosierung mittels eines spritzgegossenen Polymerträgers bewerkstelligt werden [[IST-02](#)].



Abb. 1.10: Blutzuckermessgerät mit mikrofluidischem Bauteil [[ROC-02](#)]

Als dritte Anwendung sei hier das „Cell-handling“ erwähnt. Bei vielen biologischen Anwendungen ist es erforderlich, Zellen zu zählen und zu manipulieren. Um dies bewerkstelligen zu können, ist es erforderlich, dass sich Zellen und verwendete Fluidikstrukturen im gleichen Größenrahmen bewegen. Dies ist bei der Mikrofluidik mit Kanalquerschnitten von einigen μm gewährleistet [[BEC-02](#)].

Im Gegensatz zu den zuvor erwähnten Anwendungsfällen, gibt es auch Anwendungen, die keinen Fluss benötigen. Diese Klasse von Bauteilen stellen die vierte Gruppe der klassischen Anwendungen dar. Das häufigste Bauelement ist die „Nanowell“, eine miniaturisierte Mikrotiterplatte, die Flüssigkeitsmengen liegen bei einigen pl-nl [[BEC-02](#)]. In diesem Fall werden Techniken der Mikrostrukturierung nicht dazu genutzt, komplexe Systeme zu schaffen, sondern reproduzierbare Geometrien zu erzeugen, die als Reservoirs für weitere Prozessschritte dienen. Speziell diese Gruppe ist prädestiniert für den Werkstoff Kunststoff, da hier hohe Stückzahlen zu niedrigen Preisen gefordert werden. Durch die Güte von Kunststoffabformungen [[KAL-01](#)] ist gewährleistet, dass die Strukturgenauigkeit im Promille-Bereich liegt.

Als fünfter Anwendungsfall ist hier die Lebensmittelanalytik zu nennen [[DON-99](#)]. Es können Kohlenhydrate, Proteine und Aminosäuren, Vitamine und andere Ionen detektiert werden [[GOT-00](#), [VOE-97](#), [EIS-97](#)]. Dies kann dazu eingesetzt werden, die Qualität von Lebensmitteln zu sichern (z.B. Weinanalytik), oder diese auf ihren Schadstoffgehalt hin zu untersuchen.

1.3 Aufbau und Gliederung

Die vorliegende Arbeit ist in acht Kapitel unterteilt, wovon das erste Kapitel einen kurzen Überblick über diese Arbeit gibt und sie in die aktuelle Forschung eingliedert. Daran schließt sich ein Kapitel mit den theoretischen Grundlagen über die mikrofluidische Analytik an.

Im dritten Kapitel wird die Vorformherstellung ausführlich dargestellt, die für die Herstellung der Substrate benötigt wird, die die Fluidikkanäle beinhalten. Während der hier vorgestellten Forschungsarbeiten wurden Vorformen aus Fotolack und mittels Mikrofräsen hergestellte Messingstempel verwendet.

In Kapitel vier wird das Herstellen der Elektrodendeckel mit den entsprechenden Herstellungsschritten dargestellt. Während dieser Arbeit wurde ein Verfahren entwickelt, Platin strukturiert und haftfest auf Kunststoffe aufzubringen. Diese Herstellungstechnik ist zusammen mit unserem Industriepartner zum Patent angemeldet worden [[PAT-01](#)] und im Oktober 2003 erteilt worden. Dieses Herstellungsverfahren ist zudem erfolgreich vom Labormaßstab auf die Großserie übertragen worden. Zum Ende dieser Arbeit sind zwei Serien mit Stückzahlen von 1.500 und 6.000 Einheiten realisiert worden.

In Kapitel fünf wird das strukturierte Verkleben von Substrat und Elektrodendeckel behandelt. Dieser Prozessschritt ist ein entscheidendes Kriterium für die Qualität der Mikrofluidik-Chips, da durch die Genauigkeit der Justage und die Dichtigkeit der Verklebung, die Messgenauigkeit maßgebend beeinflusst wird.

In Kapitel sechs werden beispielhaft Messungen dargestellt, die mit dem mikrofluidischen Analysensystem durchgeführt wurden. Zudem wird der Aufbau eines mikrofluidischen Messplatzes erläutert.

In Kapitel sieben wird die Optik am Chip behandelt. Dies umfasst die Wellenleiterherstellung, Einkoppelverfahren und alternative Verfahren.

In Kapitel acht wird die Arbeit zusammengefasst und ein Ausblick auf noch durchzuführenden Arbeiten gegeben.

Der prinzipielle Aufbau eines während dieser Arbeit entwickelten Analysechips ist in Abb. 1.11 dargestellt. Das Substrat beinhaltet die Fluidikkanäle und die Anschlussbohrungen, die als Reservoir für den Analyten, den Puffer und als Abfall dienen. Der dargestellte Elektrodendeckel beinhaltet die Elektroden für die verschiedenen Detektionsverfahren und evtl. Hochspannungselektroden, um den elektroosmotischen Fluss (EOF) anzuregen. Mittels Klebetechniken werden Substrat und Deckel justiert miteinander verbunden. Die Klebung muss flüssigkeitsdicht sein, darf aber gleichzeitig den Kanal nicht verschließen.

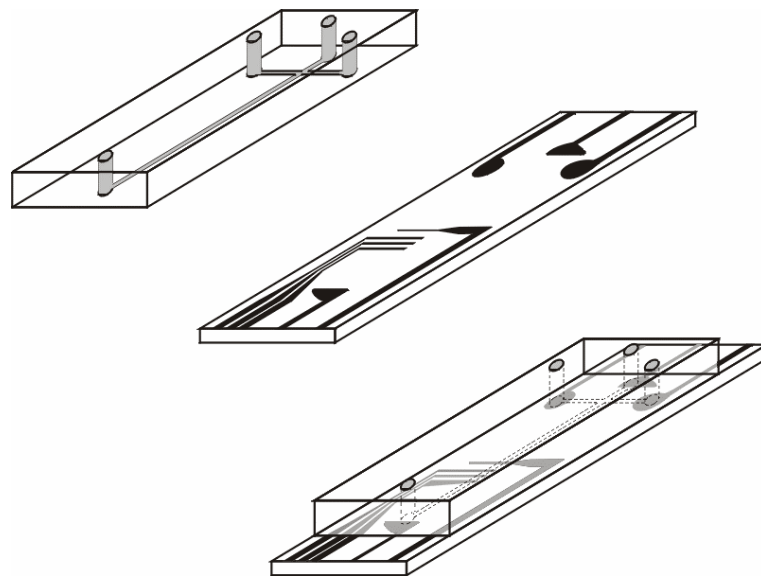
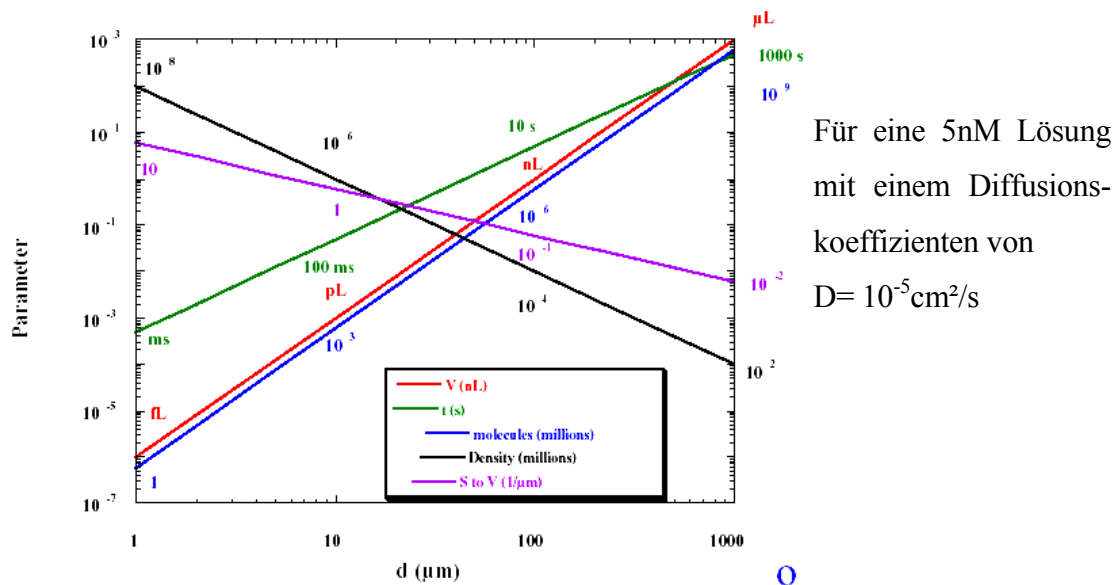


Abb. 1.11: Schematischer Aufbau eines mikrofluidischen Analysechips für die CE

2. Theoretische Grundlagen für die Mikroanalytik

In diesem Kapitel werden zunächst die Vorteile der Mikrofluidik gegenüber der klassischen Fluidik herausgearbeitet, die Gesetzmäßigkeiten für einen Flüssigkeitstransport und die verwendeten Transportmechanismen wie elektroosmotischer Fluss (EOF) und Diffusion dargestellt. Anschließend werden die verwendeten Trennmethode der Kapillarelektrophorese (CE) und der Isotachophorese (ITP) und die verwendeten Detektionsmethoden erläutert.

Die Voraussetzung für mikrofluidische Anwendungen ist das Verständnis der physikalischen Eigenschaften für miniaturisierte Systeme. Diese unterscheiden sich maßgeblich von makroskopischen Systemen. Die Skalierungsgesetze wurden eingehend durch Manz et al. untersucht [MAN-90, RAM-00]. Allgemein wird von Mikrofluidik gesprochen, wenn der Kanalquerschnitt unter einem Millimeter liegt.



Für eine 5nM Lösung
mit einem Diffusions-
koeffizienten von
 $D = 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$

Abb. 2.1: Geometrieabhängigkeit wichtiger Parameter bei der Mikrofluidik [RAM-00]

In Abbildung 2.1 sind die für eine Analytik wichtigen Parameter wie Analytenverbrauch (V), Analysezeit (t), Anzahl der Moleküle, Dichte der Moleküle und das Verhältnis Oberfläche zu Volumen (S to V) in Abhängigkeit vom Kanaldurchmesser angegeben. Hieran wird deutlich, dass mit steigendem Querschnitt – also mit geringerer Miniaturisierung – die Messdauer, der Analytenverbrauch und die Anzahl der Moleküle stark ansteigen, gleichzeitig die Dichte und das Oberflächen/Volumenverhältnis sinken. Das bedeutet, dass bei einer Miniaturisierung zwar die absolute Anzahl der Moleküle sinkt, jedoch die Dichte und damit ihre Detektier-

barkeit steigt, allerdings auch, dass die Miniaturisierung nicht über alle Grenzen fort geführt werden kann, da ansonsten die Anzahl von detektierbaren Molekülen in einem Volumenabschnitt gegen Null läuft.

Neben diesen mathematisch/physikalischen Skalierungsgesetzen muss für Mikrokanäle die Strömungsmechanik beachtet werden.

2.1 Mikrofluidik

Die Durchflussrate [$\mu\text{l}/\text{min}$] stellt für jedes fluidische System eine maßgebliche Größe dar. Sie ist von der Fließgeschwindigkeit v [m/s] der Flüssigkeit und dem Kanalquerschnitt [mm^2] abhängig. Die Fließgeschwindigkeit wiederum hängt von der Viskosität und bei Mikrosystemen auch von Oberflächeneffekten ab. Diese Oberflächeneffekte lassen sich vereinfacht als Reibungskraft zusammenfassen, wenn die Viskosität mit der Trägheitskraft gleichgesetzt wird. Der Quotient aus Trägheitskraft und Reibungskraft wird Reynoldszahl genannt. Die Reynoldszahl charakterisiert die Tendenz einer Flüssigkeit sich turbulent oder laminar zu entwickeln (2.1).

$$\text{Re}^* = \frac{vd\rho}{\eta} \quad (2.1)$$

Hierbei ist ρ [kg/cm^3] die Dichte, η [$\text{kg}/\text{m}\cdot\text{s}$] die Viskosität, d [m] der Durchmesser der Kapillaren und v [m/s] die Fließgeschwindigkeit. Der Wert von Re^* , bei dem eine laminare in eine turbulente Strömung umschlägt, wird kritische Reynoldszahl genannt und hängt von der Geometrie des Kanals ab. Für eine gerade Röhre liegt dieser Wert bei ca. 2100. Bei Beibehaltung aller Materialparameter wie Viskosität, Dichte und Fließgeschwindigkeit geht der Kapillardurchmesser linear in die Reynoldszahl ein und verringert diese bei Reduzierung von 1 mm auf 50 μm ebenfalls um den Faktor 20. So ist eine Flüssigkeit die in einer 1 mm Kapillare eine Reynoldszahl von 4000 aufweist und damit turbulent ist, in einer 50 μm Kapillare mit einer Reynoldszahl von 200 eindeutig laminar.

Für mikrofluidische Kapillare liegt dieser Wert üblicherweise bei 50-200, obwohl die Fließgeschwindigkeit häufig bei 0,5 m/s liegt. Die Fließfront ist von der Art des Flüssigkeitstransports abhängig. Bei einem durch EOF erzeugten Fluss ist sie nahezu eine Gerade, bei durch

Druck erzeugtem Fluss bildet sich ein hydrodynamisches Profil aus (s. Abb. 2.2). Durch die durch den EOF erzeugte und für eine Detektion optimale Strömungsgeometrie wird verhindert, dass sich die durch die elektrophoretischen Trennmethode gebildeten Zonen verbreitern und somit die Detektionsfähigkeit herabgesetzt wird.

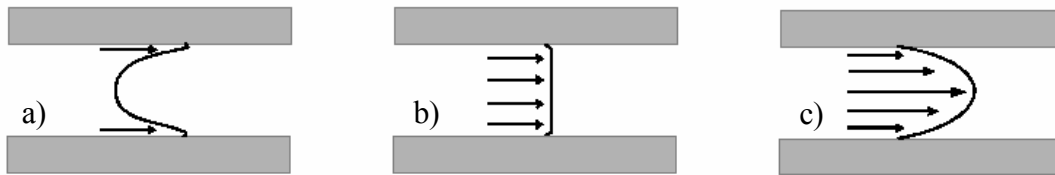


Abb. 2.2: Verschiedene Strömungsprofile in der Mikrofluidik: a) Fließbeginn bei der Elektroosmose, b) ausgebildetes laminares Strömungsprofil, c) hydrodynamisches Strömungsprofil

Diese Eigenschaft der Mikrofluidik spielt neben den Trennverfahren auch für Dosierungsaufgaben eine entscheidende Rolle, da somit erheblich genauere Resultate erzielbar sind als mit der klassischen Fluidik.

Dadurch, dass es keine turbulenten Vermischungen gibt, stellt die Diffusion einen wichtigen Transportmechanismus dar. So ist beispielsweise die Vermischung zweier Flüssigkeiten, die in einem Mikrokanal nebeneinander fließen nahezu Null. Je nach Anwendungsfall ist diese Eigenschaft jedoch auch hinderlich, da es nahezu unmöglich ist, mikrofluidische Mischer zu realisieren (s. Abb. 2.3) [[REG-01](#), [KEN-00](#)].

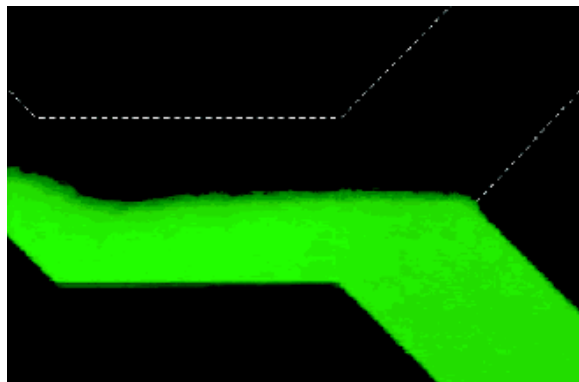


Abb. 2.3: Vermischungsfreier Flüssigkeitstransport in Mikrokapillaren [[REG-01](#)]

Im Gegensatz zu makroskopischen Fluidiksystemen (Kanaldurchmesser > 1 mm), spielen bei mikrofluidischen Systemen die Viskosität und die Oberflächenspannung eine viel größere Rolle, die Gravitation und die Massenträgheit sind dagegen eher unwichtig [[KUT-02](#)].

2.2 Flüssigkeitstransport

In einem fluidischen System können verschiedene Mechanismen für den Flüssigkeitstransport verantwortlich sein [\[KUT-02\]](#). Dies sind im Einzelnen:

- Druck
- Elektroosmose
- Zentrifugalkräfte
- Ultraschall (Wanderwelle)
- Elektrohydrodynamik
- Kapillarkräfte

Neben den hier verwendeten Mechanismen der Elektroosmose für die Kapillar-Elektrophorese und des Druckes für die Isotachophorese ist die Ausnutzung der Zentrifugalkräfte eine übliche Methode für den Flüssigkeitstransport [\[EHN-02\]](#).

Bei einem elektrischen Flüssigkeitstransport wie der Elektroosmose werden zwei Transportmechanismen beobachtet, zum einen der Transport von Ladungen und zum anderen der Transport von Wärme. Der Wärmetransport ist ein Diffusionsprozess und lässt sich durch das Fick'sche Gesetz oder die Diffusionsgleichung beschreiben.

$$\dot{n} = D\Delta n \quad (2.2)$$

n ist hierbei die Partikeldichte oder Konzentration, D [m²/s] ist der Diffusionskoeffizient und Δ ist der Laplace Operator. Diese Gleichung kann in Richtung der Diffusionszeit t_D umgeformt werden. Die Diffusionszeit ist die Zeit, die einzelne Moleküle benötigen, eine bestimmte Strecke ℓ zurückzulegen.

$$t_D = \frac{l^2}{D} \quad (2.3)$$

Hieran wird auch der größte Vorteil der Miniaturisierung deutlich, die quadratische Abnahme der Diffusionszeit mit der Verringerung der linearen Dimensionen eines Systems. Um dies zu verdeutlichen, sind in Tabelle 2.1 verschiedene Diffusionszeiten für kleine und große Moleküle dargestellt. Hieran wird exemplarisch deutlich, dass sich durch die Miniaturisierung die Analysezeiten in Folge der schnelleren Diffusion von Stunden auf Sekunden reduzieren [\[BEC-02\]](#).

Entfernung	Struktur	Kl. Molekül O_2 ($D=2 \cdot 10^{-9} m^2 s^{-1}$)	Gr. Molekül Protein $D=2 \cdot 10^{-11} m^2 s^{-1}$
8 nm	Zell Membrane	32 ns	3,2 μs
8 μm	Elektrolyte/ Mikrokanal	32 ms	3,2 s
80 μm	Zelle / Mikrokanal	3,2 s	320 s
0,8 mm	Amöbe/ Nanoplate	320 s	8,9 h
8 mm	Blutegel/ Microplate	8,9 h	890 h
80 mm	Hand	890 h	10 Jahre

Tabelle 2.1: Diffusionszeiten von kleinen und großen Molekülen in verschiedenen Objekten

Durch den Diffusionsprozess wird das Verhalten von Molekülen in statischen Gebilden gut beschrieben (z.B. Nanoplates). Für die Analytik ist dieser Transportmechanismus jedoch eher hinderlich, da er sich nicht steuern lässt und somit unkontrolliert auftritt. Im Injektionsbereich der CE diffundieren so Moleküle unbeabsichtigt in den Trennkanal und verschlechtern die Trennleistung, da die Injektion nicht mehr klar abgegrenzt ist.

Elektroosmotischer Fluss (EOF)

Der elektroosmotische Fluss erzeugt eine Bewegung der gesamten Elektrolytlösung im elektrischen Feld in Richtung der Kathode und führt damit dazu, dass alle Substanzen unabhängig von ihrer Ladung auf der kathodischen Seite detektiert werden können. Durch Verwendung anderer Puffer ist jedoch möglich, den EOF zu unterdrücken bzw. umzukehren. Die verwendeten Kunststoffkanäle tragen negative Oberflächenladungen, denen entgegengesetzt geladene Ionen in der Flüssigkeit gegenüberstehen. Es bildet sich eine Doppelschicht aus, in der die Kationen überwiegen, die sich zunächst in einer starren und in etwas weiterer Entfernung von der Oberfläche in einer diffusen Schicht anordnen (s. Abb. 2.4). Diese Schichtstärke kann üblicherweise mit 1 nm angegeben werden [[KUT-02](#)].

Aufgrund dieser Ladungsverteilung baut sich ein Potential auf, das sich nach der Theorie von Stern in zwei Regionen untergliedert: das Potential nimmt in der starren Grenzschicht linear und in der diffusen exponentiell ab [[BAC-95](#)].

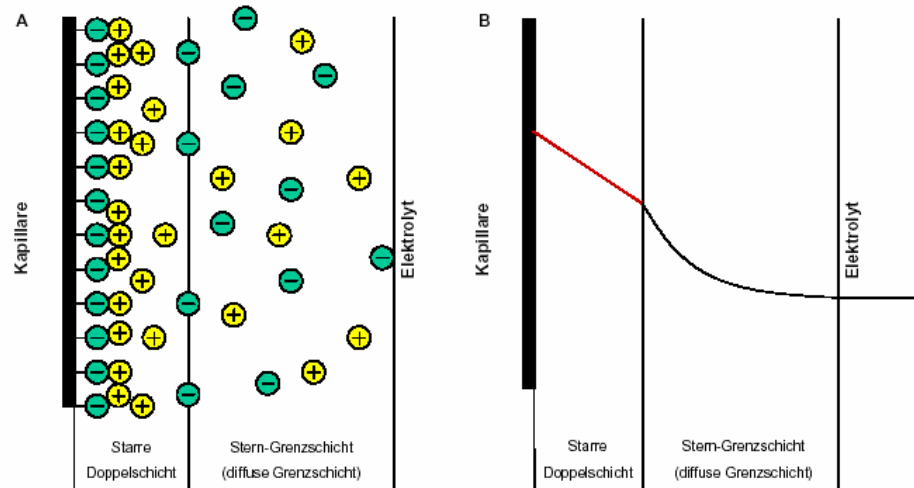


Abb. 2.4: Ladungsverteilung (A) und Potentialverlauf (B) an der Phasengrenze Kapillare/Elektrolyt in einer Glaskapillare [KUT-02]

Die exponentielle Abnahme in der äußeren Schicht ist für den EOF verantwortlich und wird als elektrokinetisches Zeta- (ζ) -Potential bezeichnet. Unter dem Einfluss eines elektrischen Feldes wandern die Kationen der diffusen Schicht einschließlich ihrer Hydrathülle in Richtung der Kathode. Über Wasserstoffbrückenbindungen, die sich zwischen Wassermolekülen in der diffusen Schicht und im Elektrolyten ausbilden, wird ein Fluss der gesamten Pufferlösung zur Kathode induziert. Der EOF dient somit als ein Mechanismus, der sowohl kationische, neutrale und anionische Moleküle mit einer spezifischen Mobilität (μ_{eo}) zum Detektor transportiert, wobei die Trennung der Probe letztendlich durch die unterschiedlichen elektrophoretischen Mobilitäten (μ_{ep}) der Analyten bestimmt wird (s. Abb. 2.5).

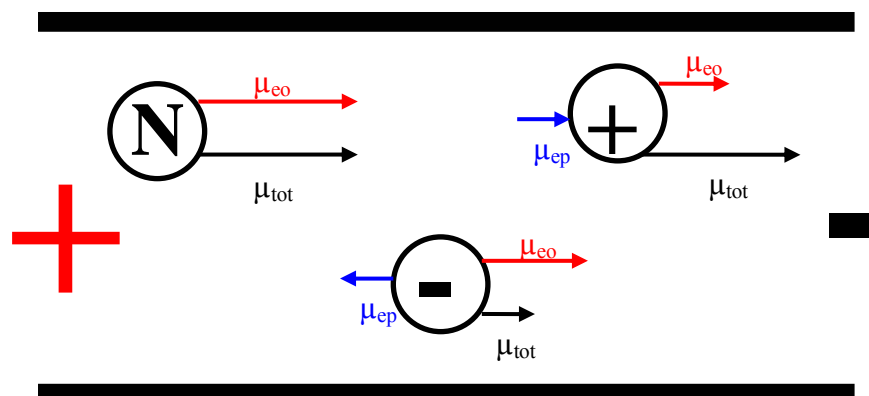


Abb. 2.5: Elektroosmotischer und elektrophoretischer Transportmechanismus mit resultierender Gesamtmobilität μ_{tot} für Anionen, Kationen und neutrale Teilchen

Die Wanderungsgeschwindigkeit des elektroosmotischen Flusses v_{eo} lässt sich vereinfacht mit Hilfe der Helmholtz-Gleichung beschreiben:

$$v_{eo} = \mu_{eo} \cdot E = \frac{E \cdot \varepsilon \cdot \zeta}{4 \cdot \eta \cdot \pi} \quad (2.4)$$

Der EOF ist damit umgekehrt proportional der Viskosität η [kg/m·s] des Elektrolyten, proportional seiner Dielektrizitätskonstante ε [F/m], der angelegten Feldstärke E [V/m] und dem Zeta-Potential ζ [V].

Durch Modifikationen kann der EOF kontrolliert, ausgeschaltet oder umgekehrt werden. Einflussgrößen zur Steuerung des EOF sind die Ladung an der Kapillarenwand, die Dicke der sich ausbildenden Doppelschicht und die Viskosität des Trennelektrolyten. Der elektroosmotische Fluss in Kunststoff-Kapillaren wird mit steigender Konzentration des Elektrolyten herabgesetzt und wächst mit dem pH-Wert an. In Kapillaren mit einem Wandabstand von 25 bis 100 μm bildet sich durch den EOF ein nahezu ideales pfropfenförmiges Strömungsprofil aus, das im Gegensatz zu einem hydrodynamischen Fluss kaum zu einer Bandenverbreiterung beiträgt ([s. Abb. 2.2](#)) und somit für die hohe Trennleistung von CE-Trennungen verantwortlich.

2.3 Trennverfahren

Neben dem Flüssigkeitstransport ist es für die Analytik wichtig, die Proben in ihre Bestandteile zu zerlegen und zu trennen, um sie detektieren zu können. In der hier vorliegenden Arbeit wurden zwei verschiedene Trennverfahren verwendet, die sich in ihrem Verhalten grundsätzlich unterscheiden. Dies sind die Kapillarelektrophorese (CE) und die Isotachophorese (ITP). Die Gesetzmäßigkeiten dieser beiden Trennverfahren werden im Folgenden beschrieben.

2.3.1 Kapillar-Elektrophorese (CE)

Hauptaufgabe dieser Trennverfahren ist es, die verschiedenen Ionentypen voneinander zu separieren, während des Trennvorgangs erfolgt jedoch auch ein Transport der Flüssigkeit. Dabei werden die positiv geladenen Ionen zur Kathode getrieben, die negativen

entsprechend zur Anode. Für kleine, stark geladene Teilchen geschieht dies schneller als für große, schwach geladene Teilchen (s. Abb. 2.6).

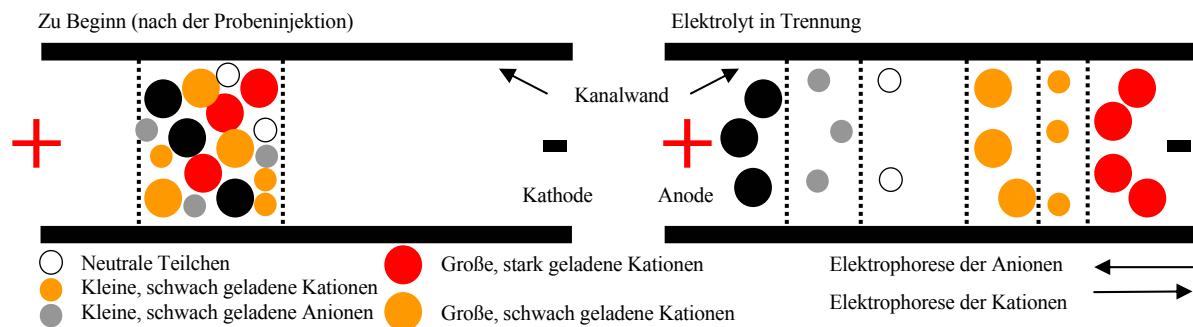


Abb. 2.6: Prinzip der CE ohne EOF: a) vor der Trennung, b) nach der Trennung

Bei der konventionellen Kapillar-Elektrophorese findet die Trennung in einer dünnen Kapillare mit üblicherweise 100 μm Durchmesser statt. Bei der auf einen Chip integrierten CE sind Kanalquerschnitte von 20·20 μm^2 bis ca. 100·50 μm^2 üblich.

Wichtig für die Funktionalität eines CE-Systems ist die so genannte Bandenverbreiterung, die sich aus Geschwindigkeitsunterschieden der Strömung der Flüssigkeit in der Kapillare ergibt. Anders als bei Strömungen, die durch Druckdifferenz entstehen, bildet sich bei der Elektroosmose ein sehr flaches Strömungsprofil aus (s. [Abb. 2.2](#)). Die Geschwindigkeit der einzelnen Moleküle hängt in viel geringerem Maße von dem Abstand zur Mitte der Kapillare ab. Dies führt dazu, dass während des Flusses nur eine geringe Bandenverbreiterung stattfindet [[BAC-95](#)].

Einen weiteren großen Einfluss haben das Material und die Oberflächenbeschaffenheit der Kapillarwand auf den EOF. Werden Kapillare aus unterschiedlichen Materialien bzw. unterschiedlich behandelten Materialien zusammengesetzt, so ist der EOF an den verschiedenen Oberflächen unterschiedlich stark. Wird z.B. ein Graben mit einem Deckel verschlossen, der aus einem anderen Material besteht als der Graben, so wirkt sich dies auch auf das Strömungsprofil aus. Aus diesem Grunde müssen solche Faktoren, wie Materialeinflüsse, bei der Berechnung des Strömungsprofils und bei der sich daraus ergebenden Bandenverbreiterung berücksichtigt werden [[AND-97](#)].

Das elektrophoretische Trennprinzip beruht auf der unterschiedlichen Migration von Ionen verschiedener Ladung und Größe in einem elektrischen Feld. Die reine elektrische Kraft, die

ohne Wechselwirkung auf die Ionen wirkt, kann geschrieben werden als:

$$F_{el} = z_i \cdot e_0 \cdot E \quad (2.5)$$

Wobei z_i die Ladung eines Ions, e_0 die Elementarladung und E [V/cm] die elektrische Feldstärke sind. Neben der elektrischen Kraft F_{el} wirkt auf ein Teilchen, das sich in einem viskosen Medium bewegt die Reibungskraft F_{re} :

$$F_{re} = 6 \cdot \pi \cdot r_i \cdot \eta \cdot v_{ep} \quad (2.6)$$

Dabei ist η [kg/m·s] die Viskosität, r_i [cm] der Ionenradius und v_{ep} [m/s] die elektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeit. Die Reibungskraft wirkt der beschleunigenden elektrischen Kraft entgegen. Eine konstante Wanderungsgeschwindigkeit bzw. Mobilität wird erreicht, wenn die beiden Kräfte im Gleichgewicht sind:

$$v_{ep} = \frac{z \cdot e}{6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r_i} E = \mu_{ep} \cdot E \Rightarrow \mu_{ep} = \frac{z \cdot e}{6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r_i} \quad (2.7)$$

Dabei ist z die Ladung eines Ions, e die Elementarladung ($1,602 \cdot 10^{-19}$ C), η [kg/m·s] die Viskosität, r_i [cm] der Ionenradius und E [V/m] die elektrische Feldstärke.

Unter Berücksichtigung des EOF's verändert sich die Gleichung zur Bestimmung der Wanderungsgeschwindigkeit eines Analyten folgenderweise:

$$v_i = \mu_{tot} \cdot E = (\mu_{ep} + \mu_{eo}) \cdot E \quad (2.8)$$

Die resultierende Mobilität wird hierbei sowohl durch die elektrophoretische Beweglichkeit μ_{ep} , die ausschließlich durch das angelegte elektrische Feld hervorgerufen wird, als auch durch die elektroosmotische Mobilität μ_{eo} bestimmt. Zu beachten ist hierbei, dass Elektroosmose und Elektrophorese für Anionen ein entgegen gesetztes Vorzeichen haben (s. Abb. 2.5). Hierdurch ist es möglich, dass bestimmte Ionen nicht detektierbar sind, wenn sich beide Effekte gerade aufheben.

Die theoretischen Vorteile der Elektrophorese in miniaturisierten Kapillaren werden durch die Trennungseffizienz, die theoretischen Böden N , ausgedrückt [BEC-98]. Dieser Wert N ist definiert als:

$$N = \frac{L^2}{\sigma_x^2} \quad (2.9)$$

L ist hierbei die Länge der Kapillare und σ_x^2 ist die Varianz der Wanderungs-Zonenbreite, beispielsweise die Aufweitung eines Detektionspeaks durch Diffusion für einen einzelnen Stoff.

Die Anzahl der theoretischen Böden ist direkt von der an der Kapillare angelegten Spannung abhängig. Die angelegte Spannung U ist direkt proportional zu L/d , wobei d den Kapillardurchmesser angibt. Somit lässt sich schreiben:

$$N \propto \frac{L}{d} \quad (2.10)$$

Die zweite wichtige Variable ist die Analysezeit t , das ist die Zeit, die eine Komponente benötigt, eine bestimmte Strecke L zurückzulegen. Diese ist gegeben durch:

$$t = \frac{L}{v_i} = \frac{L^2}{\mu_i U} \quad (2.11)$$

Hierbei steht v_i [m/s] für die resultierende Geschwindigkeit der einzelnen Komponenten. Unter Nutzung der Formel 2.9, 2.10 und 2.11 ergibt sich:

$$t \propto Ld \quad (2.12)$$

Durch diese beiden Formeln (2.10 und 2.12) ergibt sich ein Hauptvorteil der miniaturisierten Kapillarelektrophorese (CE). Denn diese beiden Formeln können weiter zusammengefasst werden und es ergibt sich schließlich:

$$\frac{N}{t} \propto \frac{1}{d^2} \quad (2.13)$$

Daraus folgt, dass die Separationseffektivität pro Zeiteinheit umgekehrt proportional zum Durchmesser der Kapillare ist. Dies zeigt sehr anschaulich das Potential mikrostrukturierter Analyseeinheiten auf. Ein typischer Performancegewinn sind zwei Größenordnungen in Bezug auf die Analysezeit [[BEC-02](#)].

Probeninjektion bei der μ -CE

Mit Beginn der mikrofluidischen Analytik wurde zeitgleich das CE-Kreuz eingeführt, das auch patentrechtlich in den USA geschützt ist. Durch dieses Kreuz ist es möglich, einfach

und reproduzierbar Proben in die Trennstrecke zu injizieren, wie es in Abbildung 2.7 dargestellt ist. Durch Umschalten der angelegten Spannung an den Endpunkten des Kreuzes kann die Flussrichtung beeinflusst werden. Im Trennfall ist der höchste Potentialabfall von Nord nach Süd gegeben, gleichzeitig wird jedoch auch Flüssigkeit von Norden in die beiden seitlichen Reservoirs geleitet. Dies verhindert, dass aus den Seitenarmen Flüssigkeit in die Trennstrecke nachlaufen und damit das Messergebnis beeinträchtigen kann. Im Fall der Injektion herrscht das größte elektrische Potential zwischen den Seitenarmen vor, in dem linken Seitenarm ist der Analyt untergebracht, der rechte Seitenarm dient als Abfallreservoir. Durch das Vorhandensein eines Potentials der Hauptarme zum Abfallreservoir ist sichergestellt, dass aus dem Analytenreservoir keine Flüssigkeit in den Hauptarm diffundieren kann [HER-94].

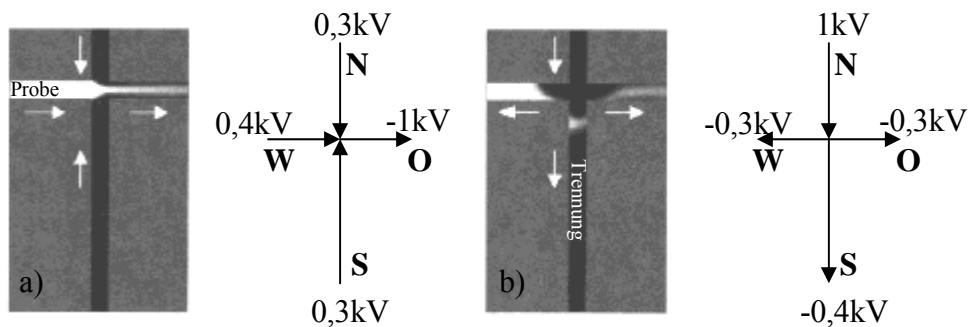


Abb. 2.7: Injektionsprinzip CE-Kreuz [ERM-00]

2.3.2 Isotachophorese (ITP)

Die Isotachophorese verwendet zur Trennung von Ionen ein diskontinuierliches Elektrolyt-system. Die Ionen befinden sich nach der Injektion zwischen einem Leitelektrolyten (eng. leading) mit der höchsten Mobilität im Gesamtsystem und einem Folgeelektrolyten (eng. terminating) mit der geringsten Mobilität.

$$\mu_L > \mu_X > \mu_Y > \mu_T. \quad (2.14)$$

Dazu werden bei der μ -ITP mit Hilfe von Pumpen zunächst der Kanal mit dem Leading-Elektrolyt und die Probenkammer mit der zu analysierenden Probe gefüllt. Anschließend wird an den Anfang des Kanals der Terminating-Elektrolyt eingebracht, während das Ende des Kanals offen bleibt. In dem Kanal befinden sich nun die drei verschiedenen Flüssigkeiten. Jetzt wird der Kanal verschlossen und eine hohe Spannung mit konstantem Strom

angelegt (s. Abb. 2.8).

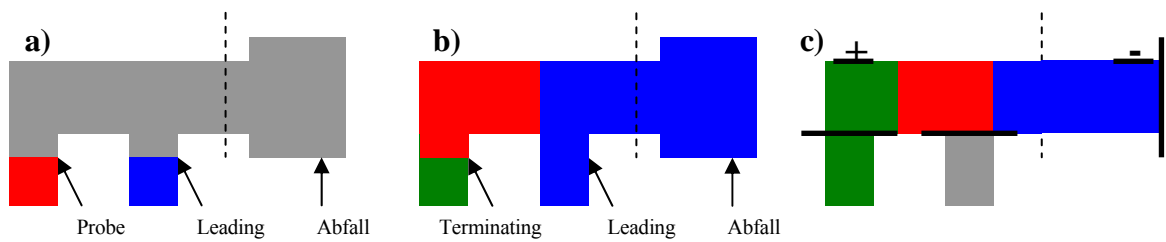


Abb. 2.8: Befüllung eines ITP-Chips: a) Einschleusen der Probe und des Leading-Elektrolyts, b) Einschleusen des Terminating-Elektrolyts, c) Beginn der ITP-Trennung

Bei angelegter Spannung eilen die schnellen Leitonen den Analytionen und den Folgeionen voraus. Eine Ionenlücke kann aber, entsprechend der Forderung nach gleichem Stromtransport an allen Stellen des Systems, nicht entstehen. Da mit einer konstanten Stromstärke gearbeitet wird, gilt nach dem Ohm'schen Gesetz:

$$J = \kappa_L E_L = \kappa_X E_X = \kappa_Y E_Y = \kappa_T E_T = const \quad (2.15)$$

wobei κ [S] die Leitfähigkeit und E [V/m] die el. Feldstärke bedeuten. Da es sich bei κ um konstante Materialparameter handelt, kann sich nur die el. Feldstärke für die einzelnen Komponenten ändern.

Die Analytionen trennen sich deshalb in homogene, diskrete Zonen gleicher Feldstärke. Die Zonen folgen unmittelbar hintereinander mit uniformer Geschwindigkeit des Leitelektrolyten (s. Abb. 2.9). Der Name Isotachophorese, „isos“ griechisch „gleich“ und „tachos“ für „Geschwindigkeit“, impliziert dieses charakteristische Verhalten nochmals. Das Gegenion der beiden Elektrolyte gewährleistet die Elektroneutralität und puffert das System auf den gewünschten pH-Wert [MEI-02].

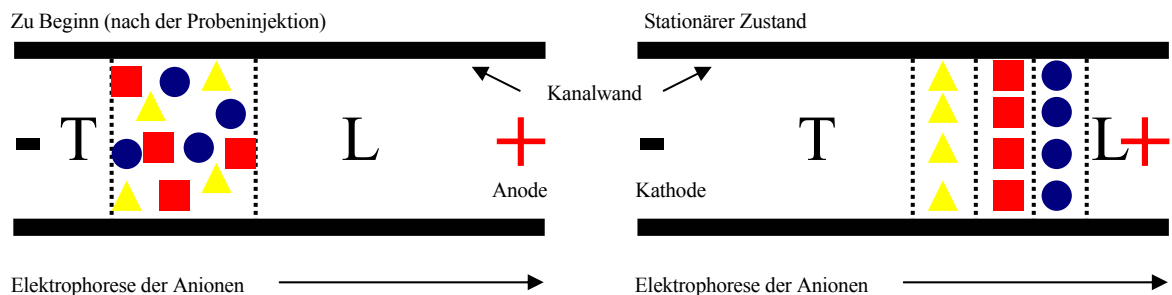


Abb. 2.9: a) Isotachophorese nach der Injektion, b) Isotachophorese nach der Trennung

Eine zwingende Voraussetzung zur Durchführung der ITP ist die Wahl eines geeigneten Elektrolytensystems, welches aus einem Leit- und Folgeelektrolyt besteht. Der Leitelektrolyt besteht aus einem Leition, das die erste Zone im ITP System bilden muss. Nur zwischen dem Leit- und dem Folgeion kann sich ein ITP System ausbilden, dies hat zur Folge, dass nur Analytionen mit einer effektiven Mobilität zwischen beiden Elektrolytionen isotachophoretisch getrennt werden können. Beide Elektrolyte und die Analytionen müssen in die gleiche Richtung migrieren, hierdurch ergibt sich ein anionisches bzw. kationisches ITP System. Der Leitelektrolyt sollte außerdem ein pufferndes Gegenion enthalten, dieses Gegenion wandert in die entgegengesetzte Richtung und gewährleistet die Elektroneutralität der Zonen sowie die pH-Stabilität.

Neben dem primären Kriterium der Mobilität sind auch die chemische und physikalische Stabilität zu berücksichtigen. Beide Elektrolyte sollten mit Probenbestandteilen nicht reagieren und nicht im angelegten elektrischen Feld zersetzt werden. Die aufgeführten Anforderungen führten in der anionischen ITP zum generellen Einsatz von Chlorid als Leition. Das Chloridion besitzt eine ausreichend hohe effektive Mobilität, ist chemisch relativ inert und wird durch Stromstärken im μA -Bereich elektrolytisch nicht zersetzt [MEI-02].

Aufgrund der unterschiedlichen Mobilitäten der beteiligten Ionen hat die elektrische Feldstärke (E) in jeder Zone einen eigenen Wert, sie steigt treppenartig vom Leitelektrolyt über die Analytzone bis zum größten Wert in der Zone des Folgeelektrolyten (s. Abb. 2.10). Die Leitfähigkeit (λ) der einzelnen Zonen nimmt einen entgegengesetzten Verlauf zur elektrischen Feldstärke. Bei konstanter Stromstärke (I) verhält sich die Leitfähigkeit umgekehrt proportional zum elektrischen Feld.

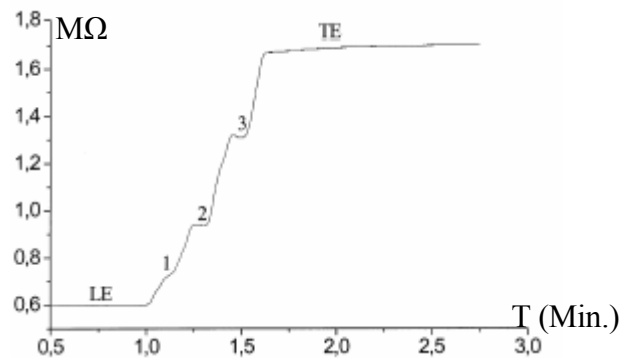


Abb. 2.10: Beispieltrennung für die ITP in einem Mikro-Chip und Leitfähigkeitsdetektion [GRA-01]

Im Gegensatz zur CE sind die unterschiedlichen Zonen bei der ITP scharf voneinander getrennt und es findet keine Diffusion statt. Aus diesem Grunde eignet sich die ITP auch als Konzentrationsschritt bei mehrstufigen Trennverfahren.

2.3.3 Mehrstufige Trennverfahren

Mit Hilfe von mikrostrukturierten Analysesystemen sind mehrstufige Trennverfahren möglich. Hier wird zwischen zwei grundlegenden Systemen unterschieden, der Trennung und Auswertung auf einem Chip (ITP-CE-Kopplung) und der Auskopplung nach dem ersten Trennschnitt in ein anderes Analysensystem (CE-MS-Kopplung). Durch diese mehrstufigen Verfahren ist eine wesentliche höhere Auflösung möglich, hier sei auf das Beispiel Blut verwiesen. Im Blut befinden sich ca. 100 verschiedene Proteine, davon machen drei Proteine 95% der Masse aus, sind aber gleichzeitig für die Blutanalyse uninteressant. Mit mehrstufigen Systemen ist es nun möglich, nur die interessanten Stoffe der zweiten Stufe zuzuführen und somit eine genaue Aussage über die Beschaffenheit tätigen zu können. Bei beiden mehrstufigen Verfahren muss die Möglichkeit bestehen, bestimmte Stoffe selektiv zu entfernen, hierzu sind spezielle Geometrien und auch mehrere Detektionsstufen erforderlich, die die erwünschten bzw. unerwünschten Anteile erkennen.

ITP-CE-Kopplung

Um einen Übergang zwischen ITP und CE realisieren zu können, ist es erforderlich, dass der Folgeelektrolyt der ITP und der Hintergrundelektrolyt der CE übereinstimmen. Dies ist durch einen Aufbau wie in Abb. 2.11 skizziert möglich.

Der Folgeelektrolyt (T_m) muss mit dem Hintergrundelektrolyten (HG) übereinstimmen, um so die homogene Umgebung für die CE Trennung zu schaffen. In der ersten Kapillare mit größerem Innendurchmesser wird die ITP durchgeführt, im vorliegenden Beispiel besteht die Probe aus 6 Anionen, das Sulfat-Ion (1) liegt dabei in einer wesentlich höheren Konzentration gegenüber den übrigen Probe-Ionen (2-6) vor. Mit der ITP Trennung ist eine Aufkonzentrierung der Probe-Ionen verbunden. Der Leitfähigkeitsdetektor in der ersten

Kapillare kann aufgrund der höheren Konzentration des Sulfats nur dieses detektieren, die Analytionen 2 - 6 können dagegen in der ersten Kapillare noch nicht erfasst werden.

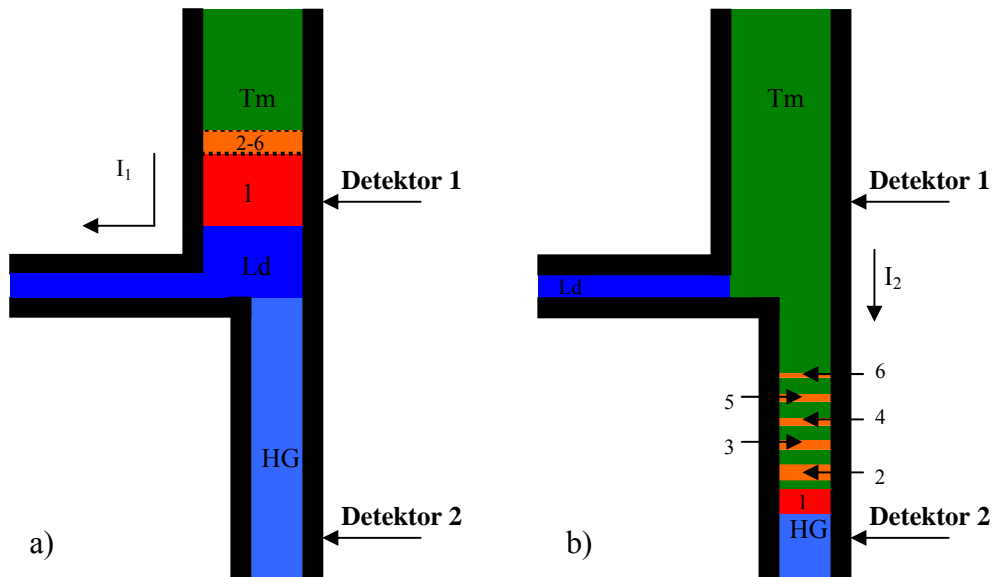


Abb. 2.11: Kopplung von ITP a) und CE b)

Nach der ITP Trennung wirkt der Folgeelektrolyt als Hintergrundelektrolyt für die Elektrophorese in der zweiten Kapillare. Mit der UV-Detektion gelingt hier auch die Aufzeichnung der UV-aktiven Analytionen 2 - 6. Ohne den isotachophoretischen Schritt in der ersten Kapillare wäre jedoch die Detektion der Probeionen 2 - 6 nicht möglich gewesen, die ITP wurde hier als Konzentrationsmethode, für die Ionen 2 - 6, vor der CE Analyse eingesetzt. Das Isotachopherogramm des ersten Detektors und das Elektropherogramm in der zweiten Kapillare zeigt die Abbildung 2.12 [MEI-02].

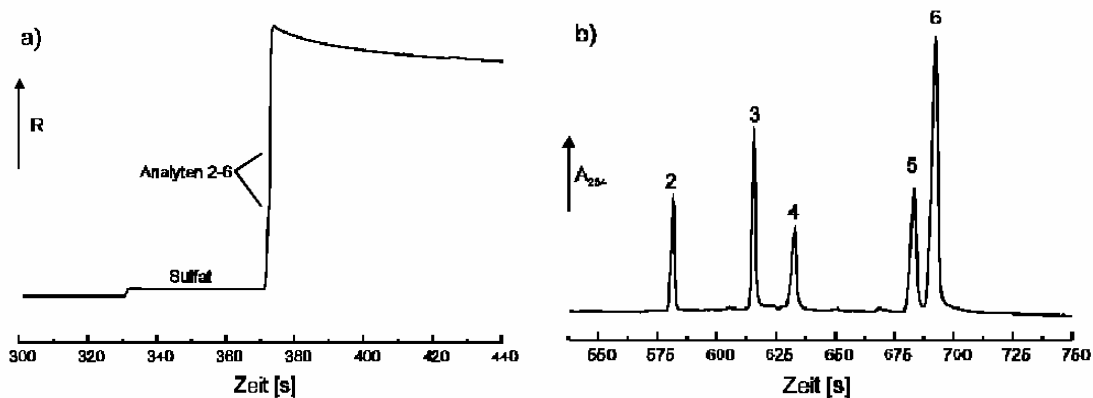


Abb. 2.12: Kopplung von ITP- und CE-Analyse [MEI-02]

2.4 Elektrische und elektrochemische Detektionsmethoden

Nachdem die Probe in ihre Bestandteile zerlegt worden ist, ist es erforderlich, diese zu detektieren. Für die CE bieten sich die Amperometrie als elektrochemisches Nachweisverfahren und die Leitfähigkeit als elektrisches Verfahren und die Fluoreszenz und Absorption als optische Verfahren an. Für die ITP kommen die Leitfähigkeit und die optischen Verfahren in Betracht. Die Amperometrie und die Leitfähigkeit werden im Folgenden näher erläutert, die optischen Verfahren werden in Kapitel 7 behandelt.

2.4.1 Amperometrie

Bei der Amperometrie handelt es sich um eine potentiostatische Technik, d.h. es wird ein sich ändernder Strom bei einer konstanten Spannung gemessen. Durch ein vorgewähltes Potential kommt es zu einem erzwungenen Elektronentransfer zwischen den Analytionen einer Elektrode. Der resultierende Strom I ist ein Maß für die pro Zeiteinheit an der Elektrodenoberfläche umgesetzten Moleküle, sprich ihrer freiwerdenden Ladungsträger.

$$I = z \cdot F \cdot A \cdot j \quad (2.16)$$

Der Strom ist der Anzahl der pro Molekül übertragenen Elektronen z , der Faraday Konstante F [$9,64853 \cdot 10^7$ As/kmol], der Elektrodenfläche A [cm^2] und der Anzahl der pro Zeiteinheit an der Elektrode umgesetzten Molekülen j proportional. Der Transport der elektrochemisch aktiven Substanz – sprich der Probe – kann dabei durch Diffusion, Konvektion und Migration erfolgen, im Fall der μ -CE kommt als treibende Kraft die Migration in Folge von EOF und Elektrophorese zum tragen.

Für amperometrische Messungen wird im Allgemeinen das Elektrodenpotential sehr viel kleiner oder größer als das Standardpotential gewählt, so dass nicht der Elektronentransfer durch die Phasengrenzfläche, sondern die Transportprozesse geschwindigkeitsbestimmend sind. Die Messungen können mit einem Zwei- oder Drei-Elektrodensystem durchgeführt werden. Im Drei-Elektrodensystem wird der Strom über eine Hilfselektrode abgeführt, die Referenzelektrode bleibt damit stromlos und Potentialschwankungen können auf diese Weise vermieden werden [[Hau-99](#)].

Die messbaren Ströme sind sehr gering und liegen im Bereich von μA . Mit diesem Verfahren lassen sich Nachweisgrenzen von bis zu 10^{-18} mol erreichen. Nachteilig ist bei diesem Detektionsverfahren, dass die Detektion nicht im Hochspannungsfeld erfolgen kann und damit Probleme durch Entstehung von Wasserstoff an der Masselektrode der Hochspannung auftreten können. Dieser Wasserstoff führt zu Unterbrechungen in der Flüssigkeitssäule und damit zu einer Zerstörung der Trennung. In Abbildung 2.13 ist schematisch eine amperometrische Detektion in einem Mikrofluidikkanal gezeigt.

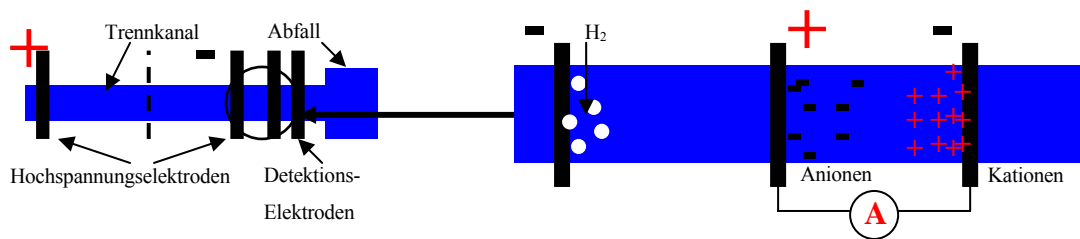


Abb. 2.13: Prinzipzeichnung amperometrische Detektion in einem Mikrokanal

2.4.2 Leitfähigkeit

Bei der Leitfähigkeitsmessung (Konduktivität) handelt es sich um eine rein elektrische Detektionsmethode. In einem Wechselfeld findet eine komplexe Strommessung statt. Dadurch lässt sich auf die vorhandenen Ionen schließen, die sich gerade im Detektionsfeld befinden. Bei dieser Detektionsmethode wird noch zwischen direkter und kontaktloser Detektion unterschieden. Die Vorteile der kontaktlosen Messung sind, dass das Elektrodenmaterial keine Rolle spielt und somit auch kein Elektrodenfouling, d.h. keine schleichende Zerstörung der Elektroden stattfindet.

Da es sich bei der Messspannung um eine hochfrequente Wechselspannung, üblicherweise 10 V bei 10 kHz handelt, kann die Messung im Hochspannungsfeld der elektrophoretischen Trennung erfolgen. Durch die hohe Messfrequenz ist gewährleistet, dass keine Umsetzung an den Messelektroden stattfindet.

Der elektrische Stromfluss im Elektrolyten wird durch alle enthaltenen Ladungsträger entsprechend ihrer Leitfähigkeit übernommen. Der Beitrag einer Ionensorte wird durch die Konzentration und Ionenbeweglichkeit μ_i beschrieben. In konzentrierten Elektrolyten kann angenommen werden, dass die Ionenbeweglichkeit einer Spezies bei Konzentrations-

änderungen konstant bleibt, solange die Änderung der Ionenstärke der Lösung vernachlässigbar bleibt.

Der Widerstand der elektrolytischen Lösung in der Messzelle ist definiert als:

$$R = \rho \left(\frac{l}{A} \right) = \frac{1}{\kappa} \left(\frac{l}{A} \right) \quad (2.17)$$

dabei ist l [μm] die Elektrodenbreite und A [μm^2] die Fläche zwischen den Elektroden, ρ [S] ist der spezifische Widerstand der Lösung. Dieser berechnet sich wie folgt [[FUO-59](#), [EBE-79](#)]:

$$\kappa = \frac{1}{\rho} = \frac{n\Lambda_v}{1000} \quad (2.18)$$

Hierbei ist κ [S/cm] der spezifische Leitwert, ρ [Ω/cm] der spezifische Widerstand, n die molare Konzentration und Λ_v [$\text{cm}^2 \cdot \Omega^{-1} \cdot \text{val}^{-1}$] den Äquivalentleitwert. Ein val ist eine Bezugsgröße der Chemie und bedeutet „je 1000cm^3 “, somit erklärt sich auch der Faktor 1000 aus (2.18). Typische Werte für den Äquivalentleitwert und daraus resultierende Widerstände sind Tabelle 2.1 dargestellt, zusätzlich ist die entsprechende elektrophoretische Mobilität μ_{ep} aufgeführt.

Kation	Λ	κ , $n=10^{-5}$	R [Ω], A=50·200 μm^2 , l=200 μm	I [A], U=10V	μ_{ep} [$\text{m}^2\text{s}^{-1}\text{V}^{-1}$]
Ag ⁺	54,2	$5,4 \cdot 10^{-4}$	37	0,27	$6,4 \cdot 10^{-8}$
K ⁺	64,5	$6,45 \cdot 10^{-4}$	31	0,32	$7,6 \cdot 10^{-8}$
Li ⁺	33,0	$3,3 \cdot 10^{-4}$	60	0,17	$4,0 \cdot 10^{-8}$
H ⁺	314,5	$3,15 \cdot 10^{-3}$	6,35	1,57	
Mg ⁺⁺	45,5	$4,55 \cdot 10^{-4}$	44	0,23	$5,5 \cdot 10^{-8}$
Na ⁺	43,4	$4,34 \cdot 10^{-4}$	46	0,21	$5,2 \cdot 10^{-8}$

Tab. 2.2: Leitwerte und Mobilitäten verschiedener Kationen

3. Substratherstellung

Um mikrofluidische Analysensysteme aus Kunststoff herstellen zu können, ist es erforderlich, die gewünschte Fluidikstruktur in Kunststoff abzuformen. Hierzu kommen prinzipiell Spritzguss und Heißprägen als Form gebende Verfahren in Betracht. Für beide Verfahren ist ein Prägestempel, der die negativen Strukturen enthält erforderlich. Während dieser Arbeit sind gefräste und galvanisch abgeformte Vorformen zum Einsatz gekommen. Neben der Formgebung ist ein Nachbearbeiten der Substrate erforderlich, um die Fluidikkanäle zugänglich zu machen oder andere Durchbrüche zu realisieren. In Abbildung 3.1 ist der Ablauf der Substratherstellung schematisch dargestellt.

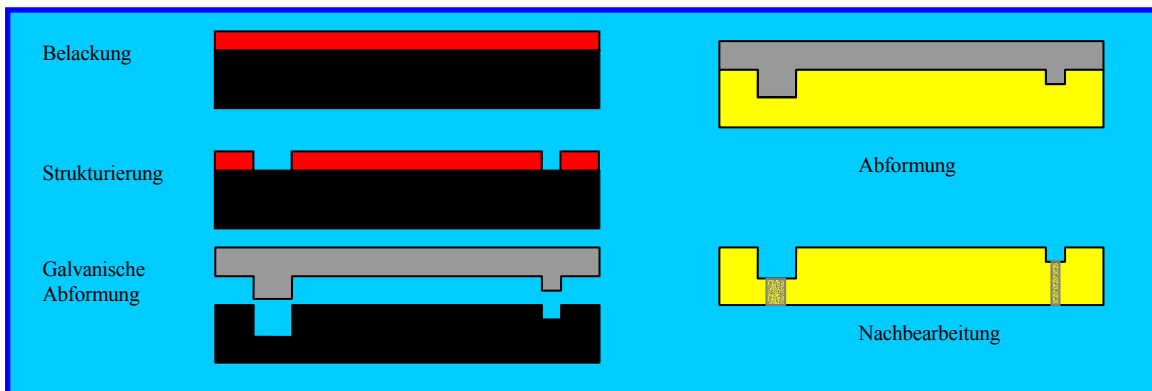


Abb. 3.1: Schematischer Ablauf der Herstellung heißgeprägter Fluidiksubstrate

3.1 Prägestempelherstellung: Übersicht

Die Herstellung dieser Prägevorformen stellt einen wesentlichen Bestandteil dieser Arbeit dar. Die hierbei realisierten Geometrien lagen im Bereich von 10-250 μm in der Tiefe und 20-1000 μm in der Breite. Für diese verschiedenen Strukturdimensionen sind verschiedene Herstellungsverfahren vorteilhaft (s. Tab. 3.1). Für grobe Strukturen (>150 μm) stellt die Mikrofrästechnik das beste Verfahren da. Für kleinere Strukturen kommt die Dicklacktechnik zum Einsatz.

Da zunächst Probleme bei der Vorformherstellung mit Negativlacken nicht behoben werden konnten, kamen Positivlacke zum Einsatz, die jedoch maximal bis zu einer Höhe von 50 μm reproduzierbar hergestellt werden können. Für die Herstellung von Mikrofluidik-Chips mit integrierten optischen Wellenleitern ist die mit Positivlacken und herkömmlicher Foto-

lithografie zu erzielende Güte nicht ausreichend, sondern es muss auf die LIGA-Technik, Negativlack oder eine Kombination aus Präge- und Frästechnik zurückgegriffen werden. Die für Positivlack typischen Flanken sind für Wellenleiter nachteilig, da sie Spiegelflächen darstellen und für hohe Abstrahlverluste verantwortlich sind. Im Weiteren werden die einzelnen Herstellungsmethoden beschrieben und abschließend ihre jeweiligen Vor- bzw. Nachteile beleuchtet. Einen Überblick über die verfügbaren Herstellungsverfahren gibt Tabelle 3.1, worin auch die Vor- bzw. Nachteile der einzelnen Technologien dargestellt sind.

Technologie	Geometrie-treue	Kl. Struktur-größen	Struktur-tiefe	Oberflä-chengröße	Aspekt-verhältnis	Lebens-Dauer	Kosten	Verfüg-barkeit
Silikon nasschemisches Ätzen	-	+	0	++	-	+	+	++
Silikon Trockenätzen	+	++	+	++	+	-	0	+
Lithografie/Galvanik	+	++	+	++	0	+	0	0
Laserablation/ Galvanik	++	+	+	-	+	+	-	-
LIGA	+	++	++	-	++	+	-	-
μ -mechanische Bearbeitung	+	0	+	+	0	++	-	-
μ -EDM	-	0	+	-	+	++	-	-

Tab. 3.1: Herstellungsverfahren für die Prägestempelherstellung [[RÖT-02](#)]

3.2 Design

Mit Hilfe von CAD Programmen lassen sich schnell Fluidikstrukturen erzeugen, die einerseits durch Maskenshops in lithografische Masken umgesetzt werden können oder direkt an ein CNC-System für eine Mikrofräse übertragen werden können.

In dieser Phase der Vorformherstellung wird die Funktion der Struktur, evtl. die Art der Detektion und die Hilfsstrukturen festgelegt. Für ITP-Chips sind beispielsweise andere Abmessungen als für einen CE-Chip notwendig. Die Kanalbreiten und Tiefen liegen bei einem ITP-Chip bei 200 bis 1000 μm , bei der CE liegen diese Strukturen bei 20 bis 50 μm . Soll die Detektion integriert optisch erfolgen, müssen die Wellenleitergräben ebenfalls vorgesehen werden. Für den Einsatz mit elektrischer Detektion sollten möglichst Strukturen vorgesehen werden, die später die Messelektroden aufnehmen können, da überstehende Elektrodendeckel mit ihren großen mechanischen Hebeln schnell von den Substraten abgerissen werden können. Als Hilfsstrukturen bieten sich Strukturen an, die die Qualität der

Klebung verbessern, die als Aufnahme für eine Halterung dienen, mit der sich die Außenstrukturen der Chips reproduzierbar nachbearbeiten lassen und die zur einfachen Identifikation des jeweiligen Substrats dienen können. In Abb. 3.2 ist ein solches Design dargestellt.

In diesem Designschritt müssen ebenfalls empirisch ermittelte Geometriewerte berücksichtigt werden. So kann der Klebesteg neben den Kanälen nicht beliebig schmal ausgelegt werden, da ansonsten das Prägeergebnis schlecht ausfallen kann und die Klebung schnell ungenügend ausfällt. Als sicherer Wert für eine gute Klebung hat sich die zehnfache Kanalweite herausgestellt, es sind jedoch über kurze Strecken auch erheblich schmalere Strukturen möglich, die schmalste Stegbreite in Abbildung 3.2 ist mit 50 μm genauso breit wie die Kanalstruktur. Weiterhin muss bei sehr großen Fluidikstrukturen darauf geachtet werden, dass der Deckel beim Verkleben nicht in diese Strukturen hineingedrückt wird und damit die Funktion dieser Struktur zerstört. Für die Funktion des Fluidik-Chips unwichtige Strukturen sollten zudem nicht in der Nähe von funktionalen Elementen liegen. Globale Strukturen wie die Lage der Reservoirs und die Lage der Aufnahmen für die Detektionselektroden und die der Justageaufnahmen sollten nicht geändert werden, um auf eine bestehende Infrastruktur wie Elektrodenaufnahmen, Fluidikanschlüsse und Chipaufnahmen zurückgreifen zu können. Aus diesen Gründen bietet es sich an, für diese grundlegenden Eigenschaften Bibliotheken anzulegen, die die Struktureigenschaften bestimmter Chipgenerationen festlegen. Eigenschaften wie Kanalbreite und -tiefe und die Lage des Detektionsortes bleiben dagegen in weiten Maßen frei.

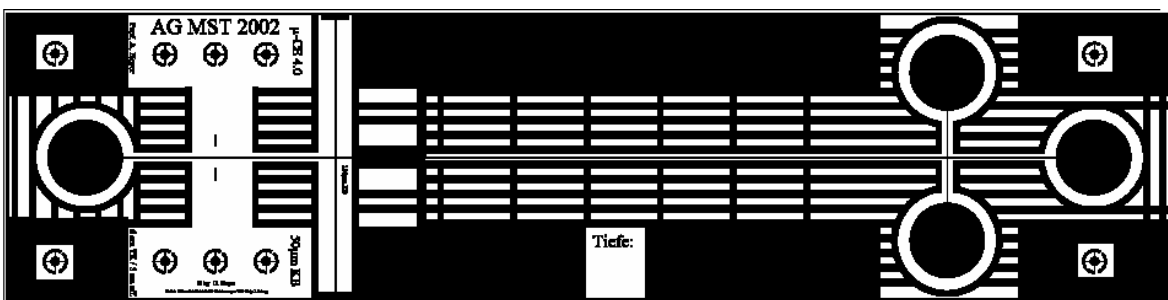


Abb. 3.2: CAD-Design für einen CE-Chip mit integrierten Wellenleitern, Justagestrukturen, Messelektrodenaufnahmen und Identifikationsbeschriftungen

Diese mit Hilfe von CAD-Programmen erstellten Designs müssen anschließend in eine Vorform überführt werden. Hier bieten sich zwei Verfahren an, das Mikrofräsen und die Dicklacktechnik, die im Folgenden beschrieben werden.

3.3 Prägestempelherstellung durch Mikrofräsen

Beim Mikrofräsen handelt es sich um ein zerspanendes Verfahren, mit dem Strukturen von größer 100µm hergestellt werden können. Am AG MST kamen mikrogefräste Strukturen für die Herstellung von heißgeprägten ITP Substraten zum Einsatz (s. Abb. 3.3). Diese wurden anfangs am Forschungszentrum Karlsruhe hergestellt, mittlerweile besitzt das AG MST eine eigene Mikrofräse.

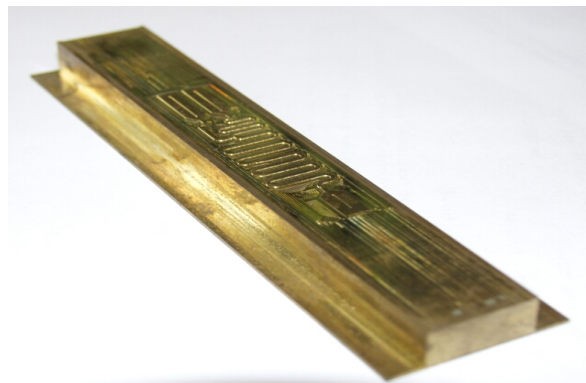


Abb.: 3.3: Mikrogefräster Messingstempel

Als Stempelmateriale kam Messing zum Einsatz, was eine hohe Lebensdauer der Diamantfräser gewährleistet. Ziel ist es jedoch, Vorformen aus einem härteren Material zu erhalten, das nicht mehr so schnell zerstört werden kann (s. Abb. 3.4). Messing hat eine Brinellhärte von 75 HB, die im Bereich von Nickel liegt, Stahl hat mit 95..440 HB jedoch eine erheblich höhere Härte und ist somit für die Vorformherstellung mittels Frästechniken besser geeignet [NÜH-89]. Da im Gegensatz zur Galvanik keine Kopie der Vorform herstellbar ist und bei Nachbauten mit Abweichungen zu rechnen ist, sollte eine hohe Härte gewählt werden, um Abnutzungen und Beschädigungen möglichst zu vermeiden.

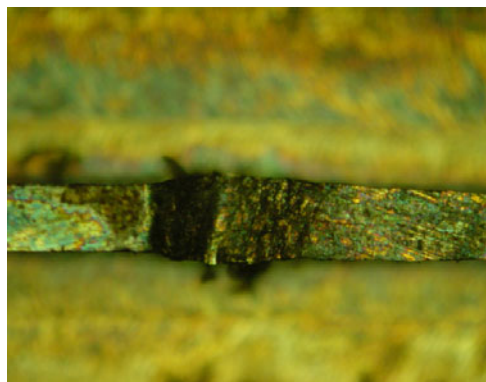


Abb. 3.4: Defekt an einem Messingstempel

Ein weiterer Nachteil sind die Radien, die zwangsläufig an Kreuzungspunkten entstehen. Hierdurch wird die Diffusion in die anderen Fluidikabschnitte gesteigert. Momentan sind Fingerfräser bis zu einem Durchmesser von 150 μm zu erhalten (s. Abb. 3.5 a)).

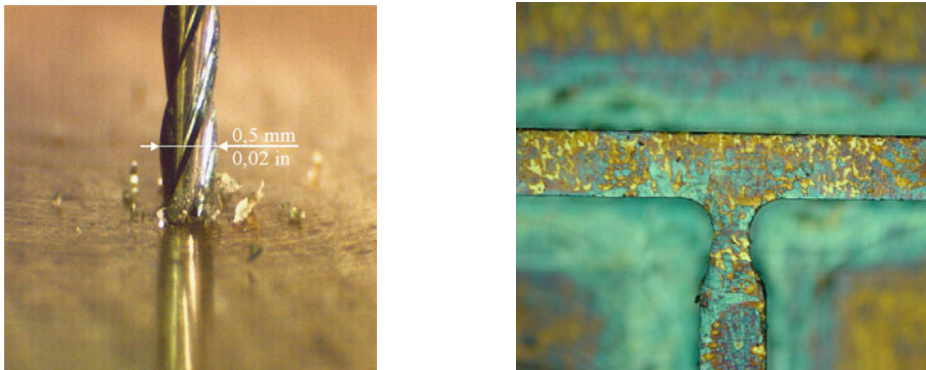


Abb. 3.5: a) 500 μm Mikro-Fräser, b) Verrundungen im Kreuzungsbereich

Dieser Radius ist zwangsläufig auch an den Kreuzungen vorhanden (s. Abb. 3.5 b)). Die durch Mikrofräsen zu erzielende Wandrauhigkeit liegt bei ca. 200 nm, die Oberflächengüte kann dagegen besser ausfallen, da der Kanalboden durch vorheriges Läppen auf Werte um 100 nm gebracht werden kann und die Substratoberfläche für die Fluidik keine Rolle spielt, sondern im Gegenteil hier Rauigkeiten die Klebeeigenschaften der Oberfläche verbessern (s. Anhang). Die Kanalflanken sind nahezu senkrecht (s. Abb. 3.6), was teilweise zu Problemen bei der Abformung führen kann, da sich die Substrate nicht mehr fehlerfrei von dem Stempel lösen lassen. Dies führt zu Ausreißungen in den Kanälen, die unerwünscht sind.



Abb. 3.6: Abgeformte Kanalstruktur für einen ITP-Chip

Um den Nachteil der Radien an den Kreuzungspunkten auszugleichen, ist es möglich, eine Positivform der Struktur zu fertigen, d.h. die Struktur zu fräsen, die später in Kunststoff

abgebildet werden soll. Diese Urform muss nun mittels Replikationstechnik in ein Negativ, beispielsweise mit einer Galvanik umgesetzt werden.

Ein weiterer Vorteil der Mikrofrästechnik ist die Möglichkeit der Nachbearbeitung vorhandener Strukturen. So können z.B. Freistellungen in Chips gefräst werden, die für eine optische Detektion genutzt werden können oder reproduzierbar Öffnungen in Substrate gebohrt werden (s. Abb. 3.7).



Abb. 3.7: a) Justagemarker im Substrat, b) gebohrte Justageöffnungen

3.4 Prägestempelherstellung durch Dicklacktechnik und Galvanik

Seit der Einführung der ersten kommerziellen Fotolacke durch O. Süss im Jahre 1944 ist ihre Entwicklung schnell fortgeschritten. Heutzutage gibt es eine Vielzahl von Fotolacken in der Mikrotechnik, die noch in verschiedene Serien unterteilt werden können. Sie alle unterscheiden sich in bestimmten Eigenschaften, wie z.B.: Positiv- und Negativlacke, Lacke für Image-Reversal-Prozesse, Lacke für dicke Schichten, Lacke mit unterschiedlicher Empfindlichkeit und für verschiedene Wellenlängen (z.B. Röntgenresiste) [[MAD-02](#)].

Für die Dicklacktechnik ist der Negativlack theoretisch prädestiniert, da mit ihm hohe Strukturhöhen und Aspektverhältnisse erzielt werden können. Nachteilig ist jedoch, dass diese Lacke zu Hinterschneidungen neigen, die ein Abformen unmöglich machen und zudem kein Remover erhältlich ist, mit dem sich der Lack rückstandsfrei aus der Nickelform entfernen lässt. Aus diesen Gründen wurde auf den Einsatz von Negativlacken weitestgehend verzichtet, nur für die Vorformen mit integrierten Wellenleitern kam ein Negativlack zum Einsatz.

Während dieser Arbeit kamen mehrere Positivlacke zum Einsatz, die sich vornehmlich durch ihre Viskosität und ihre spezifische Transparenz unterscheiden. Ideal ist ein hochviskoser Lack, der zugleich möglichst transparent ist, damit eine Durchbelichtung auch von tiefen Strukturen möglich ist. Eine hohe Viskosität und Transparenz lässt sich meistens nur durch den Nachteil einer hohen Lösungsmittelkonzentration erkaufen. Dies führt dazu, dass die erstellten Lackdicken beim Austreiben der Lösungsmittel schrumpfen, oder schlimmer noch, die Lösungsmittel nicht vollständig ausgetrieben werden können, was sich negativ auf den anschließenden Galvanikprozess auswirkt (s. Abb. 3.8). Die verbliebenen Lösungsmittel sorgen dafür, dass die Haftung der Metallschicht, die für das Galvanisieren erforderlich ist nicht ausreichend ist und Kanten durch die thermische Belastung beim Sputtern verrunden, was ein Absenken der Randstrukturen zur Folge hat. Ziel der hier vorliegenden Forschungen war es, einen Fotolack zu finden, der hohe Schichtdicken zulässt und es zugleich erlaubt, die enthaltenen Lösungsmittel auszutreiben.

Hierzu kamen Fotolacke der Firma AllResist GmbH zum Einsatz. Im Gegensatz zu den meisten anderen Herstellern, war es hier möglich auf die Lackzusammensetzung Einfluss zu nehmen und Lacke in geringen Mengen beziehen zu können. Insgesamt kamen sieben verschiedene Fotolacke zum Einsatz die jedoch nur zwei verschiedenen Serien entstammen, der Serie AR-P 3220 [[AR2-02](#)] und der Serie AR-P 3210 [[AR1-02](#)].



Abb. 3.8: Starke Oberflächenwelligkeit durch mangelnde Haftung der Metallschicht

Die Fotolacke enthalten Novolac-Harz und Naphtochinondiazid als fotoaktiven Bestandteil, die in einem Lösemittelgemisch mit dem Hauptbestandteil 1-Methoxy-2-propyl-acetat gelöst sind. Zur Entwicklung der belichteten Resistschicht wurde der mit VE-Wasser verdünnte Entwickler AR 300-26 benutzt. Laut Datenblatt wird der Entwickler empfohlen, um einen hohen Kontrast, kurze Entwicklungszeiten und steile Kanten zu erzielen [[AR3-02](#)]. Um die hohen Schichtstärken zu realisieren, weisen die Fotolacke zudem eine hohe Viskosität auf.

Im Folgenden wird auf die Besonderheiten der verwendeten Lacke eingegangen und mit einem Standard-Negativlack verglichen. Ergänzend sind die Eigenschaften des AR-P 5300/4 aufgeführt, der für den Lift-Off Prozess verwendet wurde:

	AR-P 3220	AR-P 3210	AR-P 5300/4	SU-8
Lackart:	Positivlack	Positivlack	Positivlack	Negativlack
Farbe:	Rotbraun	Rotbraun	Rotbraun	Hellgelb bis klar
Enthaltene Feststoffe:	46 %	51 %	31 %	73.09 %
Dynamische Viskosität (n) bei 25°C in mPa*s:	>500	>1000	14	ca. 55940
kinematische Viskosität (v) bei 25°C in cst:	458,72	917	13	51320
Spektrale Sensibilität:	308-450 nm	308-450 nm	308-450 nm	350-400 nm
Absolute Filtration:	1,2 µm	3 µm	0,2 µm	10 µm
Lösungsmittel:	1-Methoxy-2-propylacetat (PMA)	1-Methoxy-2-propylacetat (PMA)	Amylalkohol/Butylacetat	Gamma Butyrolaceton
Löslichkeit in Wasser:	Unlöslich	Unlöslich	Unlöslich	20-30 %
Siedepunkt:	146° C	146° C	126-136° C	204° C
Flammpunkt:	43° C	42° C	35° C	98° C
Zündtemperatur:	314° C	314° C	335° C	437° C
Typische Lackdicken laut Hersteller	6 µm bei 7000 UPM 22 µm bei 1000 UPM	10 µm bei 4000 UPM	1,5 µm bei 4000 UPM	100 µm bei 2500 UPM

Tabelle 3.2: Physikalische und chemische Eigenschaften der AR-P3220, der AR-P3210 Serie, des AR-P 5300/4 und des SU-8

Die Fotoresistreihe AR-P 3220

Die AR-P 3220 Serie umfasst hochviskose Positivlacke. Ihre physikalischen und chemischen Eigenschaften sind in Tabelle 3.2 dargestellt. Nach Angaben des Herstellers [AR2-02] sind hiermit homogene Lackschichten im Bereich von 3 µm (7000 min⁻¹) bis 22 µm (2000 min⁻¹) erreichbar. Mit diesem ursprünglich für Standardanwendungen entwickelten Lack lassen sich somit in einem beschränkten Rahmen auch Dicklackstrukturen erzeugen. Durch Parametervariation ist es möglich, ausreichend homogene Lackschichten bis zu einer Dicke von 25 µm herzustellen. Dicken über 25 µm lassen sich reproduzierbar und mit ausreichender Homogenität nur mit Mehrfachbelackungen realisieren, wie dies erstmals 1999 am AG MST durchgeführt wurde [SIE-99].

Mit dieser Technik lassen sich Schichten bis zu 100 µm realisieren. Problematisch ist, wie schon zuvor beschrieben, das Austreiben der Lösungsmittel. Als beste, jedoch die auch am zeitlich aufwendigste Methode, ist das Lagern von belackten Wafern bei leicht erhöhten Temperaturen (40° C).

Die Transparenz dieser Lackserie ermöglicht maximale Strukturturen von 17 μm , die sich mit einmaligen Belichten (20 Sek.) entwickeln lassen. Auch eine Erhöhung der Belichtungsdauer bringt keinen Zugewinn an Belichtungstiefe. Durch Toleranzen beim Ausrichten des Wafers zur Maske sind Lackschichten über 50 μm nicht zu empfehlen. Weiterhin wird die Lackoberfläche durch den langen Kontakt mit dem Entwickler angegriffen (s. Abb. 3.9) und die Strukturaufweitung nimmt zu. Ein Ziel dieser Arbeit war es jedoch, Strukturturen von bis zu 50 μm möglichst genau und reproduzierbar herstellen zu können. Aus diesem Grund wurden die Forschungen mit diesen Lacken aufgegeben und mit einer Experimentallackreihe gearbeitet.

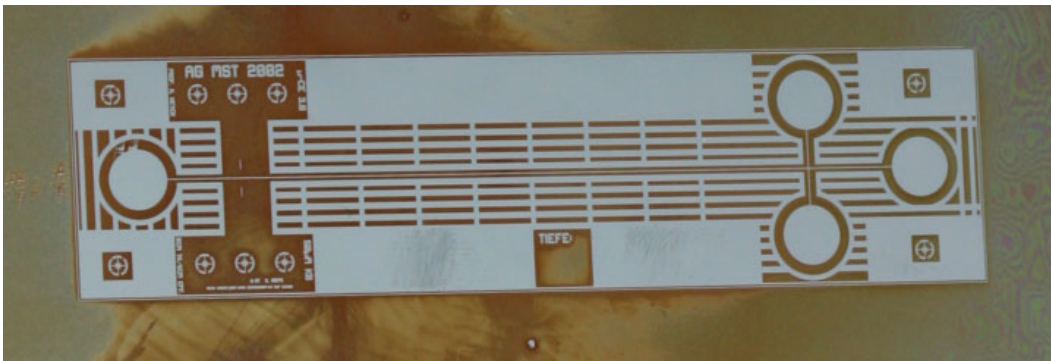


Abb. 3.9: Durch Entwickler angegriffene Lackoberfläche

Die Fotoresistreihe AR-P 3210

Als zweite Lackserie wurde die AR-P3210 Serie der Firma AllResist GmbH verwendet und optimiert. Die Lacke AR-P3210/1-5 sind allesamt Experimentallacke, die in Zusammenarbeit zwischen dem AG MST und der Firma AllResist GmbH optimiert wurden. Die grundlegenden Eigenschaften sind ebenfalls in [Tabelle 3.2](#) dargestellt. Die Optimierung umfasste die Haftung der Lacke auf einem Wafer, die Lösungsmittelbestandteile und die Transparenz der Fotolacke. Die Lacke 1-3 wurden schnell verworfen, da die Haftung der Lacke unbefriedigend war. Die Serie 4 hat sich als gut geeignet für die Anforderungen der Mikrostrukturtechnik erwiesen. Strukturturen bis 100 μm lassen sich mit Mehrfachbelackung und Einfachbelichtung umsetzen.

In Serie 5 wurde der Lösungsmittelanteil reduziert und damit eine geringere Fotoempfindlichkeit in Kauf genommen. Dieser Lack eignet sich hervorragend für Strukturturen bis 50 μm . Er kann einerseits immer noch mit einer Belichtung entwickelt werden und andererseits ist ein anschließendes Metallisieren und Galvanisieren durch den geringeren

Lösungsmittelanteil einfacher zu realisieren. Um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten, ist es jedoch auch bei diesen Fotolacken erforderlich, die belackten Wafer für 10 Tage bei 50° C zu lagern. Ohne diese Lagerung variieren die Entwicklungsergebnisse erheblich.

3.4.1 Praktische Durchführung der Dicklacktechnik

Um eine Vorform mittels Dicklacktechnik herstellen zu können, sind eine ganze Reihe einzelner Prozessschritte notwendig. Die für den Erfolg der Vorformherstellung wesentlichen Schritte werden im Folgenden beschrieben. Auf Standardverfahren wird nicht näher eingegangen, hier sei auf die entsprechende Literatur verwiesen [[MEN-97](#), [MAD-02](#)]. Die reinen Fluidik-Chips sind mittels Positivtechnik realisiert worden, die Chips mit integrierten Wellenleitern und Fluidikstrukturen wurden in Positiv- sowie Negativlacktechnik realisiert. Insgesamt konnte ein Spektrum von 6 µm bis zu 100 µm mit diesen Techniken abgedeckt werden.

Als Plattform für die Vorformherstellung sind 4“ bzw. 5“ Wafer verwendet worden. Diese ermöglichen eine maximale Strukturlänge von 10 cm. Durch das notwendige Entfernen der Randwulst standen jedoch maximal 9 cm für die 4“ Wafer zur Verfügung [[SIE-99](#)] (s. Abb. 3.10 a)). Prinzipiell sind auch größere Wafer verwendbar, da die Chip-Geometrien jedoch im Bereich von maximal 10 cm lagen, ist die Nutzfläche der verwendeten Wafer vollkommen ausreichend.

Als Vorbehandlung wurden die Wafer gereinigt und mit HMDS behandelt. Die HMDS Schicht dient als Haftverstärker für den Fotolack. Die Belackung wurde mit einer Standardlackschleuder durchgeführt, die in diesem Fall computergesteuert wird. Dadurch lassen sich die Verteilgeschwindigkeit und die Abschleudergeschwindigkeit reproduzierbar einstellen. Fehlerquellen in diesem Arbeitsschritt sind Haftungsfehler auf dem Wafer und Luftblasen bzw. Schmutzeinschlüsse (s. Abb. 3.10 b)). Gerade die Problematik der Lufteinschlüsse lässt sich nur schwer vermeiden. Durch die hohe Viskosität der verwendeten Lacke verbleiben Luftblasen auf der Probe, zudem entstehen durch zu schnell ausgetriebene Lösungsmittel ebenfalls Gaseinschlüsse, wie dies durch zu hohe Temperaturen beim Softbake geschehen kann ($T > 90^\circ \text{C}$).

Als reproduzierbar herzustellende Schichtdicke ergibt sich für den AR 3210/5 50 μm . Noch dickere Lackschichten lassen sich nur durch Mehrfachbelackungen herstellen. Hierzu wird der Wafer nach dem Softbake nochmals dem Belackungsprozess zugeführt. Die resultierende Lackschicht ist jedoch um ca. 10% dicker als eine Lackschicht direkt auf dem Wafer, was sich durch die bessere Haftung erklären lässt.

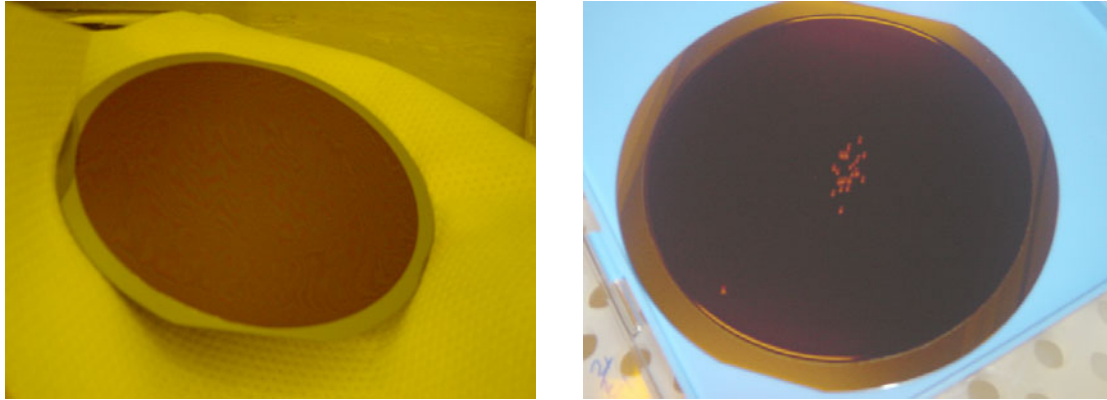


Abb. 3.10: a) Wafer mit entfernter Randwulst, b) Störstellen im Fotolack

Nach dem Belacken müssen die im Lack befindlichen Lösungsmittel ausgetrieben werden, dies geschieht durch ein Softbake. Nach dem Softbake sind die Lackschichten unempfindlich gegen Staub oder leichte Berührungen und kleben auch nicht mehr an der Maske. Durch die hohe Viskosität der Lacke bildet sich an der Waferkante eine Randwulst, die eine erheblich höhere Dicke hat, als die restliche Lackfläche. Dies ist durch die Oberflächenspannung des Lackes zu erklären. Diese Randwulst ist für die folgende Belichtung äußerst schädlich, da sie eine Proximitybelichtung verursacht und damit eine Strukturaufweitung, die nicht reproduzierbar ist (s. Abb. 3.11).



Abb. 3.11: Auswirkung einer Randwulst

Durch Verwendung einer Hilfsmaske ist es jedoch möglich, diese Randwulst vor der eigentlichen Lithografie zu belichten und anschließend die Randwulst zu entfernen. Damit schrumpft die verwendbare Fläche allerdings um ein paar Millimeter, was aber durch Nutzung von 5“ Wafern ausgeglichen wird. Nach diesem Schritt wurden die Wafer für

mindestens 10 Tage in einem Ofen bei 50° C gelagert, um die Lösungsmittel weiter auszutreiben. Anschließend muss der Wafer nochmals einem Softbake zugeführt werden, das diesmal für 30 Min. bei 100° C durchgeführt wird. Ohne das vollständige Austreiben der Lösungsmittel, wird der Lack beim Entwickeln angegriffen oder bei der Galvanik zerstört (s. Abb. 3.12).

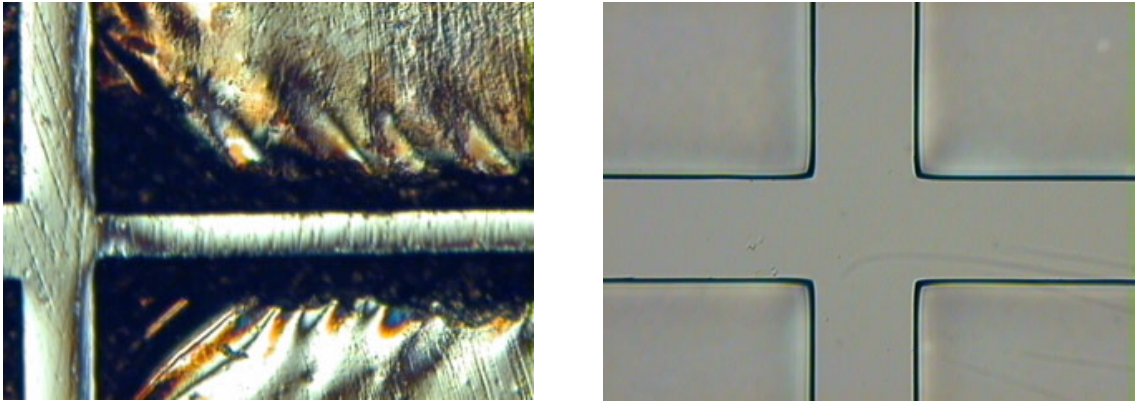


Abb. 3.12: a) Strukturzerstörung durch nicht vollständig ausgehärteten Fotolack, b) gut galvanisierter Kreuzungsbereich

Mit Hilfe eines Profilometers (Alphastep 500) kann anschließend die Lackdicke bestimmt werden. Wie in Diagramm 3.1 ersichtlich, kann die Lackdicke sehr reproduzierbar eingestellt werden. Allerdings spielen Umwelteinflüsse, wie schwankende Luftfeuchtigkeiten eine nicht zu vernachlässigende Rolle. Bei einer Schwankung der Luftfeuchte um 14 %-Punkte variierte die Lackdicke ebenfalls um 2-3 μm , was bei einer Dicke von 22 μm eine Abweichung von 10 % bedeutet und damit nicht mehr vernachlässigt werden kann.

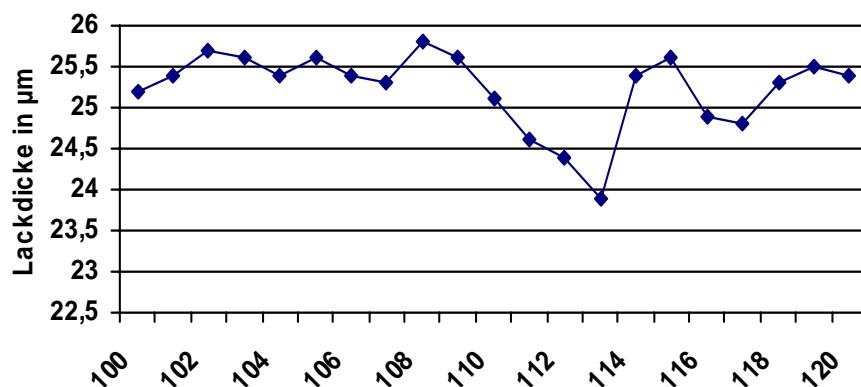


Diagramm 3.1: Varianz der Lackdicke bei konstanten Herstellungsparametern

Die benötigte Bestrahlungsdosis liegt laut Hersteller bei dem Experimentallack AR-3210/5 bei 110 mJ/cm^2 . Da die benötigte Energie jedoch stark von der Vorbehandlung abhängt,

beispielsweise wie viel Lösungsmittel noch im Lack enthalten ist, müssen diese Werte experimentell ermittelt werden. Da es sich zudem um Experimentallacke handelt, ist es erforderlich, die Belichtungszeit mit der Strukturaufweitung abzugleichen. Oberstes Ziel war es hier, Prozessparameter zu finden, mit denen reproduzierbar Vorformen gefertigt werden können. Das vollständige Austreiben der Lösungsmittel ist Grundvoraussetzung für gleich bleibende Ergebnisse. Ein gutes Kriterium für die Qualität der Entwicklung ist die Flankensteilheit. Bei nicht ausreichender Entwicklungszeit ergeben sich flache Flanken, bei ausreichender Entwicklungszeit ergeben sich dagegen nahezu senkrechte Flanken. Ideal für eine spätere Abformung sind Flanken mit einem Öffnungswinkel von 95-100°.

Neben der Belichtungszeit gehen auch noch der verwendete Entwickler und die entsprechende Konzentration in die Strukturgenauigkeit ein. Als gut für die Entwicklung geeignet hat sich eine Konzentration von 1:3 erwiesen, als Entwickler kam AR 300-26 der Firma AllResist GmbH [[AR3-02](#)] zum Einsatz. Bei anderen Mischungsverhältnissen wurde entweder der Unterschied zwischen Strukturoberweite und Unterweite zu groß oder der Lack wurde durch den Entwickler angegriffen. Die Entwicklungszeiten lagen für die 25 µm Lackdicke bei ca. 40 Min. je nach Belichtungszeit. Gleichzeitig ergab sich eine Strukturverbreiterung von mindestens 6 %, dies entspricht bei einer Sollvorgabe von 75 µm einer Strukturbreite von 80 µm. Diese Abweichung kann nur durch eine entsprechende Maske ausgeglichen werden.

Für Lackdicken von größer 25 µm können keine festen Parameter angegeben werden, da die Werte insgesamt zu stark schwanken. Die Lackstärke für 50 µm kann noch reproduzierbar hergestellt werden, jedoch konnten bisher keine Parameter gefunden werden, um die Lösungsmittel aus dem Lack zu entfernen. Im Gegensatz zur 25 µm Lackdicke ist ein zusätzliches Softbake von 40 Min. (statt 30 Min.) erforderlich. Eine weitere Lagerung bei Raumtemperatur ist ebenfalls für die Ergebnisse zuträglich. Für 50 µm Lackdicken liegt die Aufweitung der Strukturen bei mindestens 20 % (60 µm bei 50 µm Soll).

Als Schwierigkeit hat sich der abschließende Temper-Prozess herausgestellt, bei dem der Lack endgültig aushärten soll, um die anschließende Galvanik zu überstehen. Durch die Lackzusammensetzung neigt der Lack bei Temperaturen höher 60° C dazu, sich wieder zu verflüssigen und damit die Strukturen zu zerstören. Als schonende Alternative bleibt nur ein Langzeit-Hardbake für mehrere Tage bei Temperaturen um 50° C in einem Umluftofen und einem abschließenden Hardbake auf einer Hotplate bei 53° C für 16 Std.. Die Temperaturen

werden so gewählt, da das Galvanikbad eine Temperatur von 52° C und damit die höchste Temperaturbelastung für die anschließenden Prozesse aufweist. Um die Vorform bei der Metallisierung nicht zu zerstören, wurde dieser Prozess für eine möglichst schonende Behandlung angepasst.

3.4.2 Qualität und Reproduzierbarkeit der Dicklacktechnik

Die Qualität der mit Hilfe der Dicklacktechnik produzierten Vorformen ist für die Mikrofluidik vollkommen ausreichend. Es werden Oberflächenrauigkeiten von 15 nm für 25 µm Strukturen erreicht (s. Abb. 3.13). Der Kanalboden besitzt mit einer Rauigkeit von 5 nm einen besseren Wert, der durch die Oberfläche der Silizium Wafer zu erklären ist als die Lackoberfläche. Diese spielt jedoch für die Fluidik keine Rolle, da sie mit dem Deckel verklebt wird. Die Kanaloberseite wird durch den PMMA Deckel vorgegeben, der seinerseits den Metallisierungsprozess durchlaufen hat (s. Kapitel 4.2). Der Kanalquerschnitt zeigt ein leicht v-förmiges Profil, das für die Abformung hervorragend geeignet ist. Der Öffnungswinkel kann durch die Belichtungszeit und die Entwicklerkonzentration eingestellt werden, es konnten Winkel von 4-20° realisiert werden. Neben diesen eindimensionalen Strukturen – in Bezug auf die Tiefe – wurden auch mehrdimensionale Strukturen realisiert (s. Abb. 3.14). Hierzu müssen Mehrfachbelichtungen mit verschiedenen Masken durchgeführt werden. Die Qualität der Strukturen leidet unter diesem Verfahren, da Fehljustagen nicht ausgeschlossen werden können.

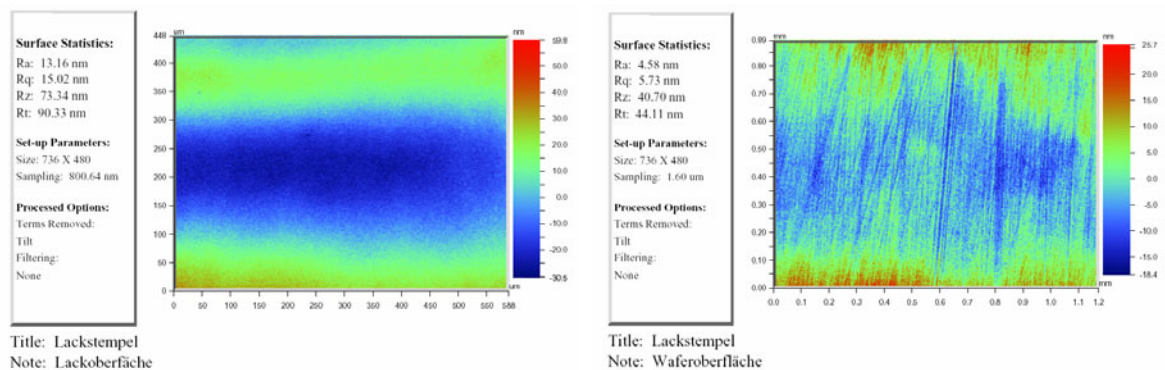


Abb. 3.13: Rauheitswerte für Dicklackstempel: a) Lackoberfläche (Klebefläche),
b) Waferoberfläche (Kanalboden)

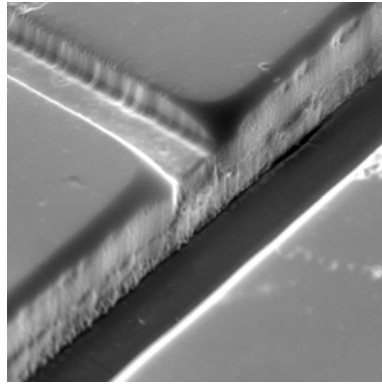


Abb. 3.14: Mehrstufige Dicklackstruktur (20/50 μm Tiefe)

Die Qualität der Dicklackstrukturen lässt mit der Dicke nach, für 25 μm Lackdicke konnte eine Strukturaufweitung von 6 % bei einer Sollstruktur von 75 μm erreicht werden, für die 50 μm Lackdicke lag die Aufweitung bereits bei 20 % für eine 50 μm Sollstruktur. Gleichzeitig steigt der Öffnungswinkel an, was aber für mikrofluidische Strukturen nicht nachteilig ist.

Die Reproduzierbarkeit für den Lithografieprozess ist mit einer Dickenvariation von 5 % (s. Diagramm 3.1) und einer Strukturvariation von 7 % für gleiche Parameter bei Strukturen von 75 μm und einer Lackdicken von 25 μm hoch. Für höhere Lackdicken muss allerdings mit erheblich höheren Abweichungen gerechnet werden.

Größere Dicken als 50 μm lassen sich nur im Labormaßstab fertigen, hier liegt noch erheblicher Forschungsbedarf. Die Ausschussquote für die 25 μm Dicklack-Wafer lag zum Ende bei 70 %, wobei die größten Anteile durch Lufteinschlüsse im Lack und den Galvanikprozess verursacht wurden. Ideal wäre ein hochviskoser Fotolack, der nicht so viele Lösungsmittel enthält. Auch die Entwicklung von neuen Negativlacken bringt für die Vorformherstellung neue Möglichkeiten. Hauptvoraussetzung für die Verwendung von Negativlacken bleibt die Herstellung von positiven Flanken und die Entfernbarekeit des Lackes aus der Nickelform

3.4.3 Galvanische Abformung

Von den in Kapitel 3.3 hergestellten Lack-Vorformen wird nun mittels Galvano-Techniken ein Prägestempel hergestellt. Dieses Verfahren ist spätestens seit der kommerziellen Herstellung von CD's und der Entwicklung der LIGA-Technik im Mikrosystembereich

etabliert [[HAR-88](#), [MAN-88](#)]. Die Lack-Vorform wird zunächst mit Silber bedampft oder besputtert, um eine leitfähige Schicht zu erzeugen. Dann erfolgt in einem Galvanikbad, hier: Nickelsulfamatbad, die Abscheidung von Nickel.

Das Nickel scheidet sich unter der Bedingung homogener Stromlinien gleichmäßig an der Oberfläche der Kathode ab. Dies bedeutet, dass eine strukturierte Oberfläche genau durch das abgeschiedene Nickel invertiert wird. Es entsteht eine Negativform der Strukturen der Kathode.

Der mit Silber besputterte Lack-Wafer bildet in diesem Prozess die Kathode, an welcher die folgende Reduktion abläuft [[WIE-98](#)]:



Danach wird diese Abscheidung vom Wafer getrennt. Um den Prägestempel in speziellen Prägewerkzeugen einsetzen zu können, muss er auf die benötigte Größe zugeschnitten werden. Der gesamte Prozess ist in Diagramm 3.2 dargestellt.

Ein großer Vorteil der Replikation mit Nickel ist die Möglichkeit, mehrere Abzüge einer guten Nickel-Masterform herstellen zu können. Hierzu wird von der im ersten Galvanikschritt erhaltenen Masterform (Negativ) eine Kopie angefertigt. Diese Kopie enthält nun identisch die Strukturen, die bereits auf der Kathode vorhanden waren. Sie stellt somit ein Positiv der abzuformenden Strukturen dar. Es ist nun möglich, von diesem Blech viele Kopien anzufertigen. Diese Kopien, die wieder Negative der ursprünglichen Strukturen darstellen, können dann als Formeinsätze zum Prägen oder Spritzgießen verwendet werden.

Praktische Durchführung

Da es bisher keine Erfahrung mit der galvanischen Abformung für Dicklackstrukturen gab, mussten die Prozessparameter neu entwickelt werden. Besonderes Augenmerk galt der Erhaltung der Strukturen. Als problematisch haben sich ein Aufweiten der Strukturen durch Temperaturbelastung und eine mangelnde Haftung der Metallschicht mit dem Lack erwiesen. Grundvoraussetzung für eine erfolgreiche Umformung ist das restlose Austreiben

der vorhandenen Lösungsmittel. Dadurch ist gewährleistet, dass sich die Metallschicht nicht vom Fotolack löst.

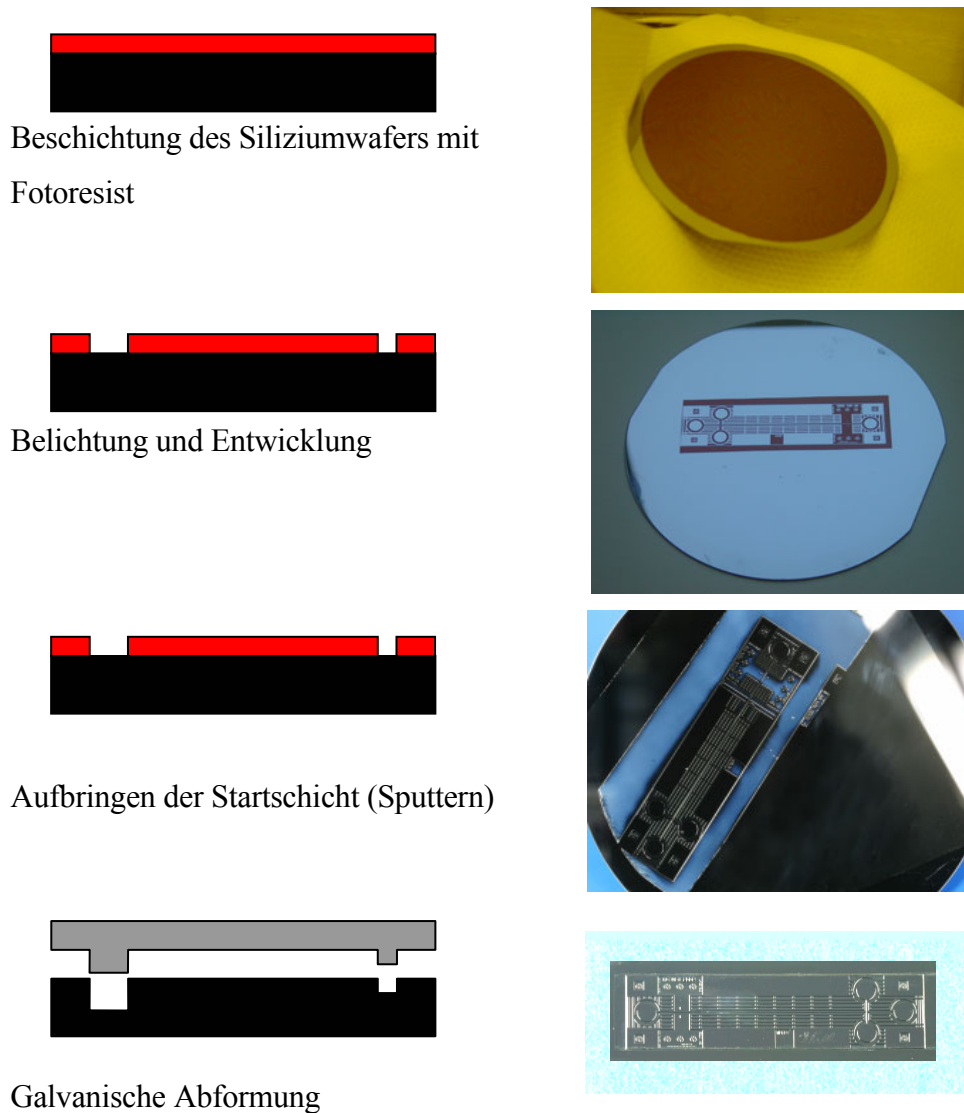


Diagramm 3.2: Prozessschema: Vom Wafer zum Nickelblech

3.5 Abformung

Mit den nun vorliegenden Vorformen können Substrate hergestellt werden. Dafür bieten sich prinzipiell zwei Verfahren an, das Spitzguss und das Heißprägen. Für kleine Stückzahlen wird allgemein das Heißprägen bevorzugt, da hier keine teuren Abformwerkzeuge benötigt werden, sondern direkt mit der Vorform gearbeitet werden kann. Werden jedoch größere Stückzahlen benötigt, die oberhalb von 5000 Stück liegen, macht sich der Anschaffungspreis

für ein Spritzgusswerkzeug bezahlt, da die Zykluszeit für das Spritzgießen unter dem Heißprägen liegt. Für die schnelle Prototypenherstellung bietet sich zudem noch die Herstellung mit Hilfe von PDMS an, die nur über die Vorform gegossen werden muss [Duf-98]. Die Abformgüte von PDMS ist sehr gut und durch die elastomeren Materialeigenschaften können damit sogar hinterschnittene Strukturen abgeformt werden.

Heißprägen

Beim Heißprägen wird das zu strukturierende Material über seinen T_g hinaus erwärmt und dann gegen die formgebende Struktur gepresst. Unter Druck wird das System anschließend abgekühlt und unterhalb des T_g voneinander getrennt [SIE-98]. Am AG MST standen hierfür mehrere Heißprägemaschinen zur Verfügung (s. Abb. 3.15)



Abb. 3.15: Heißprägemaschinen mit Vakuumkammer

Die Qualität und die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse hängen stark von der Beschaffenheit der Aufnahme ab. Ohne Benutzung einer geschlossenen Kavität sind die Außenabmessungen der Substrate nicht definiert und damit ist auch die Dicke der Substrate nicht homogen. Die Qualität der Abformung lässt sich durch die Verwendung einer geschlossenen Kavität erheblich steigern.

Spitzguss

Um Substrate in großer Stückzahl herstellen zu können, ist der Spritzguss die geeignetere Methode. Hierbei wird der Kunststoff weit über seine Schmelztemperatur hinaus erwärmt und anschließend in das Formnest eingespritzt, was Zykluszeiten von wenigen Minuten

bedeutet.

Ein weiterer Vorteil dieser Herstellungsmethode ist, dass es möglich ist, Durchbrüche, die als Fluidikanschluss dienen, zu realisieren (s. Abb. 3.16). Durch die Integration ist ein zeit-
aufwendiges und kostenintensives Nachbearbeiten der Substrate überflüssig. Dies ist ein wichtiger Gesichtspunkt in Hinsicht auf eine kommerzielle Umsetzung. Der Einsatz der Spritzgusstechnik lohnt sich finanziell jedoch erst ab Stückzahlen größer 5.000, da ein entsprechendes Werkzeug mindestens 25.000 € kostet. Im Gegensatz hierzu kostet ein Heißprägewerkzeug ca. 5.000 €.

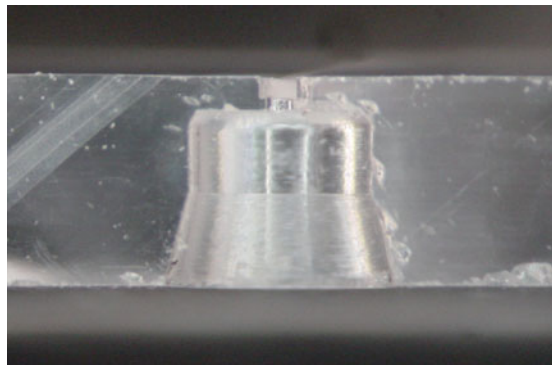


Abb. 3.16: Querschnitt durch einen spritzgegossenen ITP-Chip mit integrierten Anschlussöffnungen

Nachbearbeitung

Bei mit Heißprägen hergestellten Substraten müssen die Anschlussöffnungen nachträglich eingebracht werden (s. Abb. 3.17). Im einfachsten Fall geschieht dies mit einem Bohrer. Durch eingebrachte Justagestrukturen kann die Freistellung jedoch auch mit einer CNC-Fräse durchgeführt werden. Dies hat den Vorteil, dass die Bohrungen reproduzierbarer und damit auch größer ausfallen können, ohne die Fluidikkanäle zu zerstören. In diesem Verfahrensschritt können gleichzeitig auch Öffnungen für die Messelektroden und die Außenabmessungen, wie sie für die optische Detektion erforderlich sind definiert hergestellt werden. Wenn die Außenabmessungen nicht relevant sind, kann die Nachbearbeitung auch mit Säge und Poliermaschinen erfolgen (s. Abb. 3.18).

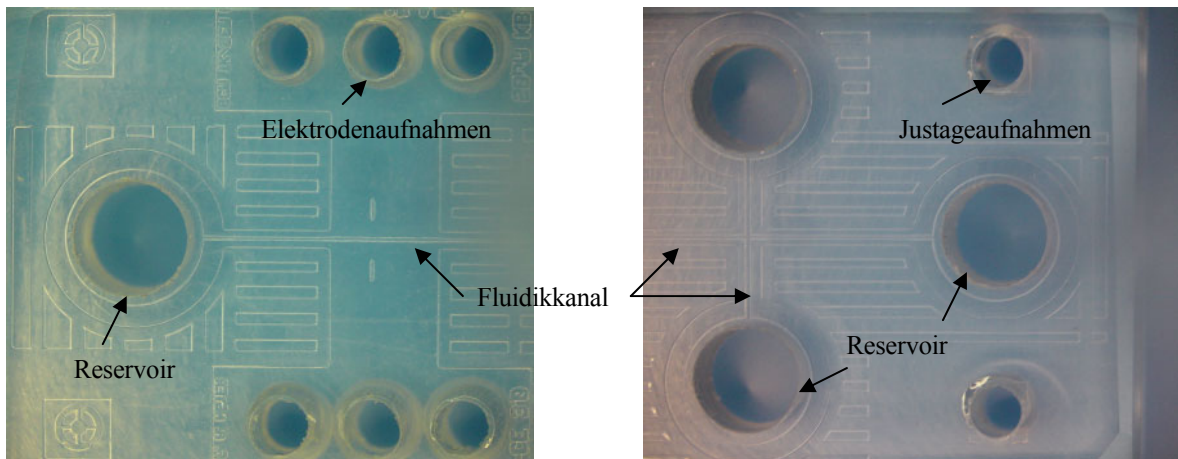


Abb. 3.17: Nachbearbeiteter CE-Chip: a) mit Reservoiröffnung und Elektrodenaufnahmen, b) mit Reservoirbohrungen und Justageaufnahmen

Die Chips werden nach dem Verkleben nochmals nachbearbeitet, um keine überstehenden Deckel und damit eine höhere Zerstörungsanfälligkeit zu erhalten. Somit sind die Außenkanten noch nicht endgültig bearbeitet und weichen somit etwas von dem in Abbildung 3.18 dargestellten Substrat ab.

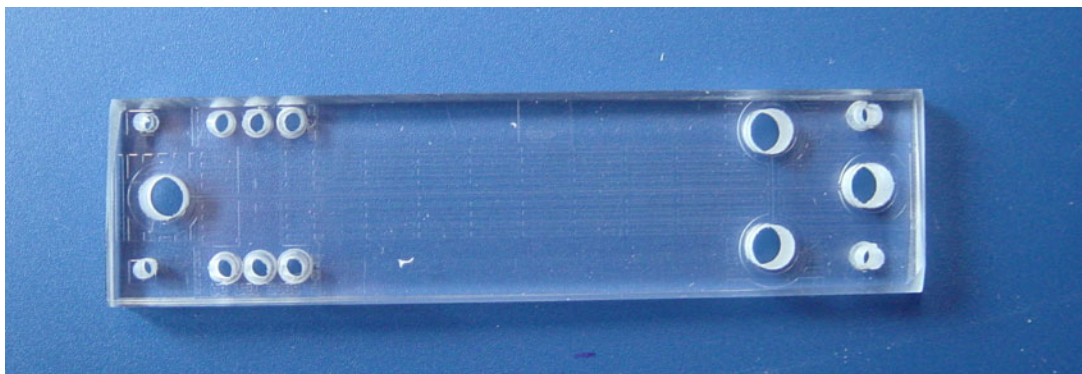


Abb. 3.18: Nachbearbeiteter CE-Chip mit Reservoirbohrungen und Justageaufnahmen

Für die ITP-Chips reichen die o. g. Anschlussbohrungen nicht aus, da hierfür ein flüssigkeitsdichtes System benötigt wird. In Abbildung 3.19 ist ein Querschnitt durch eine solche mehrstufige Anschlussbohrung gezeigt. Diese Bohrungen mussten mit einer CNC-Fräse mit integrierter Optik durchgeführt werden, da die Substrate noch keine Justageöffnungen oder definierte Außenkanten enthielten und deshalb jede einzelne Position per Hand angefahren werden musste.

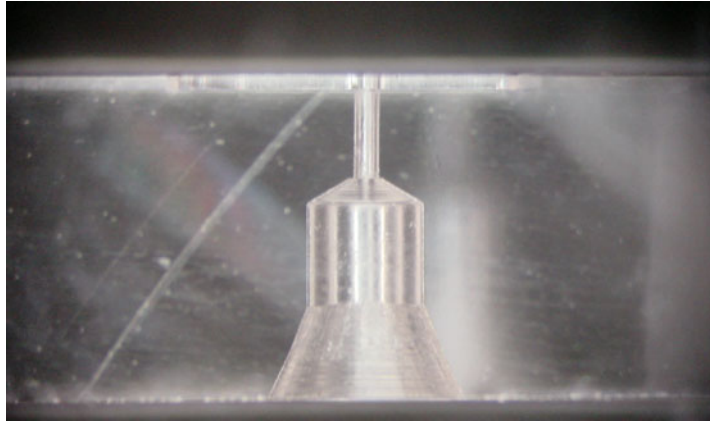


Abb. 3.19: Querschnitt durch eine ITP Anschlussbohrung

3.6 Auswertung

Die zwei Herstellungstechniken für die Vorformherstellung, Mikrofräsen und Dicklacktechnik bieten ein komplettes Spektrum für die Mikrofluidik. Je nach Anwendung hat das eine oder das andere Verfahren Vorteile. Das Mikrofräsen ist für große Strukturen und nachträgliche Bearbeitung von Vorformen bestens geeignet. Es bietet auch als einziges die Möglichkeit, reproduzierbar kontinuierliche Übergänge in der Tiefe zu schaffen. Weiterhin sind senkrechte Wände bei dieser Herstellung kein Problem. Nachteilig sind das Vorhandensein von Radien an Kreuzungspunkten und eine Wandrauigkeit von einigen hundert nm.

Die Herstellung einer Vorform mittels Dicklacktechnik bietet eine interessante Möglichkeit kleine Strukturen mit einer guten Reproduzierbarkeit zu fertigen. Während dieser Forschungsarbeit sind Techniken zur Herstellung von Strukturturen von 6-100 μm entwickelt worden. Die Strukturen sind bis 50 μm reproduzierbar herstellbar, die Strukturauflösung für Lackdicken von 25 μm liegt bei unter 20 % für 50 μm Strukturen. Die Rauheit liegt mit 15-30 nm in einem für fluidische Anwendungen günstigen Bereich und die leichte Schräge von mindestens 6 % erleichtert das Abformen. In Abbildung 3.20 bis 3.25 sind die Resultate der einzelnen Herstellungsverfahren gegenübergestellt. Es sind jeweils Kanalquerschnitte, Seitenwände und ihre Rauheit dargestellt. Für die Dicklackstempel kann keine Seitenrauheit angegeben werden, da die Fokussierung auf den 25 μm hohen Steg nicht möglich war, bzw. von Messung zu Messung stark voneinander abweichen. Eine optische Betrachtung der REM-Aufnahmen, lässt jedoch den Schluss zu, dass sie besser als bei den gefrästen Stempeln ist (ca. 100 nm).

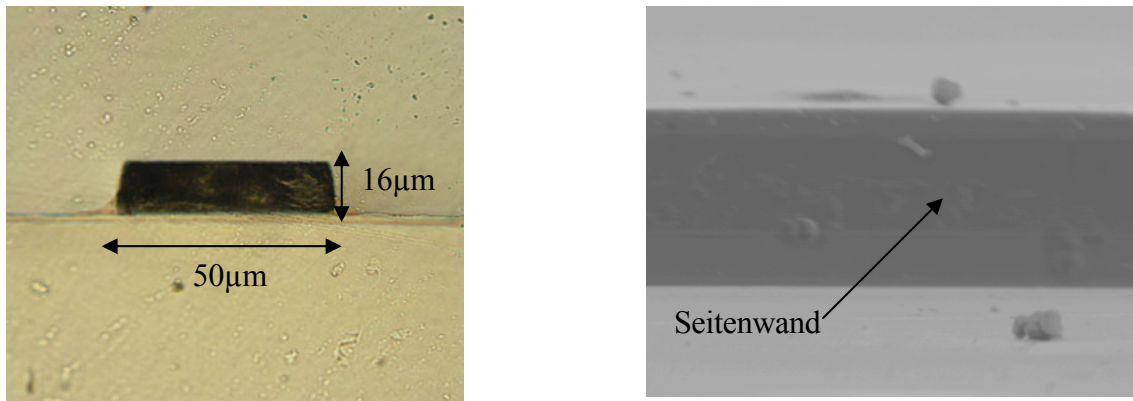


Abb. 3.20: Auswertung Dicklackstempel: a) Kanalquerschnitt, b) Seitenwand

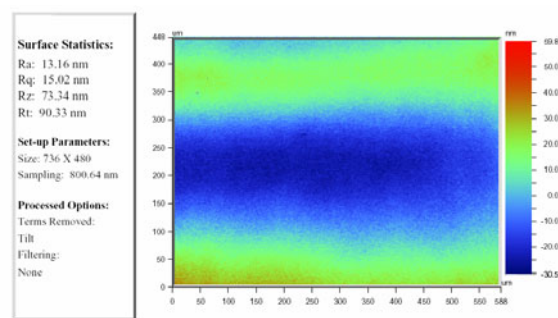


Abb. 3.21: Auswertung Dicklackstempel, Rauheit: Lackoberfläche

Die Rauheit der Lackoberfläche ist mit 15 nm nur minimal höher als die Siliziumoberfläche mit 5 nm, dies ist ein Zeichen dafür, dass die Oberfläche nicht durch den Entwickler angegriffen wurde.

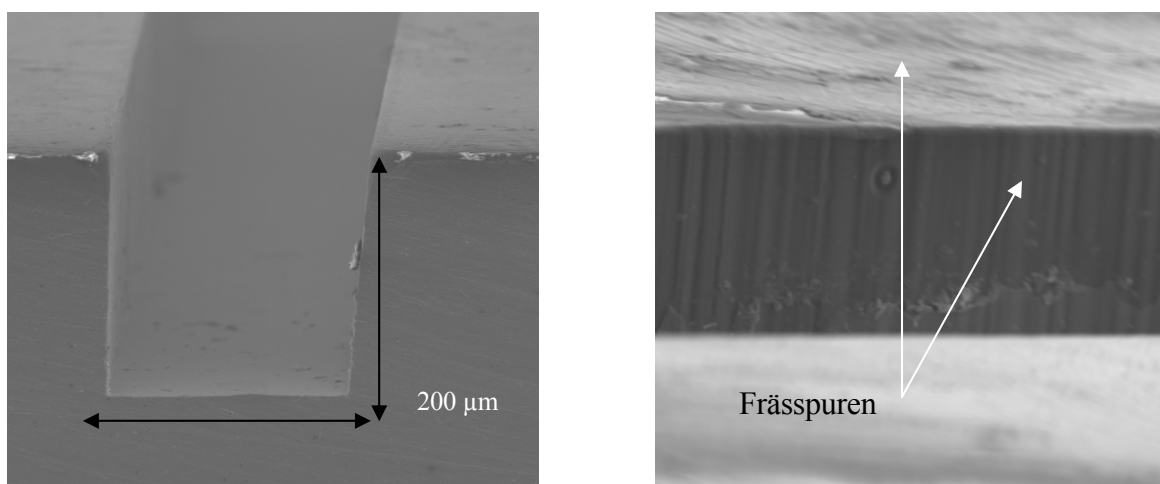


Abb. 3.22: Auswertung Messingstempel: a) Kanalquerschnitt, b) Seitenwand

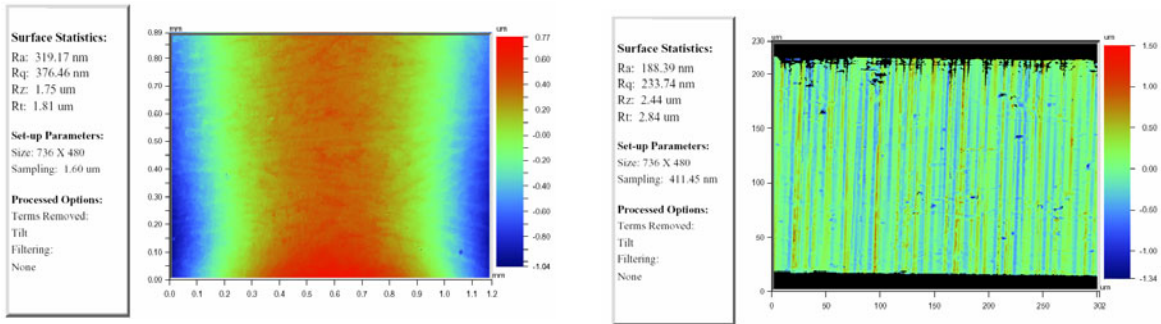


Abb. 3.23: Auswertung Messingstempel, Rauheit: a) Kanalboden, b) Seitenwand

Die Rauheit liegt mit 300 nm für den Kanalboden und 200 nm für die Seitenwand erwartungsgemäß erheblich höher als bei der Lackvorform. Die Seitenwände sind durch das Herstellungsverfahren senkrechter, es sind jedoch deutlich die Frässpuren an der Seitenwand zu erkennen, die für die Mikrofluidik jedoch nicht relevant sind.

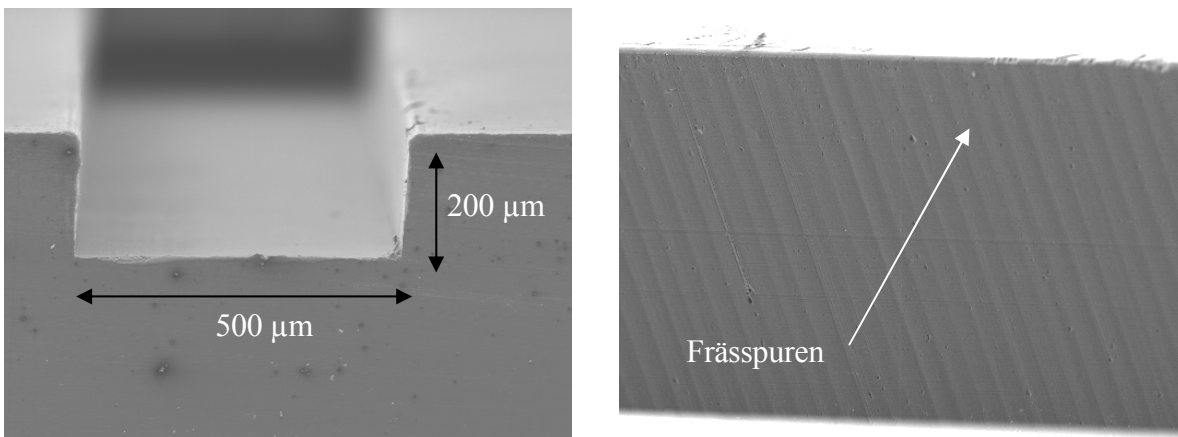


Abb. 3.24: Auswertung Spritzgussvorform: a) Kanalquerschnitt, b) Seitenwand

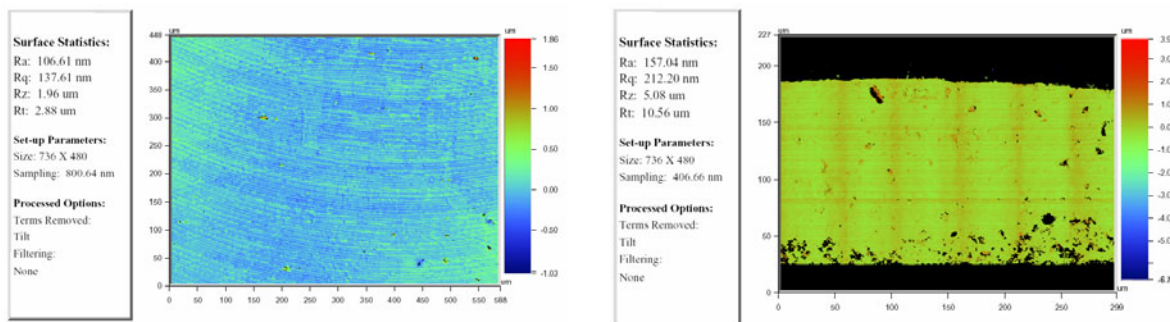


Abb. 3.25: Auswertung Spritzgussvorform, Rauheit: a) Kanalboden, b) Seitenwand

Die Kanalwände beim Spritzgussverfahren sind senkrecht, was als einziger Unterschied zwischen der Messingvorform und der Spritzgussvorform auffällt. Die Rauheit fällt mit 200 nm zwar geringer als beim Messingstempel auf, liegt aber ebenfalls deutlich über dem Lackstempel, so dass ein alternativer Einsatz beispielsweise für optische Anwendungen nicht in Frage kommt.

Für die galvanische Abformung konnten Prozessparameter entwickelt werden, die speziell auf Dicklackstrukturen abgestimmt sind. Hierbei ist vorrangig auf eine geeignete Metallschicht und eine angepasst Stromrampe zu achten, damit sich die Metallschicht nicht ablöst und die Strukturen nicht durch hohe Stromstärken speziell an den Strukturkanten zerstört werden.

Als Abformverfahren kommen Heißprägen und Spritzguss in Betracht, die als Kernkompetenzen am Arbeitsgebiet Mikrostrukturtechnik entwickelt worden sind [[KAL-01](#)].

Die beiden zum Einsatz gekommenen Techniken zur Vorformherstellung werden in Tabelle 3.3 nochmals miteinander verglichen.

	Positiv-Dicklacktechnik	Negativ-Dicklacktechnik	Mikrofrästechnik
Dimensionen:	<10 µm bei <100 µm Tiefe	<10 µm bei <1000 µm Tiefe	>100 µm bei beliebiger Tiefe
Genauigkeit:			2 µm
Rauheit:	<100 nm	<100 nm	>200 nm
Auflösung:	10 nm (Maske)	10 nm (Maske)	1 µm (Schrittmotor)
Vorteile:	Beliebig oft reproduzierbar Lösbarkeit aus Nickel Schräge Flanken (Abformung)	Beliebig oft reproduzierbar Aspektverhältnis Senkrechte Flanken (Optik)	Einzelanfertigung Kontinuierliche Übergänge Aspektverhältnis Nachbearbeitung
Nachteile:	Aspektverhältnis Lösungsmittel Schräge Flanken (Optik)	Hinterschneidung Lösbarkeit aus Nickel Senkrechte Flanken (Abformung)	Radien Min. Geometrie

Tabelle 3.3: Vergleich Dicklacktechnik/Mikrofrästechnik

4. Deckelherstellung

Neben dem Substrat stellt der Deckel die Funktionalität des mikrofluidischen Chips sicher. Als Grundfunktion ist das Verschließen des Fluidikkanals zu sehen, bei den elektrischen/elektrochemischen Detektionsverfahren enthält der Deckel auch die Messelektroden, evtl. noch zusätzliche Hochspannungselektroden, die für die Erzeugung des EOF's benötigt werden.

Während dieser Arbeit stellten die Forschungen zum mikrostrukturierten Metallisieren von PMMA einen Schwerpunkt dar. In den folgenden Abschnitten werden diese Forschungen erläutert.

4.1 Metallisierung

Für die elektrische (Leitfähigkeit) oder die elektrochemische Detektion (Amperometrie) und die Hochspannungsversorgung sind Elektroden notwendig. Im Falle der Hochspannungselektroden kann dies auch über den Fluidikanschluss realisiert werden, die Detektionselektroden müssen jedoch in den Chip integriert werden. Gleichzeitig muss das verwendete Metall chemisch inert sein, um eine reproduzierbare Messung gewährleisten zu können. Aus diesem Grund bietet sich Platin an. Die Haftung von Platin auf Kunststoff, insbesondere PMMA ist jedoch sehr schlecht [FRI-97]. Weiterhin müssen die Elektroden reproduzierbar zu fertigen sein, es sollen Strukturen von kleiner 100 μm realisiert werden und die Dicke der Elektroden darf den anschließenden Klebprozess nicht beeinträchtigen.

Während dieser Forschungsarbeit entstanden Verfahren zur strukturierten Metallisierung von Kunststoff mit kleinsten Strukturen von 1 μm und zur haftfesten Metallisierung von Kunststoff mit Platin. Als Metallisierungsverfahren kam das Sputtern zum Einsatz, da die Auftreffenergie der Atome auf den Substraten mit 1,0 - 1,2 eV um den Faktor 10 höher ist als beim Aufdampfen [MEN-97, MAD-02] und somit eine längere Haltbarkeit der Elektroden und somit des gesamten Analysensystems versprechen. Zur Strukturierung der Metallschicht kam eine abgewandelte Form des Lift-Off-Prozesses zum Einsatz, der die gegen Lösungsmittel empfindliche Oberfläche des PMMA's nicht zerstört.

Zunächst wird jedoch auf die Grundlagen des Sputterns eingegangen, bevor der Prozessablauf skizziert und auf die erzielten Ergebnisse eingegangen wird. Das Kapitel schließt mit einer Abwägung alternativer Metallisierungsverfahren.

4.1.1 Theoretische Grundlagen

Mit Sputtern bezeichnet man ein physikalisches Abscheideverfahren (PVD = Physical Vapor Deposition) nach dem Prinzip der Kathodenzerstäubung, wobei ein Nebeneffekt der Glimmentladung ausgenutzt wird. Es wird hauptsächlich dazu verwendet, dünne Metallfilme mit guter Haftung auf beliebigen Substratmaterialien zu erzeugen. Es lassen sich aber auch mit einigen Varianten des Verfahrens nicht leitende Schichten aufbringen.

Der Vorteil des Sputterns gegenüber der Technik des Aufdampfens ist die höhere Teilchenenergie, die zu einer verbesserten Haftung der aufgetragenen Schicht führt. Außerdem lassen sich hierdurch auch Metalle verwenden, die einen hohen Schmelzpunkt besitzen, wie Titan oder das hier verwendete Platin.

Der allen Sputterverfahren zugrunde liegende Gedanke ist die Erzeugung eines Plasmas aus Ionen eines Inertgases, welche durch ein angelegtes elektrisches Feld auf ein Target beschleunigt werden. Es werden meistens Argon-Ionen verwendet, die bei der Zündung des Plasmas durch eine Glimmentladung aus dem Argonrestgas entstehen. Das Target stellt das zu beschichtende Material in fester Form dar. Durch den Ionenbeschuss werden aus dem Target Atomverbände herausgelöst, die auf das Substrat niederschlagen und die zu erzeugende Schicht bilden. Der Prozess findet im Vakuum statt, um die mittlere freie Weglänge in den Zentimeterbereich anzuheben [[BAT-96](#)].

AC-Sputtern

Eine universelle Variante stellt das hochfrequente Wechselstrom-Sputtern (AC-Sputtern) dar, bei der auch nicht leitende Materialien als Beschichtung zur Anwendung kommen können. Statt eines zeitlich konstanten Feldes wird zwischen Anode und Kathode ein Hochfrequenzwechselfeld im MHz-Bereich angelegt.

Die gute Konformität von gesputterten Schichten resultiert aus dem für Beschichtungsverfahren relativ hohen Druck im Rezipienten. Bei einer mittleren freien Weglänge im Zentimeterbereich ist es wahrscheinlich, dass es zu einigen Stößen zwischen den aus dem Target geschlagenen Clustern und den Atomrümpfen des Argons kommt. Daraus resultiert eine Richtungsänderung, wodurch auch seitliche Flanken der Substratoberfläche mit höherer Wahrscheinlichkeit getroffen werden.

Um den Ionisierungsgrad des Sputtergases und somit die Beschichtungsrate zu erhöhen, können zusätzliche Magnetfelder eingesetzt werden, die eine lokale Konzentrationserhöhung von Elektronen im Bereich der Kathode bei geeigneter Ausrichtung der Felder bewirken. Diese Anordnung wird Magnetron-Sputtern oder Hochleistungszerstäubung genannt. Sie hat den zusätzlichen Vorteil, dass das Substrat nicht mehr von Elektronen getroffen und dadurch weniger thermisch belastet wird. Dies ist vor allem bei der Metallisierung von Kunststoffen ein entscheidender Vorteil.

Rückspattern

Eine Variante des AC-Sputterns stellt das Rückspattern dar, bei diesem Verfahren werden die statische Kathode und Anode miteinander vertauscht. Somit dient das Substrat als Target und auf dem eigentlichen Target wird die Schicht abgeschieden. Die Funktion des Rückspatterns ist mit einem Ionenstrahl-Ätzen und einer Plasmabehandlung gleichzusetzen.

Somit erlangt das Rückspattern bei der Metallisierung von Kunststoff eine wichtige Bedeutung, da Kunststoffe im Allgemeinen über eine schlechte Benetz-, Verkleb-, Bedruck- und Metallisierbarkeit verfügen. Dies ist begründet durch niedrige Oberflächenenergien der Kunststoffe. Beim Rückspattern wird die reinigende Wirkung des Plasmas und die Wirkung des adhäsionsfördernden Aufrauens ausgenutzt [[FRI-97](#)]. Hierbei ist von Vorteil, dass so unter anderem Fotolackrückstände aufgelöst werden, die eine haftfeste Verbindung Metall/Kunststoff verhindern würden. Zusätzlich zu dem Ionenbeschuss wird hier auch die Plasma-Vakuum-UV-Strahlung ausgenutzt, die sehr kurzwellig ist (23-200 nm). Die auftretende kinetische Energie beim Rückspattern entspricht der „normalen“ Sputterenergie von ca. 10 eV. Somit treffen beim Rückspattern Ionen mit hoher kinetischer Energie auf das Substrat, welches durch diesen Vorgang stark thermisch belastet wird. Daher ist es sinnvoll, bei Verwendung von Kunststoffsubstraten oder von Dicklackstrukturen den Sputtervorgang

zu unterbrechen, um dem Substrat Zeit zu geben, sich wieder etwas abzukühlen, um thermische Deformationen zu vermeiden.

4.1.2 Problemdarstellung

Da es sich beim Sputtern um ein ungerichtetes Metallisierungsverfahren handelt, kann nicht auf den Einsatz von Schattenmasken wie sie aus der Aufdampftechnik bekannt sind, zurückgegriffen werden, da es zu einer unkontrollierbaren Verbreiterung der Strukturen kommt. Versuche hierzu sind daran gescheitert, dass es nicht möglich war, eine Schattenmaske flächig an die Kunststoffsubstrate anzudrücken.

Die aus der Halbleitertechnik bekannte Technik des Lift-Off's erschien dagegen Erfolg versprechender. Problematisch hierbei war, dass Kunststoff durch die im Fotolack befindlichen Lösungsmittel angegriffen wird und damit seine Oberflächeneigenschaften verändert. Weiterhin lässt sich handelsüblicher Fotolack nicht vollständig von den Kunststoffsubstraten entfernen, was einerseits zu Haftungsproblemen führt (s. Abb. 4.1) und andererseits wiederum die Oberflächeneigenschaften des Elektrodendeckels verändert.

Wie in Kapitel 2 gesehen führt eine unterschiedliche Beschaffenheit der vier Kanalwände zu einer Veränderung des EOF's und damit zu einer Verschlechterung der Trennleistung. Der Lösungsansatz für die Herstellung der Elektrodendeckel bestand also darin, den Lift-Off Prozess dermaßen abzuändern, dass die beschriebenen Probleme nicht auftreten.

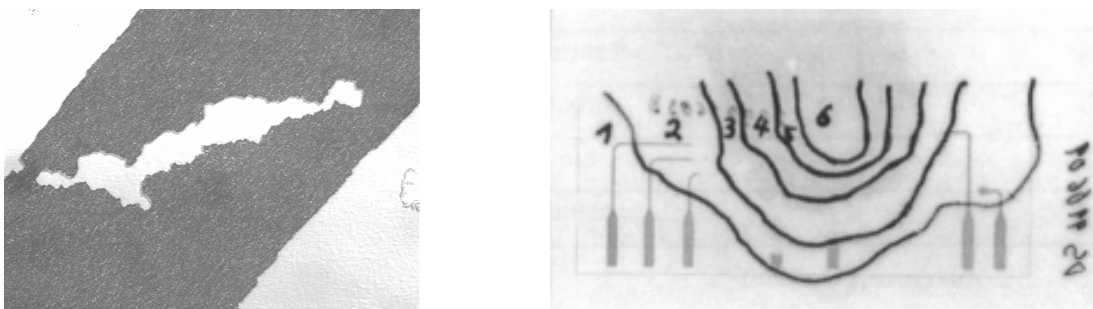


Abb. 4.1: Metallisierungsfehler durch nicht entfernten Fotolack, a) teilweise Zerstörung einer Elektrode, b) zerstörter Elektrodendeckel

Das herausragende Problem bei der Metallisierung von Kunststoff mit Platin stellt jedoch die Haftung zwischen Kunststoff und Metallschicht dar. Bisher ist es keiner anderen Forschergruppe gelungen, feinste Strukturen ($<10\ \mu\text{m}$) in Platin auf PMMA herzustellen. Da sich die Haftungseigenschaften von Platin auf PMMA nicht verändern lassen, ist es erforderlich eine Haftsicht zu finden, die sowohl auf PMMA und Platin haftet und gleichzeitig chemisch inert ist. Alternativ kann auch eine Oberflächenmodifikation der Polymeroberfläche durchgeführt werden, wie dies mit dem Rückspütern oder anderen Plasmabehandlungen möglich ist. Hiermit wird eine Verbesserung der Haftung von Platin auf dem Kunststoff erzielt und gleichzeitig die mit dem Kanal in Berührung kommenden Strukturen nicht verändert.

Weiterhin darf die Metallschicht nicht zu dick sein, da ansonsten das anschließende Verkleben problematisch wird. Ziel war es, eine Schicht von ca. 200 nm zu erzeugen, womit eine ausreichende elektrische Leitfähigkeit gegeben ist und gleichzeitig keine Probleme mit dem Verkleben auftreten.

4.1.3 Adhäsionsverbesserung

Um eine reproduzierbare, haftfeste Metallisierung gewährleisten zu können, ist es erforderlich die schlechte Haftung zwischen Metall und Kunststoff zu verbessern. Eine Möglichkeit stellt das Verändern der Kunststoffoberfläche durch eine Plasmabehandlung dar, eine weitere Möglichkeit besteht durch Verwendung einer zusätzlichen Metallschicht. Hierbei muss darauf geachtet werden, dass die Analytik nicht durch diese Zwischenschicht beeinträchtigt wird. Hauptaugenmerk lag auch hierbei in der Möglichkeit, die gewonnen Erkenntnisse großtechnisch umzusetzen und nicht Lösungen zu schaffen, die nur im Labormaßstab umsetzbar sind.

Plasmabehandlung

Kunststoffoberflächen weisen allgemein eine geringe Benetzbarkeit auf, die durch die niedrige Oberflächenenergie vieler Polymere begründet ist. Diese geringe Benetzbarkeit führt zu einer schlechten Verkleb-, Bedruck-, bzw. Metallisierbarkeit dieser Kunststoffe. Wenn es gelingt, die Benetzbarkeit durch eine Plasmabehandlung zu erhöhen, wird damit auch die Metallisierbarkeit verbessert werden. Durch diese Behandlung wird die Oberfläche

aufgeraut [[KEL-95](#), [POC-97](#)]. Um die Haftung der Metallschicht zu verbessern, ist es jedoch erforderlich die Oberfläche nicht nur mechanisch aufzurauen, sondern auch chemisch zu verändern. Durch eine Plasmabehandlung wie beim Rückspütern kann dies unter Verwendung eines reaktiven Gases geschehen. Diese führt zur Bildung von reaktiven Gruppen und damit zu einer Aktivierung der Polymeroberfläche [[RAS-98](#)]. Weiterhin wird die Plastikoberfläche von Verunreinigungen gereinigt und lose Polymerbruchstücke werden entfernt [[KRÜ-99](#)].

Bei der Plasmabehandlung der Polymeroberfläche finden verschiedene Vorgänge statt. Zum einen entsteht in Plasmen kurzweilige UV-Strahlung um 200 nm. Diese bewirkt eine Erzeugung von chemisch aktiven (funktionellen) Gruppen an der Polymeroberfläche. Diese resultieren vor allem aus dem Aufbrechen von C-C π -Bindungen. Dieser Vorgang findet vor allem in den ersten 0,2 – 2 s der Behandlung statt [[FRI-97](#), [WU-97](#), [BEL-96](#)].

Ein weiterer Effekt, der durch die UV-Bestrahlung bei der Plasmabehandlung auftritt, ist die erneute Polymerisation an der Polymeroberfläche. Durch die Aufspaltung von C-H-Bindungen werden neue C-C Bindungen möglich, wie es auch bei der ursprünglichen Polymerisation der Fall ist. Dadurch entsteht an der Oberfläche eine stärkere Vernetzung und Verknüpfung der Polymerketten [[WU-97](#), [WU-99](#)]. Die so aufgebrochenen Bindungen stehen zur Bildung von neuen Bonds zur Verfügung. Durch die weitere Plasmabehandlung und die damit verbundene Aufrauung des Kunststoffes wird die Oberfläche des Polymers vergrößert.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass durch eine geeignete Plasmabehandlung die Oberflächeneigenschaften von PMMA grundlegend geändert werden kann. Für den EOF wäre diese Änderung nachteilig, aber durch den Fotolack wird die aktive Polymeroberfläche vor dem Plasma geschützt und nur Bereiche, die anschließend metallisiert werden, werden verändert.

Chrom-Zwischenschicht

Als eine zur Haftverbesserung geeignete Zwischenschicht hat sich Chrom in oxidierter Form erwiesen. Chrom hat in diesem Zustand den Vorteil, dass es in einem weiten Bereich chemisch inert ist. Im Bereich des Chrom-Polymer-Überganges kommt es zu einer chemischen Bindung des Metalls mit dem Polymer. Hierbei werden hauptsächlich C=O Bindungen in C-O-Cr Bindungen umgewandelt [FRI-97, RAS-98]. Der Aufbau dieser Bindungen wird durch die Anzahl der Carboxylverbindungen an der Polymeroberfläche bestimmt [BEL-96, TRA-98]. Die Anzahl der Carboxylverbindungen lässt sich durch eine Plasmabehandlung und dem damit verbundenen Aufbrechen der π -Bindungen erhöhen. Hierdurch wird auch die Bildung von Cr₂O₃ im Verbindungsbereich möglich.

Zusammengefasst verändert die Chrom-Zwischenschicht die Orientierung und die chemische Struktur an der Polymeroberfläche so stark, dass eine sehr gute Haftung zwischen Metall und Kunststoff erreicht werden konnte. Da die später mit der zu untersuchenden Flüssigkeit in Kontakt kommenden Polymerflächen durch den Fotolack geschützt sind, wird die Polymeroberfläche nur in den Bereichen die später mit Platin bedeckt werden chemisch verändert und es tritt somit keine Veränderung der restlichen Fläche durch die Plasmabehandlung auf. Somit bleibt die Forderung nach vier gleichen Kanalwänden aus Kapitel 2 erfüllt.

4.2 Mikrostrukturierung durch Lift-Off Verfahren

Um den bekannten Lift-Off Prozess für die Strukturierung von Kunststoff nutzen zu können, war es erforderlich, einen Fotolack zu finden, der Kunststoff nicht anlöst und zudem rückstandsfrei vom Kunststoff entfernt werden kann, ohne diesen anzugreifen. In Zusammenarbeit mit der Firma AllResisit GmbH konnte ein Fotolack entwickelt werden, der diese Anforderungen erfüllt, der AR 5300/4 [AR4-02]. Durch die Verwendung von Amylalkohol/Butylacetat als Lösungsmittel kann das Anlösen der Polymeroberfläche auf ein Minimum reduziert werden. In Abbildung 4.2 ist der Vergleich zweier Kunststoffproben in Bezug auf die Rauheit mit und ohne Fotolackbehandlung dargestellt. Es ist zu erkennen, dass diese nicht signifikant steigt und damit auch die Oberflächeneigenschaften nicht verändert werden, eine Erhöhung der Rauheit um 30 nm ist im Bereich der Mikrofluidik nicht problematisch, weiterhin werden durch eine leichte Erhöhung der Rauheit die Klebeeigenschaften des Deckels verbessert. Eine weitere Eigenschaft des Lackes ist eine Überhöhung an der

Entwicklungskante womit das Abreißverhalten der Metallschicht erleichtert wird.

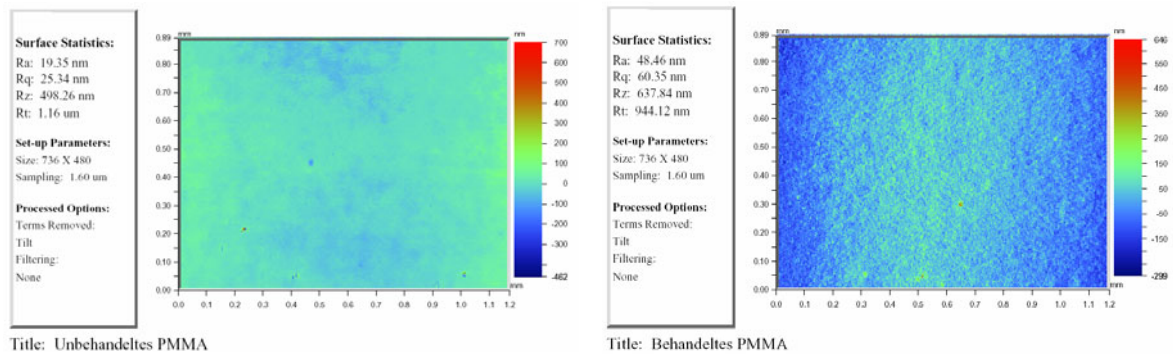


Abb. 4.2: Rauheit der Kunststoffoberfläche: a) mit Fotolack, b) ohne Fotolack

Der Lift-Off Prozess gliedert sich in sechs Arbeitsschritte, der Belackung eines Substrats, Belichtung, Entwicklung, Metallisierung, Entfernen des überflüssigen Lackes und Kontrolle der Strukturen (s. Schema 4.1). Die ersten drei Arbeitsschritte unterscheiden sich nicht von der in Kapitel 3 beschriebenen Dicklacktechnik, außer dass sich die Lackdicke im Bereich von 1 µm bewegt.

Das Metallisieren von Kunststoff stellt wie in 4.1 beschrieben eine besondere Schwierigkeit dar und das Entfernen des überflüssigen Fotolackes kann nicht wie üblicherweise mit Aceton erfolgen, sondern muss mit dem zur Entwicklung der Strukturen verwendeten Entwickler durchgeführt werden, um die Kunststoffoberfläche nicht zu zerstören.

Nicht weiter eingegangen wird auf die anschließende Kontrolle der metallisierten Deckel, um Fehler zu entdecken und die Strukturabmessungen zu überprüfen. Dieser Schritt ist wichtig, um nur den Spezifikationen entsprechende Deckel weiterzuverarbeiten und somit die Gesamtausbeute der Chipherstellung hoch zu halten.

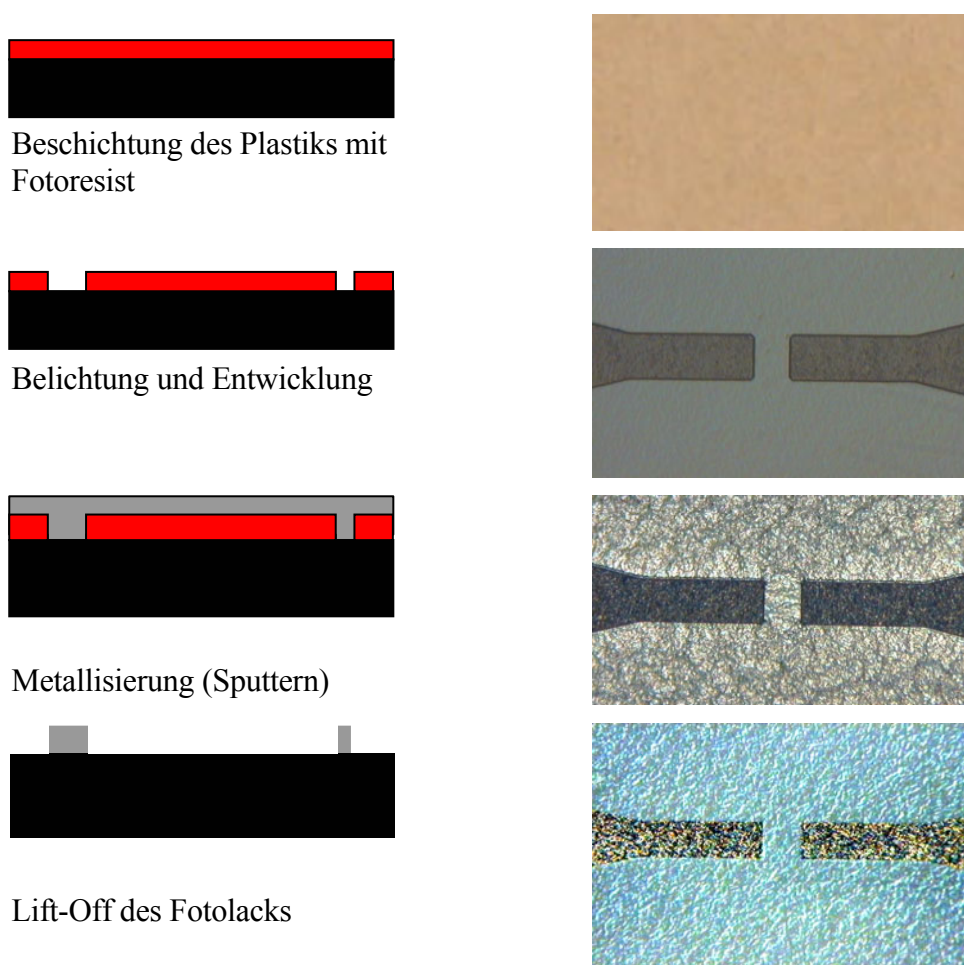


Diagramm 4.1: Ablaufschema Lift-Off

Belackung

Nach anfänglichen erfolglosen Versuchen mit handelsüblichen Fotolacken, konnte in Zusammenarbeit mit der AllResist GmbH ein Fotolack entwickelt werden, der weder den Kunststoff angreift, noch von diesem angelöst werden kann. Dieser Fotolack, der AR 5300/4 [AR4-02], enthält statt des üblicherweise verwendeten Lösungsmittels 1-Methoxy-2-propylacetat (PMA), Amylalkohol/Butylacetat als Lösungsmittel (s. Tab. 3.2). Mit diesem Fotolack sind Lackdicken von 1 μm und Strukturen von 1 μm reproduzierbar herstellbar. Der Fotolack verändert die Plastikoberfläche nur in sehr geringem Maße (s. Abb. 4.2) und kann rückstandsfrei ohne Einsatz von Lösungsmitteln entfernt werden. Durch die niedrige Viskosität ist kein Verbleiben von Luftblasen auf den Substraten zu beobachten und das Softbake kann bei 90° C, also unterhalb des T_g 's von PMMA durchgeführt werden.

Belichtung und Entwicklung

Analog zu Standardverfahren aus der Halbleitertechnik erfolgt das Belichten und Entwickeln. Da in diesem Fall kein Justieren des Substrats zur Maske erfolgen muss, kann für die Deckelbelichtung auch ein handelsüblicher Platinenbelichter verwendet werden. Durch die große Beleuchtungsfläche lassen sich mehrere Substrate parallel belichten. Die kleinste Strukturgröße, die mit einem Platinenbelichter reproduzierbar belichtet werden können, liegt bei 1 μm . Alternativ lässt sich auch ein Belichter aus der Halbleitertechnik nutzen, der den Vorteil hat, dass die Belichtungszeit in Zehntel-Sekunden eingestellt werden kann und die Beleuchtungsintensität homogen über die gesamte Fläche zur Verfügung steht.

Metallisierung

Um eine haftfeste Verbindung von Metall und Kunststoff zu erhalten, wurde wie bereits erwähnt, als Metallisierungsverfahren das Sputtern verwendet. Die maximale Größe der zu metallisierenden Substrate ist durch die verwendete Sputteranlage bestimmt. Während dieser Forschungsarbeit ist eine Sputteranlage der Firma Balzers, eine BAK 605 zum Einsatz gekommen. Diese Anlage beinhaltet sechs Substrathalter, die auf einem drehbaren Rondell angebracht sind. Für die parallele Verarbeitung sind spezielle Halter für die Kunststoffsubstrate entwickelt worden, die jeweils vier Substrate aufnehmen können (s. Abb. 4.3).

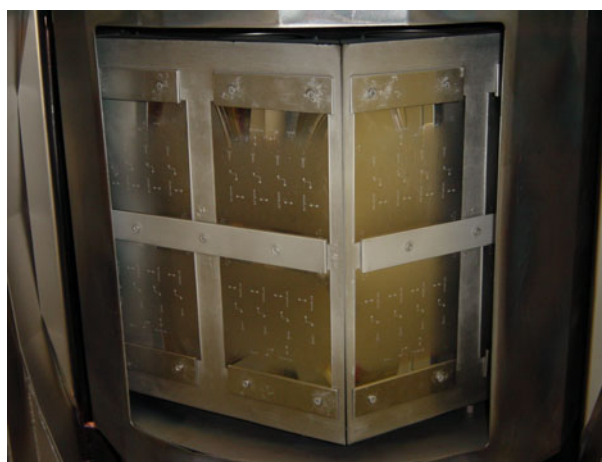


Abb. 4.3: Deckelaufnahmen für die Sputteranlage

Durch die niedrige Schmelztemperatur von PMMA musste der Sputterprozess mehrfach unterbrochen werden, um dem Kunststoff Gelegenheit zu geben, sich abzukühlen. Die

Metallisierung von PMMA mit Platin unterteilt sich in drei Abschnitte, zunächst das Rücksputtern, das unter Verwendung eines Argon-/ Sauerstoffplasmas als Plasmabehandlung wirkt, das Aufbringen einer Chromoxid-Haftschiicht und das Sputtern der Platinschiicht (s. Tab. 4.1).

Material	Druck	Spannung	Zeit
Rücksputtern	$1,8 \cdot 10^{-3}$ mBar Ar + $0,2 \cdot 10^{-3}$ mBar O ₂	1 kV	2·6 Min.
Cr	$1,8 \cdot 10^{-3}$ mBar Ar + $0,2 \cdot 10^{-3}$ mBar O ₂	1 kV	6 Min.
Pt	$1,8 \cdot 10^{-3}$ mBar Ar + $0,2 \cdot 10^{-3}$ mBar O ₂	1 kV	3·6 Min.

Tabelle 4.1: Sputterparameter für Platin auf PMMA

Lift-Off des Fotolacks

Bei dem eigentlichen Lift-Off Prozess, handelt es sich um einen weiteren Entwicklungsschritt, da der durch das Rücksputtern belichtete Fotolack entfernt wird und damit gleichzeitig auch der auf ihm haftende Metallfilm. Um den Entwicklungsprozess zu beschleunigen, wurde der Lift-Off in einem Ultraschallbad durchgeführt. Das hat den Vorteil, dass der Fotolack und die sich darauf befindliche Metallschicht selbständig abgelöst werden.

Ein zusätzlicher Vorteil des Lift-Off-Verfahrens ist die Selbstmaskierung für Mehrfachmetallisierungen. Hierbei können einzelne Elektroden großflächig abgedeckt werden und das Substrat einer zweiten Metallisierung zugeführt werden. Dies ist vor allem bei der Untersuchung von DNA-Fragmenten wichtig, da hier eine Referenzelektroden aus Platin und ein weiteres Elektrodenpaar aus Kupfer gefertigt werden sollen (s. Abb. 4.4).

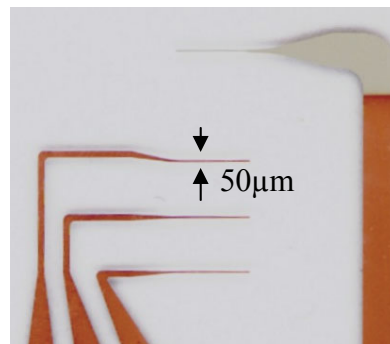


Abb. 4.4: Doppelmetallisierung Platin/Kupfer

Weiterhin ist die Schutzfunktion des Fotolackes während des Sputterprozesses zu erwähnen, so dass keine Oberflächenmodifikation während des Rückspütern stattfindet. Die Bereiche, die modifiziert worden sind, werden anschließend durch die Metallschicht bedeckt und haben somit keinen Einfluss auf den EOF.

Während dieser Arbeit konnten erfolgreich Parameter für die Metallisierung von PMMA, PC, COC und PS erarbeitet werden. Es ist jedoch erforderlich, die Zwischenschicht jeweils an die verschiedenen Materialien anzupassen. Im Gegensatz zum PMMA muss bei der Metallisierung von PC eine reine Chromschicht aufgebracht werden, eine Chromoxidschicht führt zu keiner Verbesserung der Haftungseigenschaften. Für eine großtechnische Umsetzung muss auch an der Zusammensetzung des Fotolackes gearbeitet werden, da die Haftung auf COC sehr schlecht ist.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die strukturierte Metallisierung von Kunststoffen mit Platin erfolgreich realisiert wurde und die Parameter soweit optimiert wurden, dass in einer Serie von 6.000 Elektrodendeckeln eine Ausbeute von 95 % erreicht werden konnte (s. Diagramm 4.1). Die kleinsten Strukturen waren hierbei 50 μm als Abstand zwischen den Elektrodenspitzen und 55 μm für die Elektrodenbreiten. Als Ausschusskriterium gelten Strukturaufweitungen von mehr als 10 %, Defekte an den Elektrodenspitzen und Elektrodenunterbrechungen. Die schmalsten Strukturen die realisiert werden konnten, waren 1 μm breite Teststrukturen, die 2 mm lang waren. Als kleinster Abstand zwischen zwei Elektrodenspitzen konnten 10 μm realisiert werden. Bei noch kleineren Abständen lässt sich der überflüssige Metallfilm nicht mehr reproduzierbar entfernen. Durch die Entwicklung der Parallel-Verarbeitung können innerhalb einer Woche 1200 Elektrodendeckel prozessiert werden, wobei der beschränkende Faktor im Sputterverfahren liegt, dass nur zweimal pro Tag durchgeführt werden kann. Die Kapazität der restlichen Verfahrensschritte lässt bis zu 2.500 Elektrodendeckel pro Woche zu, was einer großtechnischen Umsetzung mit insgesamt über 100.000 Elektrodendeckeln pro Jahr entspricht.

Die allgemeine Funktionalität dieses Verfahrens wurde beispielhaft neben Platin auch für Gold und Kupfer durchgeführt. Die Ausweitung auf andere Materialien stellt keine grundlegend neuen Anforderungen, so dass ein allgemeines Verfahren zur reproduzierbaren, strukturierten Metallisierung von Kunststoffen erfolgreich entwickelt wurde.

4.2.1 Qualitätskontrolle

Um mangelhafte Elektrodendeckel auszusortieren, werden die Abmessungen der Detektionselektroden mittels eines Lichtmikroskops kontrolliert. Hierbei werden auch diejenigen Deckel aussortiert, die Defekte im Bereich der Elektrodenspitzen aufweisen. In Abbildung 4.5 a) ist ein unkritischer Defekt im Bereich der Kontaktierung dargestellt, der die Funktion der Elektrode nicht beeinträchtigt und somit auch nicht zu einer Aussortierung des Deckels führt. In Abbildung 4.5 b) ist ein Defekt im Bereich der Elektrodenspitze zu erkennen, der den Deckel unbrauchbar macht bzw. in seiner Funktion beeinträchtigt.

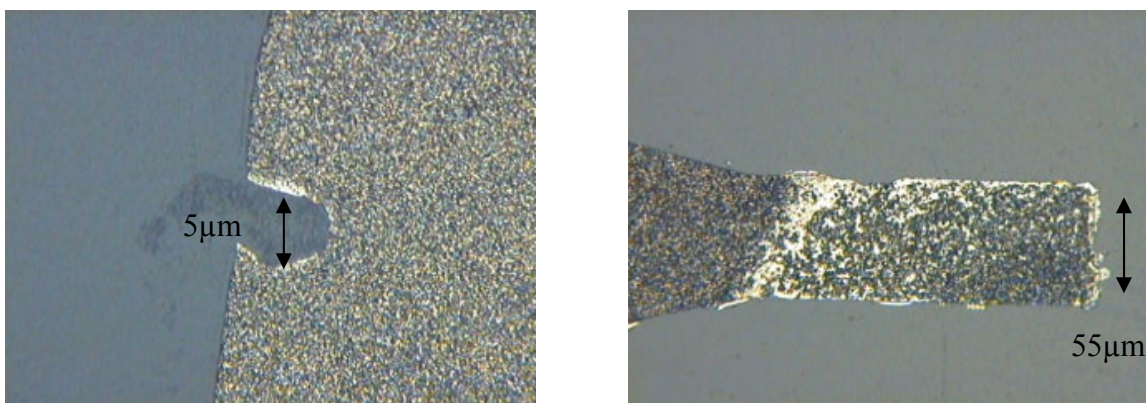


Abb. 4.5: a) unkritischer Metallisierungsfehler, b) kritischer Metallisierungsfehler

Ein wichtiges Kriterium für eine reproduzierbare Detektion ist eine gleich bleibende Elektrodengeometrie für eine Serie. Für eine Sollbreite von 55 µm und einen Sollabstand von 50 µm ist eine Abweichung von 5 µm akzeptabel, die durch den Herstellungsprozess nur in einer Verbreiterung der Elektrode und eine Verringerung des Abstandes feststellbar ist. Für eine Serie von 6.000 Elektrodendeckeln wurde eine Kontrolle dieser Geometrien durchgeführt. In Diagramm 4.1 ist das Ergebnis dieser Untersuchung dargestellt, die Ausbeute liegt bei 95 %, was für einen Handprozess ein bemerkenswertes Resultat ist. Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass zu Beginn dieser Serie noch einige Parameter verändert wurden, liegt die Ausbeute für den eingefahrenen Prozess sogar bei 99,3 %. Die Variation der Parameter ist als gering einzustufen, die Ablesegenauigkeit beträgt ca. 2 µm, so dass die Elektroden eine Breite von 55 µm +/- 2 µm aufweisen. Die Sollbreite der Elektroden liegt bei 55 µm. Ein funktionsfähiger Elektrodendeckel darf keine Unterbrechungen der Elektroden, keine Defekte an den Elektrodenspitzen und keine Strukturaufweitung von über 10 % aufweisen.

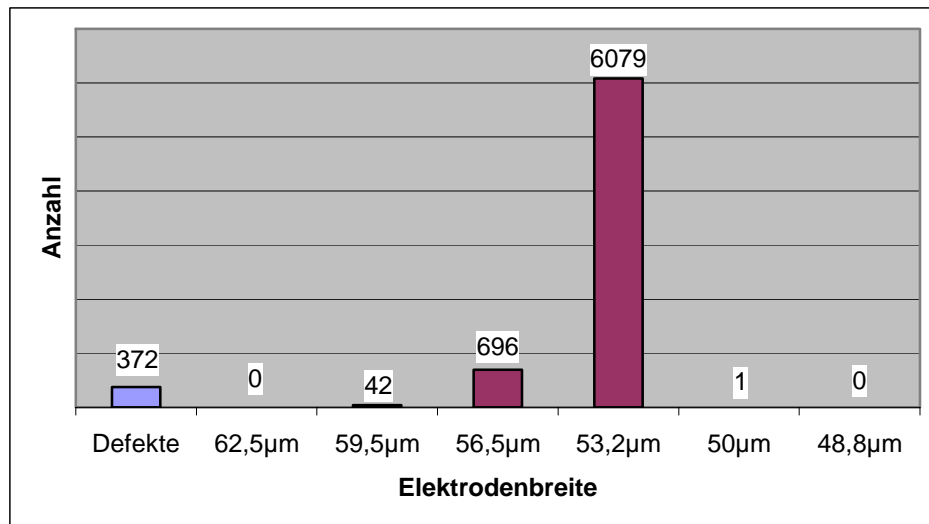


Diagramm 4.1: Gesamtausbeute für die Elektrodendeckel der Serie M02

Zusätzliche Probleme für die weitere Verarbeitung treten auch durch Durchbiegungen der Substrate auf, die das anschließende Verkleben erheblich erschweren. Durch eine Temperung der Deckel lässt sich die Durchbiegung beheben. Es muss jedoch darauf geachtet werden, dass die Temperatur nicht zu hoch gewählt wird, da ansonsten die Deckel schrumpfen und somit wieder die Geometrien verändert werden.

Neben diesen systematischen Fehlern, treten zudem Fehler auf, die auf Handhabungsfehler zurückzuführen sind. Dies sind beispielsweise Dreckeinschlüsse beim Belacken, Lackfehler, Strukturaufweitungen durch Proximitybelichtung, zu lange Belichtungszeiten, Verunreinigungen auf der Maske, Doppelbelichtungen und mechanische Zerstörung der Elektroden (s. Abb. 4.6 - 4.9). Weitere Defekte sind auf Fehler in der anschließenden Vereinzelung zurückzuführen.

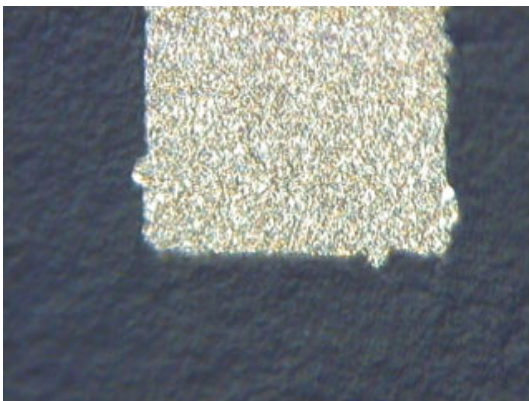


Abb. 4.6: Randunschärfe durch Maskenverunreinigung

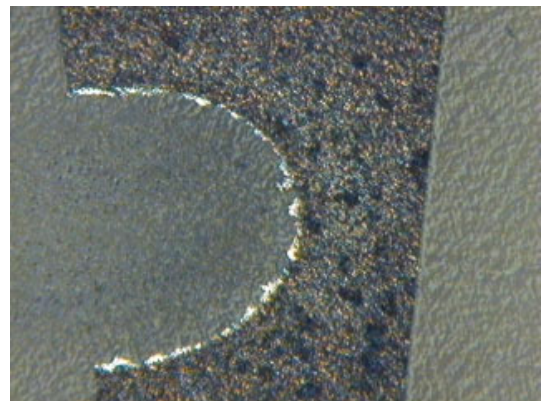


Abb. 4.7: Elektrodeneinschnürung durch Lackfehler

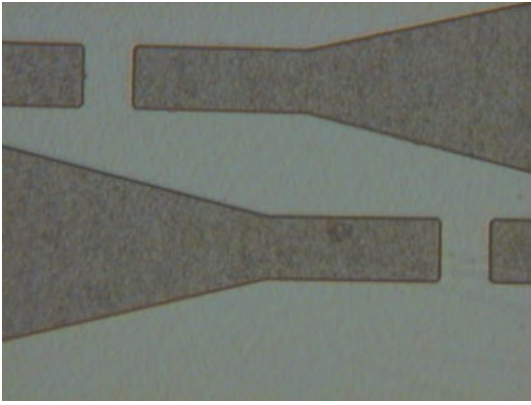


Abb. 4.8: Doppelbelichtung

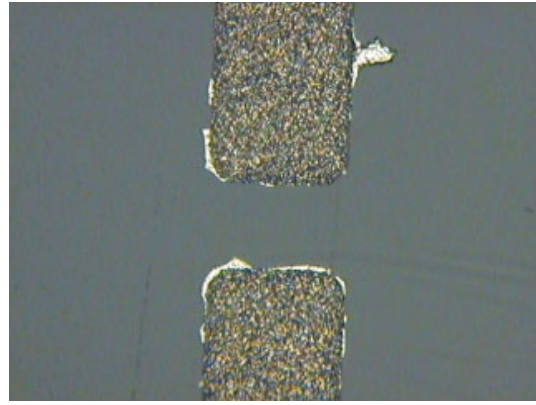


Abb. 4.9: Kantenunschärfe durch zu lange Belichtung

4.2.2 Alternative Verfahren der Mikrostrukturierung

Obwohl das hier beschriebene Herstellungsverfahren für die Elektrodendeckel universell anwendbar ist und sich auch für große Stückzahlen bewährt hat, wäre es für eine großtechnische Umsetzung vorteilhaft, wenn der fotolithografische Prozessschritt entfallen könnte. Dies ist im einfachsten Falle durch die Verwendung einer alternativen Maskentechnologie möglich, es konnten jedoch keine geeigneten Schattenmasken und eine damit verbundene Andrucktechnik gefunden werden. Die kleinsten Strukturen liegen bei über 100 μm für den Elektrodenabstand und bei ca. 80 μm für die Elektrodenbreite, die somit nicht an die Auflösung bei Verwendung eines Fotolackes heranreichen. Eine denkbare Alternative ist das flächige Metallisieren von Kunststoffplatten und ein anschließendes Ablatieren der überflüssigen Metallschicht. Da geeignete Maschinen nicht zur Verfügung standen, konnten in diese Richtung keine Versuche durchgeführt werden. Durch die hohen Kosten für eine Ablationsmaske kommt diese Technologie auch nur für große Stückzahlen in Betracht. Fraglich ist zudem, ob durch den Ablationslaser nicht die Oberfläche des Kunststoffes verändert wird und somit die Eigenschaften in Bezug auf den EOF gestört werden.

Während dieser Arbeit ist auch eine kombinierte Metallisierung von Sputter- und Aufdampftechnik mit Erfolg zum Einsatz gekommen. Hierbei wird die Plasmabehandlung und das Aufbringen der Haftschrift in einer Sputteranlage und das Aufbringen der Metallschicht, beispielsweise Gold in einer Aufdampfanlage durchgeführt. Die Haftfestigkeit der Metallisierung wird hauptsächlich durch die Plasmabehandlung und die Haftschrift bestimmt, so dass die kombinierte Metallisierung ähnlich haftfest wie eine reine Sputterschicht ist.

5. Bonding

Um einen mikrofluidischen Analysechip zu erhalten, ist es in einem weiteren Schritt erforderlich, die beiden Komponenten – Substrat und Elektrodendeckel – miteinander verbunden werden. Im Gegensatz zu Chips aus Glas, die anodisch gebondet werden können oder Chips aus PDMS, die durch Eigenadhäsion flüssigkeitsdicht abgedichtet werden können, ist bei Kunststoffchips eine zusätzliche Verbindungsschicht erforderlich. Da die Verbindung zerstörungsfrei erfolgen muss, um nicht die Geometrien zu verändern oder die Elektroden im Übergangsbereich Substrat Fluidikkanal zu zerstören, kann die Verbindung nur mit einer Klebung realisiert werden.

Das Kleben gehört neben dem Schweißen und Löten zu den Stoff vereinigenden Fügeverfahren, d.h. beim Kleben liegt die Bindungsursache im Mikrobereich atomarer bzw. molekularer Abstände und Energien, die durch Schmelz-, Diffusions- oder Benetzungsvorgänge erzeugt werden. Wichtigstes Kriterium für eine Verbindung stellt die Festigkeit dar, die i. A. für unstrukturierte Kunststoffe sehr niedrig ist.

5.1 Theoretische Grundlagen

Eine Klebverbindung stellt ein Verbundsystem dar, dessen Festigkeit neben der geometrischen Gestalt und der Beanspruchung von folgenden Einzelfestigkeiten bestimmt wird:

- Festigkeit der Fügeiteile
- Festigkeit der Grenzschicht
- Festigkeit der Klebschicht

Die Gesamtfestigkeit wird durch die geringste Festigkeit dieses Verbundes bestimmt. Durch die Vorgabe der Materialparameter konnte die Festigkeit nur durch die Grenzschicht und die Klebschicht verändert werden. Wesentliches Designkriterium für eine Klebverbindung stellt jedoch die Geometrie der Fügeiteile dar.

Kohäsion und Adhäsion

Die erfolgreiche Lösung der Aufgabe besteht in einer erfolgreichen Abstimmung der Einzel- festigkeiten des Klebstoffverbundes. Hierfür sind die in der Klebschicht wirkenden Kohäsionskräfte und die für die Haftung der Klebschicht verantwortlichen Adhäsionskräfte zu betrachten.

Adhäsion

Die Adhäsion beschreibt die Haftungskräfte zwischen verschiedenen Oberflächen. Der Adhäsion kommt beim Kleben eine entscheidende Bedeutung zu, da ausreichende Haftkräfte nötig sind, um ein Versagen in der Grenzfläche Füge- teil – Klebschicht zu verhindern. Die Ausbildung von Adhäsionskräften beruht auf einer Summe von physikalischen, chemischen und mechanischen Wirkungen, die einander überlagern und sich gegenseitig beeinflussen. Man unterteilt die Adhäsionsmechanismen in spezifische und mechanische Adhäsion sowie Autohäsion (s. Abb. 5.1) [[HAB-90](#)].

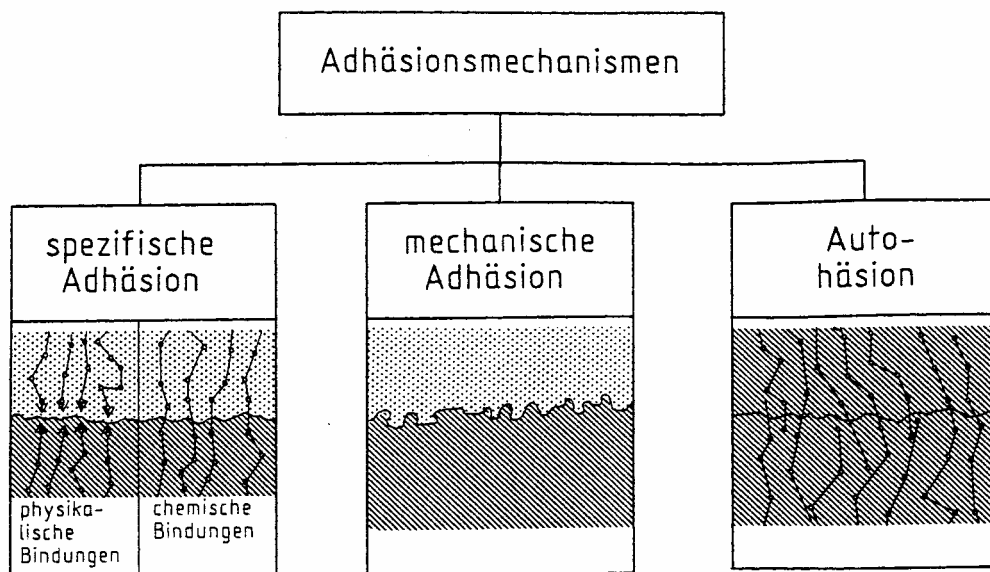


Abb. 5.1: Adhäsionsmechanismen

Spezifische Adhäsion:

Hierunter werden die auf chemischen und physikalischen Gesetzmäßigkeiten beruhenden Adhäsionserscheinungen verstanden. Sie stellen die wesentliche Ursache für die Ausbildung der Adhäsionskräfte in Klebungen dar. Der Wirkungsbereich liegt bei ca. 0,2 – 1,0 nm.

Mechanische Adhäsion:

Hierbei handelt es sich vorwiegend um eine formschlüssige Verankerung der aus einer flüssigen Phase gebildeten Klebschicht in Poren, Kapillaren sowie Hinterschneidungen, wie sie sich durch eine mechanische Oberflächenbehandlung ergeben oder als Oberflächenstruktur für das Füge­teil charakteristisch sind. Ergänzend können auch auf spezifischer Adhäsion beruhende Adhäsionskräfte wirksam werden.

Autohäsion:

Sie tritt fast ausschließlich bei der Vereinigung kautschukelastischer Polymerschichten des gleichen Materials auf. Voraussetzung ist eine große Beweglichkeit der Makromoleküle, die unter Druckerwendung zu einer gegenseitigen Diffusion mit nachfolgender Verklammerung von Kettensegmenten fähig sind.

Damit es überhaupt zur Ausbildung von Bindungskräften im Grenzbereich zwischen Klebstoffschicht und Füge­teil kommen kann, muss eine ausreichende Annäherung der Moleküle beim Klebstoffauftrag stattfinden. Der Klebstoff muss hierzu in flüssiger Form aufgetragen werden und die Füge­teiloberfläche vollständig benetzen. Der flüssige Zustand muss über einen gewissen Zeitraum bestehen bleiben, um den Molekülen die Möglichkeit zur Ausrichtung zu geben. Erst dann können sich die für die Adhäsion verantwortlichen Neben- und Hauptvalenzbindungen ausbilden bzw. die Diffusion in Form Brownschen Molekularbewegungen stattfinden. Voraussetzung für die Haftung ist somit eine optimale Benetzung der Füge­teiloberflächen durch den Klebstoff. Von der Benetzung kann jedoch nicht auf die nach dem Abbinden der Klebstoffschicht entstehenden Adhäsionskräfte geschlossen werden [HEL-68]. Moleküle an der Oberfläche eines flüssigen oder festen Körpers unterliegen infolge der Kohäsionswirkung Spannungen, die auf das Innere des Materials gerichtet sind. Diese Oberflächenspannungen sind bestrebt die Oberfläche zu verkleinern, um den energetisch günstigsten Zustand, die Kugelform, einzunehmen. Die Benetzung hängt von der Oberflächenspannung des flüssigen Klebstoffs und des Füge­teils ab. Ein Festkörper wird von einer Flüssigkeit dann vollständig benetzt, wenn seine kritische Oberflächenspannung größer als die Oberflächenspannung des Klebstoffs ist. Als kritische Oberflächenspannung eines Werkstoffes bezeichnet man die Oberflächenspannung einer Flüssigkeit, die gerade zur vollständigen Benetzung einer Oberfläche ausreicht.

Strahlungshärtende Klebstoffe

Die während dieser Arbeit zum Einsatz gekommenen Klebstoffe gehören zur Gruppe der strahlungshärtenden Klebstoffe, d.h. die Aushärtung der Klebstoffe geschieht durch Bestrahlung. Zum Auslösen der Polymerisationsreaktion muss die Strahlungsenergie so hoch sein, dass die notwendige Aktivierungsenergie für das Aufbrechen der C=C-Doppelbindung direkt oder indirekt erreicht wird. Da die Energie der UV-Strahlung nicht ausreicht, eine C=C-Doppelbindung zu aktivieren, muss die notwendige Energie über den Umweg über zugesetzte Fotoinitiatoren bereitgestellt werden [[HAB-90](#)].

Hauptbestandteil strahlungshärtender Kleber sind reaktive Monomere bzw. Oligomere oder auch Prepolymere mit funktionellen Vinylgruppen. Diesen werden zur Erzielung der erforderlichen Verarbeitungviskositäten bzw. Klebschichteigenschaften reaktive Verdüner zugegeben, deren Monomere nach Beendigung der Kettenreaktion durch kovalente Bindungen in die vernetzte Klebschicht eingebaut sind.

Verkleben von Kunststoffen

Für viele Anwendungen mit Kunststoff ist das Kleben das einzig mögliche Fügverfahren, da sich mit anderen Verbindungsverfahren keine haltbaren Verbindungen herstellen lassen oder die Kunststoffe zerstört werden.

Die Oberflächenspannungen der Kunststoffe sind gering. Sie sind aus diesem Grund zwar gute Klebstoffe, ihre Benetzbarkeit ist jedoch wegen der vergleichbaren Oberflächenspannungen schwierig. Da die Strukturen nicht zerstört werden durften, musste auf die Diffusionsklebung - die Oberfläche wird angelöst – verzichtet werden und es konnte nur die Adhäsionsklebung verwandt werden. Hierbei wird die Klebung ausschließlich durch physikalische und chemische Adsorptions- und Bindevorgänge bewirkt. Es treten weder Lösungsmittel noch Klebstoffbestandteile mit dem zu verklebenden Polymer in Wechselwirkung [[RIC-78](#)].

Oberflächenbehandlung

Um die Klebeeigenschaften der Kunststoffe zu erhöhen, besteht die Möglichkeit der Veränderung der Oberflächeneigenschaften durch mechanische, chemische und physikalische Methoden. Durch die mechanischen Verfahren werden haftungshemmende Grenzschichten entfernt sowie die Größe der wirksamen Oberfläche erhöht. Durch geeignete Prägestempel lassen sich beispielsweise in den nicht benötigten Bereichen zusätzliche Strukturen einbringen (s. Abb. 5.2). Dies erhöht nicht nur die Festigkeit der Klebung sondern verringert auch den für eine homogene Klebung notwendigen Druck, da die mit Druck zu belegende Oberfläche kleiner wird.

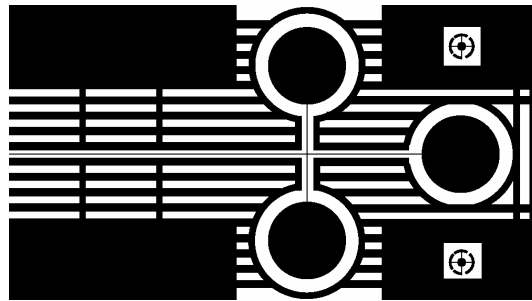


Abb. 5.2: Oberflächenvergrößernde Strukturen

Die chemischen und physikalischen Methoden dienen der Bildung bzw. Anreicherung polarer Gruppen an der Oberfläche als Voraussetzung für die Ausbildung zwischenmolekularer Kräfte. Solche funktionellen Gruppen, insbesondere Hydroxyl- (-OH), Carboxyl- (-COOH) und Keto- bzw. Carbonylgruppen ($=C=O$), erzeugen starke nebenvalente Bindungskräfte und verbessern gleichzeitig die Benetzungseigenschaften [[HAB-90](#)]. Eine Plasmabehandlung kann jedoch nicht durchgeführt werden, da hierdurch die Oberflächeneigenschaften und damit auch der EOF verändert werden.

5.2 Problemdarstellung

Die Hauptprobleme beim Bonden mit mikrofluidischen Kanälen liegen darin, dass die Kanäle flüssigkeitsdicht verklebt werden müssen, dabei die Kanäle selbst jedoch nicht verklebt werden dürfen (s. Abb. 5.3 a)). In Abbildung 5.3 b) ist zu erkennen, dass der Kanal nicht abgedichtet ist und damit Flüssigkeit zwischen Deckel und Substrat gelangen kann und somit der Chip unbrauchbar wird. Weiterhin ist jede Durchbiegung der Substrate kritisch, da

hierdurch ein gleichmäßiger Klebefilm verhindert wird. Bei der technischen Realisierung müssen diese Probleme bedacht werden, zudem müssen die verklebten Chips nach ihrer Fertigstellung auf diese Probleme hin untersucht werden.

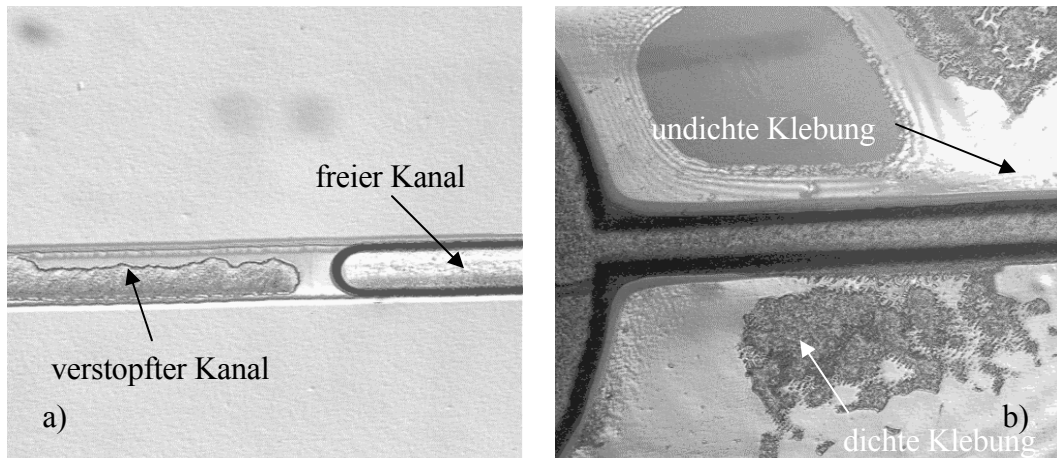


Abb. 5.3: a) Durch Kleber verstopfter Kanal, b) undichter Kanal durch Klebedefekte

Als weiteres Problem musste das justierte Verkleben von Deckel und Substrat gelöst werden. Um ein gutes Signal/Rauschverhältnis und damit eine hohe Messempfindlichkeit zu erhalten, müssen die Elektroden sehr genau zum Fluidikkanal justiert werden. In Abbildung 5.4 b) liegt die Toleranz für die Justage bei $<25\ \mu\text{m}$, da die Elektroden nur $25\ \mu\text{m}$ in den Kanal hineinragen. Sollte eine Elektrode außerhalb des Kanals liegen, kann der Chip nicht mehr genutzt werden, da der Übergangswiderstand zu groß wird. Durch geeignete Elektroden-designs kann diese genaue Justage jedoch auch erheblich unkritischer sein, hier ist die Empfindlichkeit durch die Strukturgröße der Elektroden und den Abstand bestimmt (s. Abb. 5.4a).

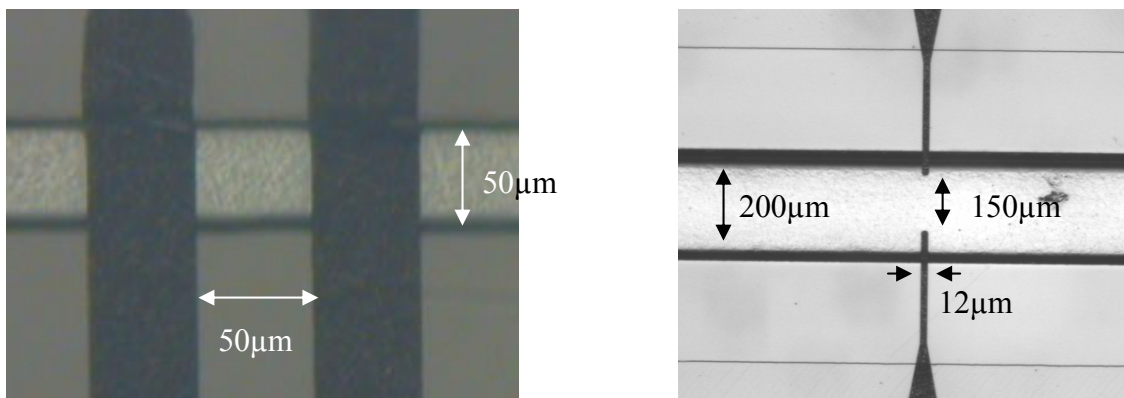


Abb. 5.4: a) unkritisches Elektrodendesign in Bezug auf die Justage, b) kritisches Design

5.3 Technische Realisierung

Während dieser Arbeit wurde ein Verfahren entwickelt, um die hergestellten Polymer-substrate und die metallisierten Elektrodendeckel flüssigkeitsdicht und justiert miteinander zu verkleben. Die erforderliche Justagegenauigkeit lag bei $\pm 30 \mu\text{m}$ und die kleinsten zu verklebenden Fluidikkanäle bei $20 \mu\text{m}$. Dafür wurden mehrere Hilfsmittel benötigt, die zum einen aus Geräten der Fotolithografie und zum anderen aus selbst entworfenen Hilfsmitteln bestehen.

Für ein μm genaues Justieren wird ein Belichter aus dem Mikroelektronik-Bereich verwendet. Hiermit ist es möglich, den Kleber vorzupolymerisieren, Deckel und Substrat passgenau zusammenzufügen und anschließend zu härten. Der Kleber wird jedoch nicht mit dem Belichter ausgehärtet, sondern in spezielle Verklebepressen umgelagert und anschließend in einer UV-Kammer ausgehärtet. Der zur Verfügung stehende Anpressdruck der Belichtungsmaschine war nicht ausreichend, um einen geschlossenen und homogenen Klebefilm zu gewährleisten. Weiterhin soll der Belichter möglichst schnell wieder einer neuen Verklebung zur Verfügung stehen und nicht stundenlang durch einen Chip blockiert sein.

Dank einer Sandwich-Bauweise der Verklebepresse, konnten auch kleine Unebenheiten und Durchbiegungen der Substrate ausgeglichen werden (s. Abb. 5.5).

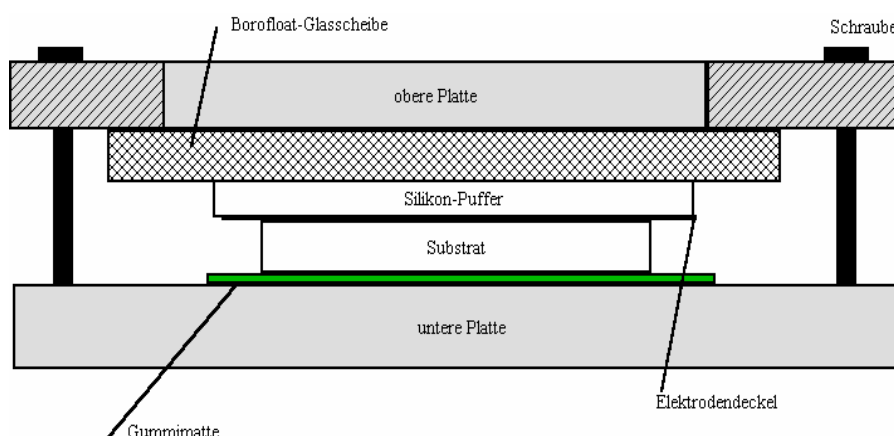


Abb. 5.5: Sandwich-Aufbau der Verklebepresse

Der Silikon-Puffer und die Gummimatte dienen dazu, den Druck gleichmäßig zu verteilen. Die Borofloat-Glasscheibe stellt das Herzstück dieser Anordnung dar. Einerseits ist sie UV-

transparent und andererseits kann sie den benötigten Druck auf das Sandwich ausüben. Die Klebepressen werden für mehrere Stunden in eine UV-Kammer gelegt und anschließend über Nacht in einem Temperaturofen gelagert, um innere Spannungen abzubauen, die dazu führen können, dass der Klebefilm nach dem Entspannen der Presse reißt. Die Temperatur dieses Schrittes ist kritisch, da bei Temperaturen höher 80°C eine Deformation des Chips einsetzt und bei Temperaturen unter 70°C die Spannungen nicht ausreichend abgebaut werden. Abschließend werden die Randbereiche des fertigen Chips mit einem weiteren Klebefilm gegen Zerstörung gesichert. Die gesamte Prozedur des Verklebens dauert pro Chip etwa 24 Stunden, wobei nur das Justieren des Substrats zum Deckel maschinentechnisch relevant ist, da das Aushärten und das Tempern in großvolumigen Anlagen stattfindet. Eine Zeitoptimierung hat während dieser Arbeit nicht stattgefunden, für eine großtechnische Umsetzung liegt hier sicherlich Einsparpotenzial.

Als entscheidendes Kriterium für ein erfolgreiches Verkleben stellte sich die aufgetragene Klebeschichtdicke heraus. Wenn zuviel Kleber aufgetragen wird, läuft der Kanal zu, bei zuwenig Kleber ist die Klebeschicht nicht homogen (s. [Abb. 5.3 b](#)). Dies kann dazu führen, dass der Kanal nicht dicht ist und somit der Chip unbrauchbar wird.

Mehrere selbst konstruierte bzw. zweckentfremdete Hilfsmittel erleichterten den Klebevorgang:

Um einen reproduzierbaren und gleichmäßigen Kleberauftrag gewährleisten zu können, wurde eine Gummimatte aus der Druckereitechnik, die sowohl hydrophobe als auch hydrophile Elemente besitzt und eine Hartgummi-Rolle aus dem Linoldruck verwendet (s. [Abb. 5.6](#)).



Abb. 5.6: Gummimatte und Hartgummiwalze zum Kleber ausrollen

Um das Substrat und den Deckel zueinander justieren zu können, wurde für das Substrat ein Substratteller konstruiert, der in die verwendete Belichtungsanlage MJB 3 eingesetzt werden kann (s. Abb. 5.7, 5.8).



Abb. 5.7: Zum Verkleben eingesetzter Belichter MJB 3

Für den Deckel wurde ebenfalls ein für diese Maschine passender Maskenhalter entwickelt. Wichtig hieran war, dass auch hier eine UV-durchlässige Scheibe benötigt wird, die den benötigten Anpressdruck erzeugen kann, da im Gegensatz zum normalen Einsatz dieser Anlage keine Maske zum Einsatz kam. Die in Abb. 5.8 zu erkennenden Greifer sind drehbar ausgeführt, so dass sie nach dem Verkleben gelöst werden können und damit der Deckel auf dem Substrat verbleibt.



Abb. 5.8: Aufnahmen für Substrat und Elektrodendeckel für Belichter MJB 3

Der so justierte und durch die UV-Bestrahlung angeheftete Chip kann anschließend in die Klebepresse umgelagert werden, ohne dass Substrat und Deckel verrutschen. Über die Schrauben lässt sich der aufgebrachte Druck so einstellen, dass auf dem gesamten Chip ein homogener Druck anliegt, was Voraussetzung für einen guten Klebefilm ist. Hierdurch ist

gewährleistet, dass Substrat und Deckel bei der Entnahme nicht wieder auseinander gerissen werden.

Kleberauftrag

Da ein manueller Kleberauftrag auf das Substrat zwangsläufig auch den Kanal verschlossen hätte, wurde die Technik des „Stempelklebens“ entwickelt. Hierfür wird eine Gummimatte die bereits weiter oben beschrieben wurde als Stempelkissen verwendet. Auf diese Gummimatte wird nun eine kleine Menge Kleber gegeben und mit der Hartgummirolle gleichmäßig verteilt. Der so ausgerollte Kleber ist jedoch nicht viskos genug, um ihn direkt auf das Substrat zu übertragen, er würde den Kanal weiterhin verschließen. Vielmehr ist es erforderlich, dass der Kleber vorpolymerisiert wird, um die Fließfähigkeit zu reduzieren. Die zu verwendende Belichtungszeit richtet sich nach der Oberflächebeschaffenheit der Substrate. Mit Lackstempeln hergestellte Substrate benötigen einen viskoserer Film als mit gefrästen Stempeln hergestellte Substrate. Anschließend wird analog zu einem Stempelvorgang, der Kleber von der Matte auf das Substrat übertragen. Hierzu wird das Substrat mit der Kanal-seite voran auf die Gummimatte gedrückt. Hierbei ist darauf zu achten, dass an jede Stelle des Substrates Kleber gelangt. An dieser Stelle schließt sich evtl. ein zweiter Vorpolymerisierungsvorgang an, dies ist wiederum von der Oberflächenbeschaffenheit der Substrate abhängig.

Alternative Justage

Um die Detektionsfähigkeit des Systems zu erhöhen, ist es erforderlich, die Detektionselektroden reproduzierbar und genau zu justieren. Je besser die Justiergenauigkeit ist, desto geringer können die Abstände der Elektroden bei der kontaktlosen Leitfähigkeit ausfallen. Bei einer Genauigkeit von besser 10 μm ist es möglich für einen CE-Trennkanal eine sich gegenüberliegende Elektrodengeometrie zu wählen (s. Abb. 5.9). Hierbei sind im Gegensatz zur Standard-ITP nur Toleranzen von $<10 \mu\text{m}$ akzeptabel, ansonsten liegt eine der Elektroden nicht mehr im Kanal. Hierbei ist jedoch zu beachten, dass die hohen Anforderungen nur für eine Richtung gelten, Winkelfehler und eine Abweichung des Detektionsortes um einige μm spielen hingegen keine Rolle.

Eine weitere Schwierigkeit bei der Justage von Deckel und Substrat bei einem CE-System besteht in der sehr geringen Klebermenge, die sich auf dem Substrat befindet. Somit ist es nicht möglich, einen Belichter als Justagestation zu verwenden, da die Klebemenge nicht ausreicht, den Chip zu fixieren.

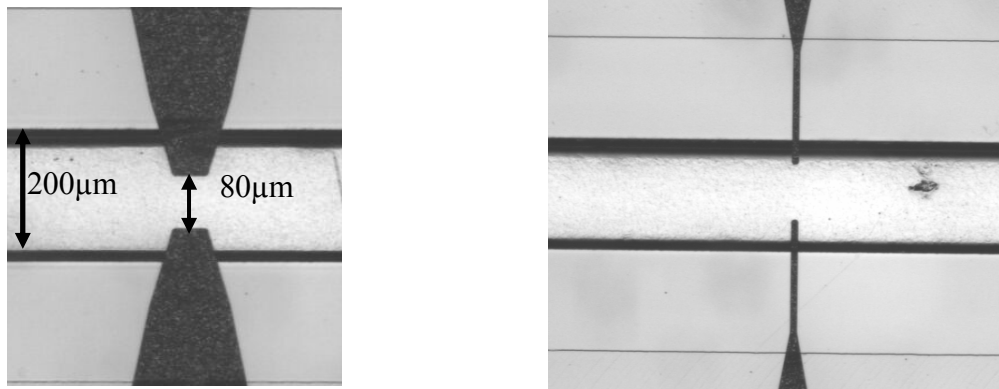


Abb. 5.9: a) direkte Leitfähigkeitsdetektion bei einem ITP-Chip, b) bei einem CE-Chip (theoretische Annahme, hier ist ebenfalls ein ITP-Chip abgebildet)

Durch Verwendung von Passstiften können Substrat und Deckel passiv zueinander justiert werden. Die Stifte müssen in die Verklebepresse integriert werden. Diese Integration ist nur möglich, wenn sich auf Substrat und Deckel Marker befinden, die sich aufeinander beziehen. Somit ist es erforderlich, dieses Feature bereits bei der Vorformherstellung zu berücksichtigen. Durch Verwendung einer Kamera gestützten Platinenfräsmaschine sind Bohrungen mit einer Präzision von besser $\pm 5 \mu\text{m}$ herstellbar. Somit lässt sich eine Positioniergenauigkeit von $\pm 10 \mu\text{m}$ realisieren, die auch für CE-Systeme ausreichend ist.

5.4 Auswertung

Neben der reinen Realisierung wurde das Hauptaugenmerk auf reproduzierbare Ergebnisse gelegt. Im Laufe dieser Arbeit sind mehrere hundert Fluidik-Chips verklebt worden. Bei unserem Industriepartner sind in der gleiche Zeit mit einem automatisierten System das auf den hier gefundenen Grundlagen beruht, mehrere tausend Chips justiert verklebt worden. Bei der Auswertung der Ergebnisse muss zwischen der Probephase, in der neue Geometrien getestet oder auf sich ändernde äußere Bedingungen reagiert werden muss und der Produktionsphase unterschieden werden. In der Produktionsphase liegt die Ausbeute bei der hier beschriebenen Technik bei ca. 80 %, die Hauptfehlerquellen sind Abformfehler, die zu

Klebereinläufen oder Abrissen führen, Justagefehler und Dreckeinschlüsse, die ebenfalls zu Klebereinläufen führen. Abb. 5.10 a) zeigt einen optimal verklebten Kreuzungsbereich.

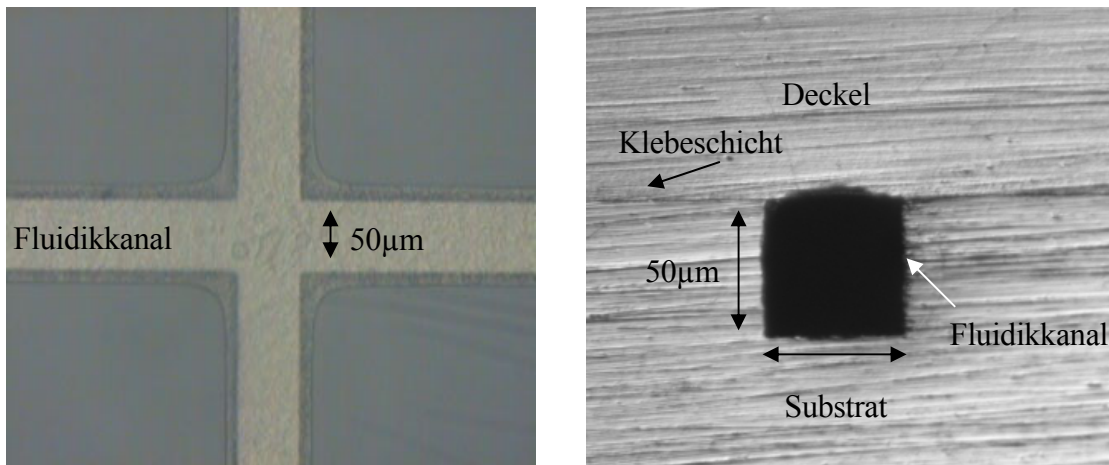


Abb. 5.10: a) Optimal verklebter Kreuzungsbereich, b) Querschnitt durch den Kanal

Um die Schichtstärke der Klebung und deren Qualität zu überprüfen, wurden Chips zersägt und poliert. In Abb. 5.10 b) ist deutlich zu sehen, dass der Kleber quasi komplett verdrängt wird und eine Schichtdicke von unter 1 µm aufweist.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass das Klebeverfahren reproduzierbar ist und sicher angewendet werden kann. Die gefundenen Prozessparameter garantieren eine hohe Ausbeute, wobei der kritische Punkt bei der Verarbeitung in der auf die Gummimatte aufgetragenen Klebefilmstärke zu suchen ist. Eine qualitative Kontrolle der Klebung ist ohne zerstörerische Maßnahmen nur schwer durchzuführen. Einzig eine optische Kontrolle mit einem Mikroskop kann einigermaßen Aufschluss über die Güte der Klebung geben. Bei diesem Verfahren kann gleichzeitig auch die Justage überprüft werden (s. Abb. 5.11).

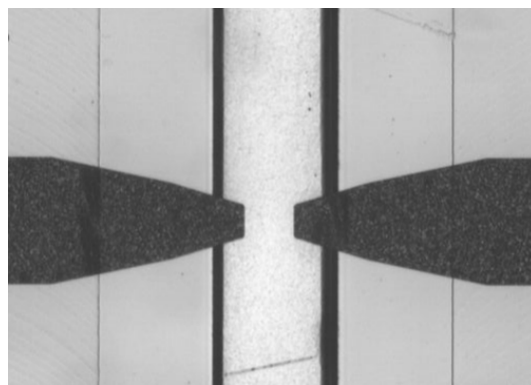


Abb. 5.11: Optische Kontrolle der Justage und der Klebequalität

Um die Qualität der Klebung objektiv beurteilen zu können, ist es wichtig Kriterien festzulegen, mit denen die Chips bewertet werden können. Im Folgenden sind die Noten 1 - 6 für die Klebung näher erläutert:

- Sehr gut:** keine Defekte in der Klebeschicht, kein sichtbarer Klebereinlauf in den Kanal.
- Gut:** keine Defekte in Kanalnähe, d.h. im Bereich von 5mm zum Kanal, minimaler Klebereinlauf, d.h. weniger als 10 % der Kanalbreite.
- Befriedigend:** Defekte in Kanalnähe, aber mindestens 2-fache Kanalbreite als homogener Bereich, maximaler Klebereinlauf 20 %.
- Ausreichend:** Defekte in Kanalnähe, aber homogener Bereich am Kanal vorhanden, maximaler Klebereinlauf 50 %.
- Mangelhaft:** Kein homogener Klebefilm, starker Klebereinlauf, aber Kanal noch durchlässig.
- Ungenügend:** Keine flächige Klebung oder Verstopfung des Kanals durch Kleber.

Für die Qualität der Justage ergeben sich entsprechende Kriterien:

- Sehr gut:** Alle Detektionspaare liegen mittig und an der gewünschten Stelle im Kanal
- Gut:** Abweichung von der Ziellage max. 10 %
- Befriedigend:** Alle Elektroden haben Kontakt mit mindestens 50 % der Sollfläche.
- Ausreichend:** Alle Elektroden haben Kontakt, mindestens eine jedoch nur Minimal (<10%).
- Mangelhaft:** Ein Elektrodenpaar hat keinen Kontakt zum Kanal.
- Ungenügend:** Keine Elektrode hat Kontakt zum Kanal.

Diese Kontrollen wurden bei ca. 150 ITP-Chips durchgeführt und die Chips mit Laufzetteln ausgestattet (s. Diagramm 5.1). Die Qualität der Justage wurde mit 1 - 6 bewertet, wobei die abgebildete Justage mit 1 - 2 zu bewerten ist. Eine glatte Eins kann nicht vergeben werden, da die rechte Elektrodenspitze weiter in den Kanal ragt als die linke. Die Klebung ist bei diesem Beispiel mit sehr gut zu bewerten, da im Bereich um den Kanal keinerlei Fehler aufgetreten sind. Ergänzend ist anzumerken, dass die dunklen Ränder an den Kanalkanten nicht durch Kleber hervorgerufen werden, sondern die Flanken des Kanals sind, wie sie beim Prägen entstanden sind. Bei Auswertung des Diagramms muss berücksichtigt werden, dass die Prüfungsprotokolle für eine neue Serie erstellt wurden und somit auch diejenigen Chips in die Bewertung einfließen, die zum Einfahren der Parameter benötigt werden.

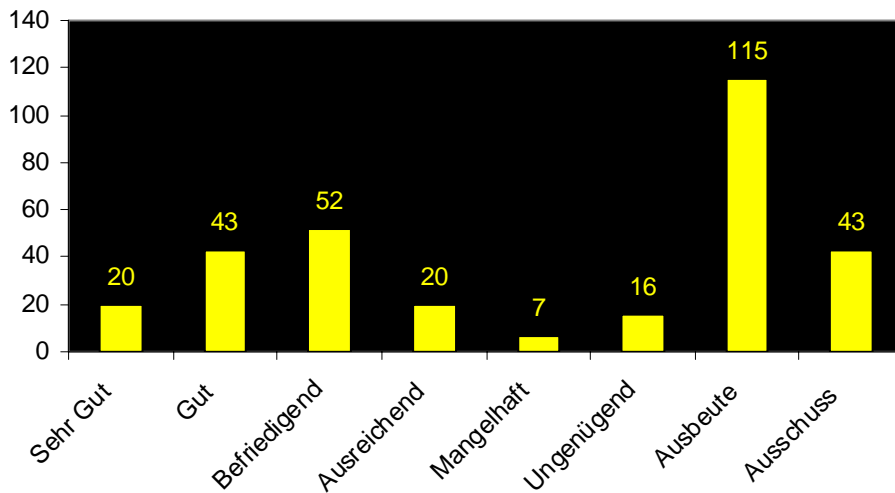


Diagramm 5.1: Qualitätskontrolle der Klebung und Justage

Als Beispiel für eine schlechte Klebung ist Abb. 5.12 anzusehen. Im Gegensatz zu Abb. 5.11 kam hier ein CE-Chip mit kontaktloser Leitfähigkeit zum Einsatz. Bei diesen Chips wurde die Justage per Hand, also ohne Einsatz des Belichters durchgeführt. In diesem Fall kann also nur die Klebung eingeschätzt werden. Es ist klar zu erkennen, dass die Klebung mehrere Defekte aufweist. In direkter Umgebung des Kanals ist jedoch kein Defekt zu erkennen, so dass die Klebung noch mit einer drei bewertet werden kann. Es ist jedoch damit zu rechnen, dass die Lebensdauer dieses Chips nicht sehr hoch ist und dann der Kanal undicht wird. Im praktischen Einsatz hat sich gezeigt, dass Defekte, die mehr als 2 mm vom Kanal entfernt sind, als unkritisch einzustufen sind.

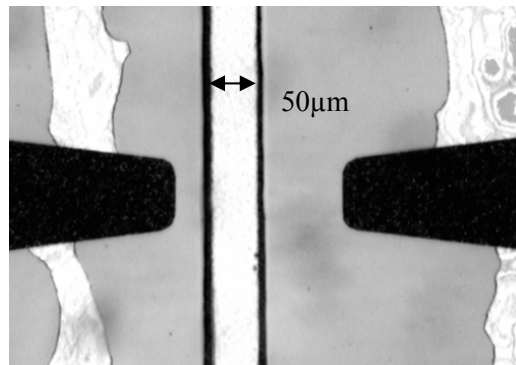


Abb. 5.12: CE-Chip mit Klebefilmdefekten

Insgesamt lässt sich feststellen, dass die Qualität der Klebeschicht mit einer raueren Oberfläche zunimmt, wie dies bereits in Kapitel 5.1 vermutet wurde. Die Qualität der Klebung der ITP-Chips, die allesamt mit gefrästen Vorformen hergestellt wurden, ist besser als die der CE-Chips die mit Dicklack-Vorformen gefertigt wurden. Durch geeignete Oberflächenstrukturierung kann dieses Problem jedoch verringert werden [STJ-98].

6. Analytik mit elektrischer Detektion

Zunächst in Zusammenarbeit mit dem ISAS und der Firma Merck KGaA, später auch direkt am Arbeitsgebiet Mikrostrukturtechnik, wurden die zuvor hergestellten Chips getestet. Die so gewonnenen Erkenntnisse flossen zurück in die Entwicklung der Chips. So konnte beispielsweise nur durch die Analytik die Haltbarkeit der Metallschichten und der Klebung im Kontakt mit der Pufferlösung untersucht werden und durch die aus diesem Test gewonnenen Erkenntnisse verbessert werden. Weiterhin konnten mit Hilfe dieser Analysen die Elektrodengeometrie überprüft und verbessert werden. Als Hauptgrund für die analytischen Untersuchungen muss jedoch die reine Funktionalität der hier vorgestellten Analysechips genannt werden. Im Gegensatz zu den meisten Forschungsgruppen bestehen die hier verwendeten Chips aus Kunststoff und arbeiten größtenteils mit elektrischen bzw. elektrochemischen Detektionsverfahren.

Neben dem Trennprinzip (CE oder ITP) ist die Art der Detektion ein entscheidendes Kriterium bei der Wahl eines geeigneten Analysesystems. Für mikrostrukturierte Analysechips ist ein integriertes Detektionsverfahren ideal. Hiermit ist eine Vor-Ort-Analyse beispielsweise von Abwässern oder eine kontinuierliche Prozesskontrolle möglich. Ganz ohne Modifikation der zu untersuchenden Flüssigkeit kommen die elektrischen Detektionsverfahren aus, da alle trennbaren Ionen einen spezifischen elektrischen Leitwert haben. Wenn die Auflösung dieser Verfahren jedoch nicht ausreichend ist, muss auf optische Verfahren oder gekoppelte Verfahren zurückgegriffen werden. Die optischen Verfahren werden in einem eigenen Kapitel erläutert.

In Tabelle 6.1 sind die Nachweisgrenzen für verschiedene Detektionsverfahren aufgeführt. Während der Forschungsarbeiten zu dieser Arbeit sind folgende Verfahren zum Einsatz gekommen:

- Amperometrie
- Leitfähigkeit
- Fluoreszenz
- Absorption

Im Gegensatz zu anderen Forschungsgruppen [[COL-01](#), [CHI-97](#), [TSU-00](#)] wurde die optische Detektion auch mit Hilfe von integrierten Lichtleitern durchgeführt. Dadurch ist die Integrationsfähigkeit gewährleistet und damit dem Gedanken an ein Lab-on-a-Chip System

Rechnung getragen.

Methode	Nachweisgrenze [mol]
UV-Vis-Absorption	10^{-13} - 10^{-16}
Fluoreszenz	10^{-15} - 10^{-17}
Laserinduzierte Fluoreszenz	10^{-18} - 10^{-20}
Amperometrie	10^{-18} - 10^{-19}
Konduktometrie	10^{-15} - 10^{-16}
Massenspektrometrie	10^{-16} - 10^{-17}
Indirekte Methoden	Faktor 10 –100 schlechter

Tab. 6.1: Methoden der Detektion [[BÄC-95](#)]

In den folgenden Unterkapiteln werden exemplarische Messungen für die unterschiedlichen Trennverfahren (CE und ITP) und die verschiedenen Nachweismethoden beschrieben. Die jeweiligen Messplatzaufbauten sind ebenfalls beschrieben. Für die optischen Nachweismethoden (Fluoreszenz und Absorption) wird in Kapitel 7 der Aufbau, die Herstellung der Chips, der Messplatzaufbau und die Analytik dargestellt.

6.1 Messplatzaufbau

Ein mikrofluidischer Messplatz für die CE besteht aus einer Hochspannungsquelle, die für die Injektion und die Erzeugung des EOF's benötigt wird, einem Hochspannungsumschalter für die Injektion, aus einer Messspannungsquelle, die im Falle der Amperometrie eine Gleichspannung erzeugt und im Falle der Leitfähigkeitsmessung eine hochfrequente Wechselspannung erzeugt, einer Auswerteeinheit und einem Ausgabegerät, hier ein Oszilloskope und eine Ausgabe an einen Computer. In Abbildung 6.1 ist ein solcher Messplatz dargestellt.

Der Messplatz für die ITP besteht aus einer Hochspannungsquelle die gleichzeitig als Konstantstromquelle dient, einem Fluidikmanagment, das das Einbringen der Elektrolyten steuert und die Fluidikkanäle quasi drucktechnisch abschließt und einem Leitfähigkeitsdetektor, mit dem die Messung durchgeführt wird.

Die detektionsspezifischen Eigenschaften werden in den jeweiligen Abschnitten herausgearbeitet.

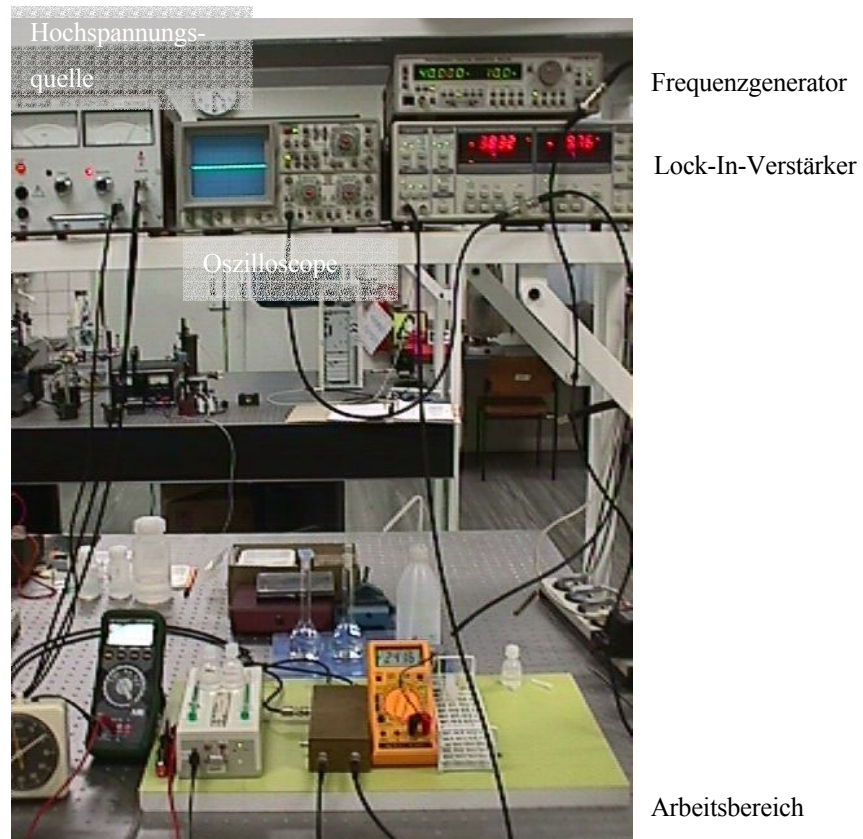


Abb. 6.1: Mikrofluidischer Messplatz für die CE mit elektrischer Detektion (ISAS)

Da es sich bei den Messsignalen um sehr schwache und stark verrauschte Signale handelt, ist es erforderlich, diese elektronisch aufzuarbeiten. Dies geschieht beispielsweise mit der Lock-In-Messtechnik. Die Messempfindlichkeit kann dabei häufig um mehrere Größenordnungen gesteigert werden.

Der Grundgedanke der Lock-In-Messtechnik ist es, das zu messende Signal so zu präparieren, dass es eindeutig vom Rauschen unterschieden werden kann. Eine passende Elektronik filtert die Rauschanteile heraus, selbst wenn diese um ein vielfaches stärker als das schwache Nutzsignal sind.

Dazu muss zunächst einmal eine Referenzfrequenz f_{Ref} für die Trägerwelle zur Verfügung stehen. Über den „Referenz-Eingang“ ist der Lock-In mit dem Referenzsignalgenerator verbunden und erfährt somit, mit welcher Frequenz das Nutzsignal moduliert wird.

Wenn das Signal den Lock-In-Verstärker erreicht, durchläuft es zuerst einen programmierbaren AC-Verstärker, der es an die Eingangsdynamik der weiteren Komponenten anpasst.

Der sich anschließende Demodulator stellt die wichtigste Funktionseinheit dar. Er multipliziert das vorgefilterte Signal mit einem rechteckförmigen Wechselsignal der gleichen Frequenz f_{Ref} . Nur wenn die beiden Signale genau in Phase sind, erhält man das maximale Ausgangssignal. Deswegen haben Lock-In-Verstärker einen Phasenschieber, über den sich die Phasenlage der Referenzfrequenz manuell oder automatisch dem Messsignal angleichen lässt [[REE-00](#)].

Das Rauschen wird im Tiefpass des Demodulators herausgefiltert. Genau wie statistisch von außen eingekoppelte Störungen ist es nicht mit der Referenzfrequenz moduliert. Selbst nach der Multiplikation mit dem Rechtecksignal im Demodulator bleibt das Rauschen eine Wechsellspannung, die den Tiefpass nicht überwinden kann.

Die letzte Stufe des Lock-In besteht aus einem programmierbaren DC-Verstärker, der das geglättete Signal noch einmal verstärkt. Am Ausgang liegt nun im Idealfall eine rauschfreie Gleichspannung vor, deren Größe proportional zur Amplitude des Wechselsignals am Eingang des Lock-In ist.

Ein weiterer wesentlicher Punkt ist die Hochspannungsquelle und der damit verbundene Umschalter. Für die Probeninjektion bei der CE ist es wichtig, die Hochspannung gezielt zu schalten, um den EOF in verschiedene Richtungen leiten zu können. Dieser Umschalter ist in Zusammenarbeit mit dem ISAS entwickelt worden.

Für die ITP ist wiederum ein Fluidikmanagement wichtig, da die Elektrolyten in die Kanäle gepumpt werden müssen. Um den hydrodynamischen Fluss zu unterdrücken ist es zudem wichtig, die Kanäle zu verschließen, damit ein konstanter Druck im Chip herrscht.

6.2 CE-Trennung

Zunächst kam die Kapillarelektrophorese (CE) als Trennverfahren zum Einsatz. Bei diesem Trennverfahren werden die unterschiedlichen Ionenarten nach ihren spezifischen Mobilitäten aufgetrennt und können so detektiert werden (s. Kapitel 2.1). Im Bereich der Detektion gibt es neben den optischen Verfahren hauptsächlich die Amperometrie und die Leitfähigkeitsmessung. Durch die Detektionsmethode wird das Elektrodendesign, so ist es beispielsweise nicht möglich mit einem Design für kontaktlose Leitfähigkeit (s. Abb. 6.4) amperometrisch

zu messen. Zusätzlich ist von der Geometrie der Elektroden die Detektionsfähigkeit des Systems bestimmt. Für beide Nachweismethoden wurden unterschiedliche Elektroden- designs entworfen und analytische Messungen durchgeführt. Für die Leitfähigkeitsdetektion wurde zudem eine Simulation des Messplatzes und der Elektrodengeometrien durchgeführt.

Zunächst wird der Messplatzaufbau für eine CE-Trennung erläutert und anschließend die Detektionsverfahren dargestellt.

6.2.1 Amperometrische Detektion

Die Geometrie der Detektionselektroden ist denkbar einfach (s. Abb. 6.2), auf eine aktive Justage der Elektroden zum Kanal kann verzichtet werden. Als veränderbare Parameter kommen hier nur die Breite der Elektroden und ihr Abstand zueinander in Frage. Die hier verwendeten Elektroden haben eine Breite von 50 μm und einen Abstand von 100 - 2000 μm . Ein gravierender Unterschied zur Leitfähigkeitsmessung ist, dass die Masselektrode der Hochspannung vor den Detektionselektroden liegen muss, da die Detektion nicht im Hochspannungsfeld erfolgen kann.

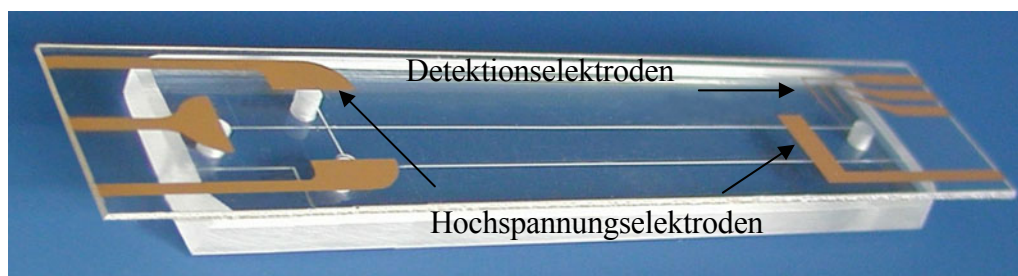


Abb. 6.2: Elektroden- design für die amperometrische Detektion mit integrierten Hochspannungselektroden

6.2.1.1 Messprinzip

Bei einer amperometrischen Detektion wird neben den Hochspannungsquellen für die Anregung des EOF'es eine Gleichspannungsquelle für die Messspannung benötigt. Diese muss galvanisch von der Hochspannungsquelle getrennt werden, damit kein Masseschluss entsteht und keine Verfälschung der Messung auftritt. Die prinzipieller Beschaltung des Chips ist in Abbildung Messaufbau ist in Abbildung 6.3 zu sehen. Hieran wird deutlich, dass

die Messelektroden hinter dem Hochspannungsbereich liegen. Von einer End-Column Detektion kann trotzdem nicht gesprochen werden, da der Flüssigkeitstransport in der Kapillare fortgeführt wird.

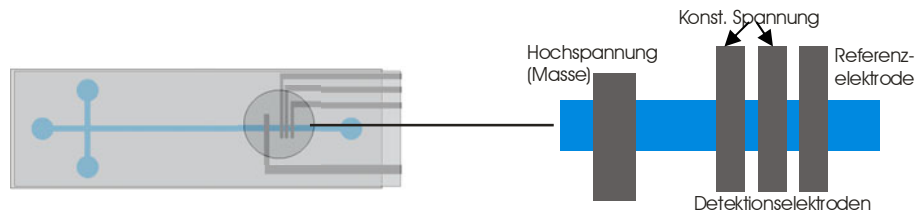


Abb. 6.3: prinzipieller Messaufbau bei amperometrischer Detektion

Die messbaren Ströme sind sehr gering und liegen im Bereich von fA. Mit diesem Verfahren lassen sich Nachweisgrenzen von bis zu 10^{-18} mol erreichen. Nachteilig ist bei diesem Detektionsverfahren, dass die Detektion nicht im Hochspannungsfeld erfolgen kann und damit Probleme durch Entstehung von Wasserstoff an der Masselektrode der Hochspannung auftreten. Dieser Wasserstoff führt zu Unterbrechungen in der Flüssigkeitssäule und damit zu einer Zerstörung der Trennung. Würde die Masse-Hochspannungselektrode in einem Reservoir liegen, wie dies bei den anderen Hochspannungselektroden der Fall ist, könnte der entstehende Wasserstoff durch die Reservoirbohrung entweichen.

Der in Abb. 6.4 dargestellte Verlauf, zeigt eine Trennung von Gallussäure und Kaffeesäure mit amperometrischer Detektion. Als Puffer kam ein Boratpuffer mit pH 8 zum Einsatz. Der leicht zu erkennende Peak ist der an der Arbeitselektrode umgesetzte Strom der Gallus- bzw. Kaffeesäure im Vergleich zum Boratpuffer. Die Messung dauerte etwa 10 Minuten. Mehrfach durchgeführte Versuche brachten alle das gleiche Ergebnis, so dass davon auszugehen ist, dass der Analysechip richtige und reproduzierbare Ergebnisse erbringt.

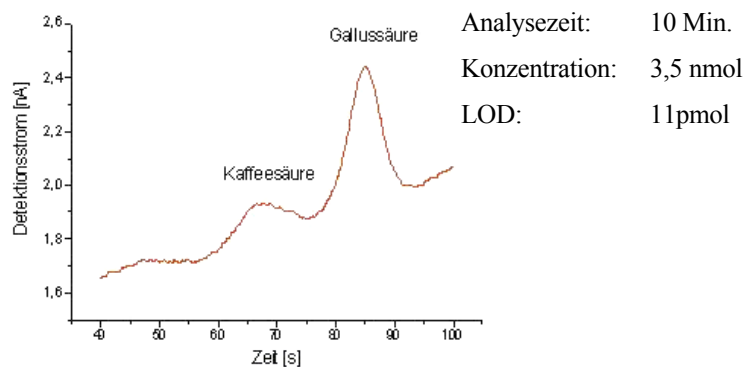


Abb. 6.4: Amperometrische Detektion von Gallus- und Kaffeesäure

Das Problem der Gasblasenbildung ließ sich auch durch geänderte Geometrien nicht wirkungsvoll unterdrücken. Lösungsmöglichkeiten liegen jedoch in einer alternativen

Materialwahl, Palladiumelektroden nehmen beispielsweise Wasserstoff auf und leiten es ab. Ein anderer Ansatz zielt darauf ab, die Hochspannungselektrode durch eine Öffnung an den Kanal heran zu bringen. Dies kann durch eine Mikrobohrung realisiert werden, wie dies mit der Mikrofräse möglich ist. Die kleinsten vorstellbaren Bohrungen liegen bei $50\ \mu\text{m}$, die Öffnung wird jedoch durch den verwendeten Platindraht vorgegeben. Erste Versuche sind hierfür erfolgreich am ISAS durchgeführt worden.

6.2.2 Leitfähigkeitsmessung (Conductometrie)

Im Gegensatz zur Amperometrie kann es bei der Leitfähigkeitsmessung erforderlich sein, die Elektroden zum Kanal zu justieren. Dies ist vor allem bei der kontaktlosen Leitfähigkeit, aber auch bei manchen Elektrodendesigns für die direkte Messung erforderlich (s. Abb. 6.5)

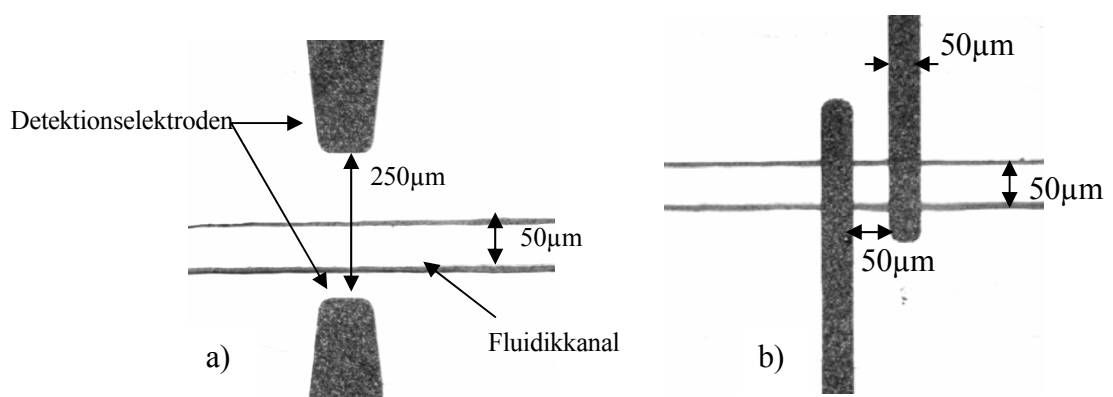


Abb. 6.5: Elektrodenpaar für die kontaktlose Leitfähigkeit (radial) (a), für die direkte Leitfähigkeit (lateral) (b)

Weiterhin ist es erforderlich, den Abstand zwischen den Detektionselektroden zu minimieren, um das Signal-Rausch-Verhältnis (SNR) möglichst groß zu halten.

6.2.2.1 Messprinzip

Bei der Leitfähigkeitsmessung (Konduktivität) handelt es sich um eine rein elektrische Detektionsmethode. In einem Wechselfeld findet eine komplexe Strommessung statt. Dadurch lässt sich auf die vorhandenen Ionen schließen, die sich gerade im Detektionsfeld befinden. Bei dieser Detektionsmethode wird noch zwischen direkter und kontaktloser

Detektion unterschieden. Der Hauptvorteile für die kontaktlose Detektion ist, dass das Elektrodenmaterial keine Rolle für das Messergebnis spielt, d.h. es kann ein unedleres Material als Platin verwendet werden. Weiterhin erhöhen sich die Haltbarkeit und die Reproduzierbarkeit der Messergebnisse durch das Wegfallen der Degeneration der Elektroden

Bei der direkten Leitfähigkeit haben die Detektionselektroden wie bei der Amperometrie direkten Kontakt mit der zu untersuchenden Flüssigkeit. Da es sich jedoch um eine rein ohmsche Messung handelt, spielt in diesem Fall die Geometrie der Elektroden eine größere Rolle als bei der Amperometrie. Durch größere Abstände wird der Einfluss der einzelnen Ionenarten auf den Gesamtwiderstand immer geringer, so dass die Detektionsfähigkeit sinkt.

Bei der kontaktlosen Detektion haben die Elektroden keinen direkten Kontakt mit der zu untersuchenden Flüssigkeit. Dies bedeutet, dass keine Reaktion der Elektroden mit der Flüssigkeit stattfinden kann (s. Abb. 6.5). Die Isolation der Elektroden zur Flüssigkeit wird entweder durch einen Abstand der Elektroden zur Lösung oder durch Aufbringen einer Zwischenschicht erreicht, was die Realisierung eines lateralen Ansatzes erheblich erschwert, da es nur schwer möglich ist, eine reproduzierbare Isolationsschicht – beispielsweise durch eine dünne Kleberschicht - aufzubringen. Durch die Isolation der Elektroden von der Flüssigkeit fällt die Degeneration der Elektroden komplett wird. Weiterhin kann eine Kombination von Kunststoffmaterial und Elektrodenmaterial gewählt werden, die eine maximale Haftung garantieren, da die Messung unabhängig von der Wahl des Elektrodenmaterials ist.

Bei der Leitfähigkeitsmessung fällt die Problematik der Gasblasenentstehung weg, da die Detektion im Hochspannungsfeld stattfinden kann. Bei der Detektionsspannung handelt es sich um eine hochfrequente Wechselspannung bei der keine Umsetzung an den Detektionselektroden stattfindet und somit kein Wasserstoff im Kanal entsteht, sondern erst im unkritischen Reservoir in das die Masseelektroden eingebracht werden kann. Somit ist es erheblich einfacher eine Leitfähigkeitsmessung durchzuführen als eine amperometrische Messung. Mit den hier vorgestellten CE-Chips wurden mehrere beispielhafte Messungen durchgeführt. In Abbildung 6.6 ist die direkte der kontaktlosen Leitfähigkeit gegenübergestellt. Hieran wird deutlich, dass bei der kontaktlosen Detektion das Signal/Rausch-Verhältnis schlechter ist als bei der direkten Detektion.

Die Messung in Abbildung 6.6 a) und b) wurde in 2 Minuten durchgeführt, das Detektionslimit lag bei 12 fmol für die direkte und bei 25 fmol für die kontaktlose Leitfähigkeitsmessung und die Trennungsspannung lag bei -170 V/cm. Bei der zu untersuchenden Lösung handelte es sich um eine 1,7 mM Lösung, der eingesetzte Buffer besteht aus 20 mM MOPSO + 20 mM Histidin mit einem pH von 6,4 und einem 20 μ M CTAB Zusatz um den EOF zu unterdrücken.

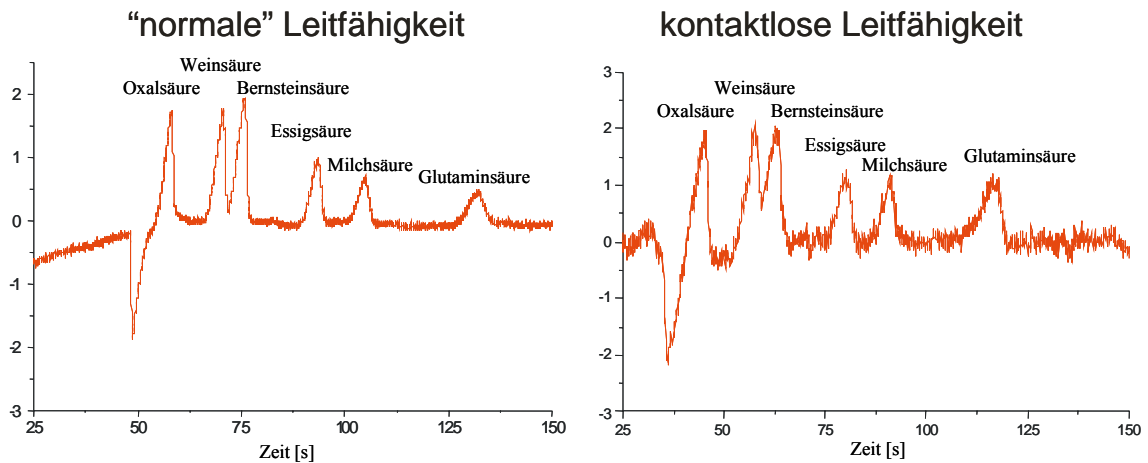


Abb. 6.6: direkte und kontaktlose Leitfähigkeitsdetektion

6.2.2.2 Elektrodenentwurf

Es lassen sich für die direkte und kontaktlose Detektion jeweils zwei Ansätze unterscheiden, die radiale und die laterale Anordnung (s. Abb. 6.4). Herstellungstechnisch ist die radiale Anordnung leichter zu realisieren, da sich die Metallschicht zwischen den Elektrodenspitzen leicht entfernen lässt, diese Anordnung erfordert jedoch eine Justage des Deckels zum Substrat, was bei der lateralen Anordnung evtl. entfallen kann. Wie in Abb. 6.4 zu sehen, ist bei dem gewählten Elektrodendesign eine Justage erforderlich, da die Elektroden nur 150 μ m überlappen und der Fluidikkanal dazwischen liegen muss.

Für die einzelnen Detektionsverfahren müssen verschiedene Elektroden entworfen, bzw. die Elektrodenanordnung an die jeweiligen Anforderungen angepasst werden. Hierbei stellt auch die spätere technische Umsetzung eine große Rolle. Es soll möglichst auf zusätzliche, fehlerträchtige Arbeitsschritte wie beispielsweise das Aufbringen einer Isolationschicht verzichtet werden.

Für die kontaktlose Detektion bieten sich somit radiale Elektroden an, die außerhalb des Kanals liegen (s. Abb. 6.7 1)). Als freie Parameter lassen sich die Form der Elektroden und der Abstand der Elektroden zum Kanal verändern. Der Abstand zum Kanal ist durch die Justiergenauigkeit gegeben und kann mit Hilfe von passiver Justage auf 30 μm gebracht werden. Eine Alternative sind durch eine Klebschicht isolierte, laterale Elektroden. Der Abstand zur Flüssigkeit ist nur durch die Isolierschicht gegeben, die Herstellung ist sehr schwierig und Reproduzierbarkeit sehr gering. Bei den lateralen Elektroden lässt sich die Elektrodenbreite und der Abstand der Elektroden zueinander variieren.

Bei der direkten Detektion kommen ebenfalls eine laterale und radiale Anordnung in Frage. Die laterale Anordnung ist mit der kontaktlosen Detektion identisch, nur die Isolationschicht fällt weg (s. Abb. 6.7 3)). Bei der radialen Anordnung müssen beide Elektroden Kontakt zum Kanal haben, was die Schwierigkeit verdeutlicht. Die Justiergenauigkeit muss gewährleisten, dass noch beide Elektroden im Kanal liegen. Bei Kanalbreiten von 50-60 μm und Elektrodenabständen von >10 μm muss diese bei <20 μm liegen.

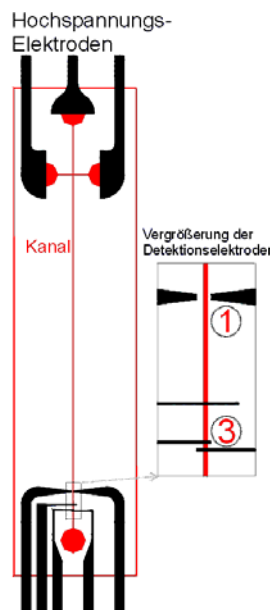


Abb. 6.7: Elektrodengeometrie für die Leitfähigkeitsmessung
1: kontaktlos 3: direkt

Für die kontaktlose Leitfähigkeitsdetektion ist exemplarisch eine Simulation zur Untersuchung der Detektionsfähigkeit und des Einflusses der Geometrie auf die Detektionsfähigkeit durchgeführt worden. Wichtig ist es zunächst ein geeignetes Modell für das Problem zu entwickeln. Das erstellte Modell sollte so weit wie möglich vereinfacht werden, ohne Informationen zu verlieren, dies geschieht hauptsächlich durch Ausnutzung von

Symmetrieebenen (s. Abb. 6.8). Liegen beispielsweise zwei Symmetrieebenen vor, muss nur ein Viertel des Modellbereiches untersucht werden, ohne Informationen zu verlieren.

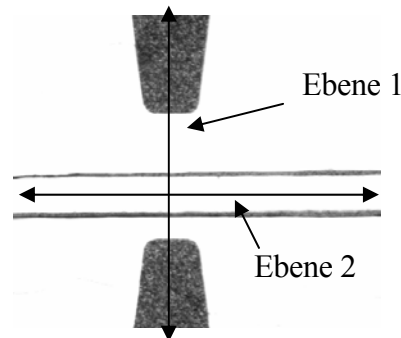


Abb. 6.8: Symmetrieebenen im Modellbereich

Nach Festlegung der gewünschten Geometrien und den zu verwendenden Materialien wurde ein Diskretisierungsmodell festgelegt, das ein möglichst genaues Abbild der Realität darstellen soll, ohne den Datenaufwand zu groß werden zu lassen. Als Materialien kamen zum Einsatz:

PMMA:	Leitwert: $\chi_{\text{PMMA}}=1 \cdot 10^{-15} \text{ 1}/\Omega \cdot \text{cm}$ Dielektrizitätskonstante: $\epsilon_{\text{PMMA}}=2,7$
0,01 Mol NaCl:	Leitwert: $\chi_{\text{NaCl}}=0,002 \text{ 1}/\Omega \cdot \text{cm}$ Dielektrizitätskonstante: $\epsilon_{\text{NaCl}}=2,0$
Pt:	Idealer Leiter Potential: $U(t)=U_{\text{max}} \cdot \sin(\omega t)$

Als geeignetes Simulationsprogramm für den elektrischen Feldverlauf kam Mafia¹ zum Einsatz. Dieses Programm wird üblicherweise dazu eingesetzt, Wellenleiter, Plasmaströme, Wärmeleitung, Strom, Magnetischen Fluss, etc. zu simulieren. Die Volumenkörper werden mit Hilfe von AutoCad erstellt. Die anschließende Diskretisierung wird bereits mit dem Simulationsprogramm Mafia durchgeführt. Für die Randbereiche können direkt Potentiale definiert werden, so dass Symmetrieeigenschaften ausgenutzt werden können. Nach der Wahl eines geeigneten Simulationsverfahrens, bei den hier betrachteten Frequenzen kam die

¹ Mafia, Simulationsprogramm der Firma UST

quasistatische Feldberechnung zum Einsatz, können die Materialeigenschaften festgelegt werden.

Durch die Simulation hat sich gezeigt, dass durch eine geeignete Geometrie sowohl die Elektroden-Kanal-Kapazität als auch der Strom durch den Kanal erhöht werden kann. Beide Ergebnisse verbessern das Signal-Rausch-Verhältnis und damit die Detektionsfähigkeit des Sensors. Dies ist sowohl bei der Verbreiterung der Elektroden beim lateralen Ansatz als auch beim Verwenden einer sensorbreiten Zuleitung beim radialen Ansatz der Fall.

Dennoch hat die Verwendung des lateralen Ansatzes enorme Vorteile. Außer der einfacheren Justierung des Deckels bei der Montage liefert er aufgrund seiner hohen Elektroden-Kanal-Kapazität den höchsten Strom und damit das beste Sensorsignal. Nachteilig ist jedoch, dass die notwendige Isolationsschicht nicht reproduzierbar zu fertigen ist und damit zweckmäßig nur für die direkte Leitfähigkeit zu verwenden ist.

Durch die variable Zonenbreite bei Analysen können keine absoluten Zahlenwerte für eine optimale geometrische Abmessung gegeben werden. Es ist also immer eine Optimierung auf eine bestimmte Zonenbreite notwendig. Hierbei muss sich an der geringsten zu erwartenden Zonenbreite orientiert werden. Die Elektrodenbreite beim radialen Ansatz und die minimale Distanz zwischen den Elektroden beim lateralen Ansatz sollten der minimalen Zonenbreite entsprechen. Beim lateralen Ansatz sollten die Elektrodenbreiten dem doppelten Elektrodenabstand entsprechen.

Minimale Zonenbreite: $B_Z = x$

Radialer Ansatz: Elektrodenbreite: $B_E = x$
 Elektroden-Kanalabstand: $D_{EK} = \text{möglichst klein}$

Lateraler Ansatz: Elektrodenbreite: $B_E = \frac{1}{2} \cdot x$
 Elektrodendistanz: $D_{EE} = \frac{1}{4} \cdot x$
 Isolationsdicke: $D_I = \text{möglichst gering}$

6.3 ITP-Trennung

Neben der Kapillarelektrophorese kam die Isotachophorese als zweites Trennverfahren zum Einsatz. Als Detektionsverfahren wurde während dieser Arbeit die Leitfähigkeit verwendet, es sind jedoch auch optische oder gekoppelte Verfahren möglich. Im Gegensatz zur CE existiert bei der ITP kein EOF und der Ionentransport wird ähnlich dem Elektronentransport in Festkörpern durch elektrokinetische Transportmechanismen realisiert. In Abbildung 6.9 ist ein typischer ITP-Chip für die Leitfähigkeitsdetektion zu erkennen.

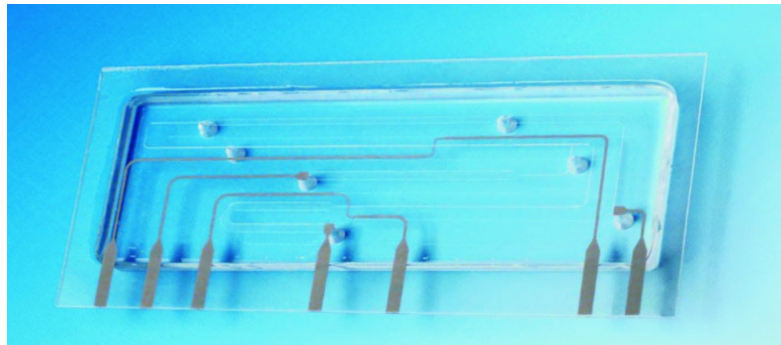


Abb. 6.9: ITP-Chip für die Leitfähigkeitsmessung

6.3.1 Messprinzip

Ähnlich wie bei der Leitfähigkeitsmessung für die CE, wird die Veränderung des ohmschen Widerstandes der Lösung gemessen. Dazu sind auf den Deckeln Elektrodenpaare für die direkte Leitfähigkeitsmessung untergebracht (s. Abb. 6.10), die ebenfalls vorhandenen Hochspannungselektroden wurden später in die Fluidikanschlüsse integriert.

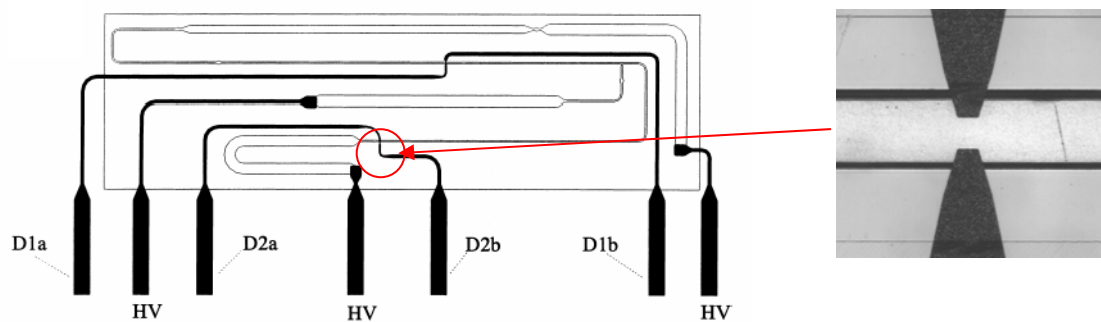


Abb. 6.10: ITP-Chipdesign: a) Elektrodendeckel mit Hochspannungselektroden (HV) und Elektrodenpaaren für die Detektion (D1a-D2b), b) Detailaufnahme Detektionselekt.

Dieses Chipdesign ist zusätzlich dazu geeignet, bestimmte Substanzen aus der Lösung auszuschleusen und in einer zweiten Messung die verbleibenden Substanzen nochmals zu messen. Das Elektrodenpaar D1 ist für die erste Messung vor der Ausschleusekreuzung platziert. Mit Elektrodenpaar D2 lassen sich dann die verbleibenden Substanzen untersuchen. Dieses Verfahren wird hauptsächlich dann angewendet, wenn wenige Substanzen in hohen Konzentrationen vorkommen und ihr Messsignal das der Substanzen in geringer Konzentration so überlagert, dass es nicht mehr eindeutig zu detektieren ist.

Die Detektionskurve bei der ITP (s. Abb. 6.11) ist nicht mit der einer CE-Messung zu vergleichen. Bei der ITP existieren keine Peaks, sondern Ebenen gleicher Leitfähigkeit, die den einzelnen Zonen entsprechen. Da sich die gesamte Probe mit gleicher Geschwindigkeit bewegt (iso tacho), gilt in den verschiedenen Zonen eine unterschiedliche elektrische Feldstärke. Analytione mit einer geringen Mobilität füllen den Ionen verarmten Bereich hinter den schnelleren Ionen auf, da in der Verarmungszone durch den höheren Widerstand ein höheres elektrisches Feld entsteht und somit die Ionen mit der geringeren Mobilität beschleunigt werden. Erreichen die schnellsten dieser Ionen nun diesen Bereich, sinkt die Feldstärke wieder ab, da sich durch die Erhöhung der Ionenanzahl die Leitfähigkeit erhöht. Dies führt auch zu einer Aufkonzentrierung der Zonen, was in mehrstufigen Analyse-systemen ausgenutzt wird.

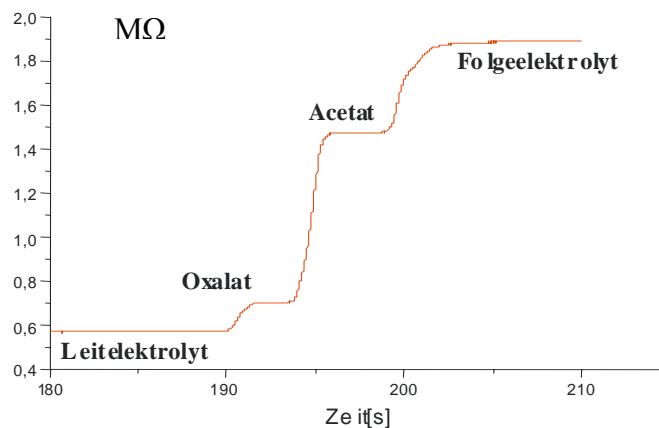


Abb. 6.11: Leitfähigkeitsmessung mit einem ITP-Mikrochip

6.4 Performanceabschätzung

Während dieser Forschungsarbeit ist es gelungen, für verschiedene Detektionsarten und Geometrienanordnungen Elektrodendesigns zu entwickeln. Hierbei sind auch Vorgaben aus

der Maskierungstechnik für das anschließende Metallisieren berücksichtigt worden. Weiterhin ist durch Simulationen die grundlegende Funktionalität des Detektionsprinzips bestätigt worden. Durch die Simulation ist jedoch auch gezeigt worden, dass keine absoluten Strukturgrößen angegeben werden können, sondern nur relativ für die entsprechende Detektionsaufgabe.

Es lässt sich allerdings festhalten, dass es wünschenswert ist, möglichst schmale Elektroden zu bewerkstelligen und die Abstände zwischen den Elektroden und den Elektroden und dem Kanal möglichst gering zu halten. Diese Werte können jedoch nicht durch theoretische Daten ermittelt werden, sondern werden durch die verwendeten Herstellungstechniken insbesondere durch die Justage festgelegt.

Eine wichtige Aufgabe bei der Elektrodenentwicklung ist zudem die Berücksichtigung von zusätzlichen Komponenten, wie Justagemarkierungen und Beschriftungen.

Neben der reinen Funktionalität ist die Güte der Analyse ein wichtiges Kriterium für ein mikrofluidisches Analysesystem. Hierbei sind vor allem das Detektionslimit und die benötigte Detektionszeit wichtig, weiterhin spielt die Reproduzierbarkeit der Messungen auf verschiedenen Chips eine große Rolle.

Für die amperometrische Detektion konnte ein Detektionslimit von 11 pmol erreicht werden, was zusammen mit einer Detektionszeit von 10 Min. ein gutes Resultat darstellt [VOG-01]. Die Reproduzierbarkeit der Messergebnisse ist jedoch schlecht, so dass es sich bei diesem Messverfahren nur um eine Laborlösung handelt.

Für die Leitfähigkeitsmessungen konnte ein Detektionslimit von 12 fmol für die direkte Leitfähigkeit und ein Limit von 25 fmol für die kontaktlose Leitfähigkeit erreicht werden [WEB-00]. Die Reproduzierbarkeit der Leitfähigkeitsdetektion ist gut und somit ist die Leitfähigkeitsdetektion ein für Messungen einsetzbares Analyseverfahren.

Mit den ITP-Chips konnten in einer Beispielmessung aus einer aus sieben organischen Säuren bestehenden 100 μ mol Lösung alle Säuren zweifelsfrei nachgewiesen werden [GRA-01]. Dies entspricht der Leistungsfähigkeit kommerziell erhältlicher Geräte.

7. **Optische Detektion mit integrierten Lichtwellenleitern**

Um eine Reaktion des Analyten mit den Elektroden bei der Detektion zu verhindern, bietet es sich an optisch zu detektieren. Hierbei kann keine chemische Umsetzung und damit Beeinträchtigung der Messung stattfinden, somit kann auch der Chip nicht durch Elektrodenzerstörung unbrauchbar werden. Die deshalb heute am häufigsten eingesetzte Detektionsmethoden in der mikrofluidischen Analytik sind die Fluoreszenz und die Absorption. Beide Nachweismethoden werden üblicherweise mit Freistrahloptiken realisiert [[SWI-00](#), [EFF-97](#), [HAA-99](#)]. Um einen kompakten Messaufbau zu garantieren, ist es vorteilhaft, die optischen Wellenleiter auf den Chip zu integrieren. Hiermit ist eine gleich bleibende Ankopplung der Wellenleiter an den Fluidikkanal und damit reproduzierbare Messergebnisse gewährleistet. Für die Integration der Wellenleiter in den Chip musste ein neues Konzept erarbeitet werden, da es zum einen erforderlich ist, die Wellenleiter mit einem Kernmaterial zu füllen, zum anderen darf der Fluidikkanal jedoch nicht mit gefüllt werden. Alternativ hierzu können Standard-Chip nachträglich modifiziert werden, so dass Glasfasern direkt an den Kanal angekoppelt werden können. In diesem Kapitel wird auf die Chipherstellung für die integrierte optische Detektion und auf alternative Möglichkeiten eingegangen.

Um direkt Substanzen mit Hilfe der optischen Detektion nachweisen zu können, müssen diese fluoreszierend sein oder Absorptionsbanden aufweisen. Stoffe, die keine Eigenfluoreszenz haben, können an andere Stoffe angekoppelt werden, die diese Eigenschaft haben. Dieser Zwischenschritt ist jedoch teuer und zeitintensiv. Im medizinischen Bereich ist das Nachweisen von Proteinen eine Hauptaufgabe. Die meisten dieser Proteine weisen eine starke Absorption bei 230 nm auf. Damit können sie direkt mit Hilfe der Absorptionsdetektion gemessen werden. Wichtigste Voraussetzung hierfür ist, dass die Substrat- und Wellenleitermaterialien in diesem Wellenlängenbereich eine geringe Dämpfung aufweisen, um das Messsignal nicht zusätzlich zu stören.

7.1 **Realisierungsmöglichkeiten**

Die optische Detektion kann auf verschiedene Weisen erfolgen. Ein prinzipieller Unterschied besteht in der Verwendung eines integrierten oder externen Detektionssystems. Durch eine

Freistrahloptik lässt sich ohne Modifikation der Chips eine Detektionsanordnung aufbauen. In Abbildung 7.1 sind verschiedenen Aufbauten für die Fluoreszenz und die Absorption dargestellt. Ein gravierender Nachteil dieser Aufbauten ist, dass die Deckelstärke und im Fall der Absorption auch die Substratstärke als Dämpfungselemente im Strahlengang liegen. Für Standardchips liegt die Deckelstärke bei $750\ \mu\text{m}$, was einer Dämpfung von $0,42\ \text{dB}$ bei $480\ \text{nm}$ und einer Dämpfung von größer $70\ \text{dB}$ bei $230\ \text{nm}$ entspricht. Für eine übliche Substratstärke von $5\ \text{mm}$ ist eine ebenfalls eine Dämpfung von mehr als $70\ \text{dB}$ bei $230\ \text{nm}$ zu berücksichtigen. Durch Verwendung dünnerer Substrate lässt sich die Dämpfung zwar verringern, aber Restdicken von einigen hundert μm verursachen eine hohe Dämpfung.

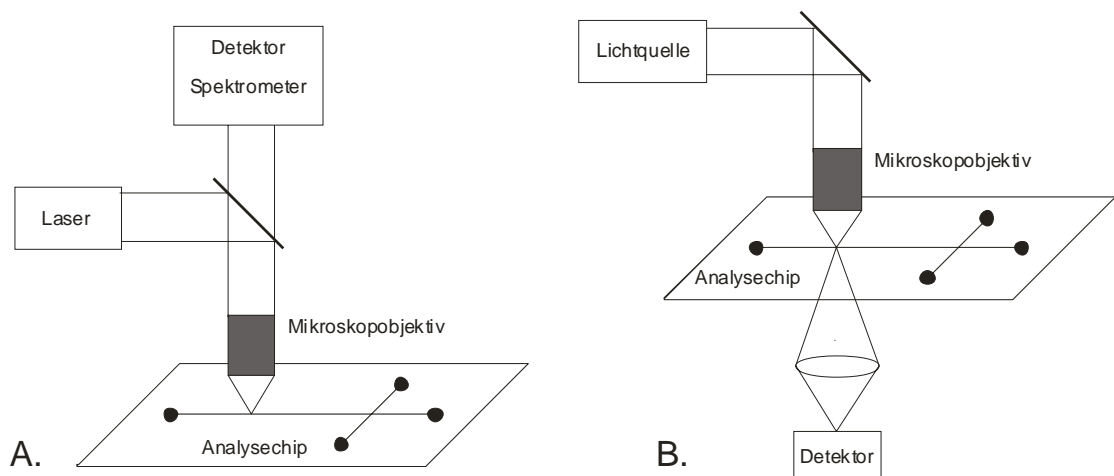


Abb. 7.1: Freistrahloptik zur Detektion von a) Fluoreszenz und b) Absorption

Um diesen Nachteil zu umgehen, ist es möglich Analysechips mit Hilfe einer Mikrofräse nachträglich zu bearbeiten und somit Detektionsfenster freizulegen, die nur eine Restdicke von einigen zehn μm aufweisen. Diese können vertikal oder auch horizontal angelegt werden, jede Anordnung besitzt Vor- und Nachteile, so dass keine Festlegung getroffen werden kann (s. Abb. 7.2, [Abb. 7.11](#)).

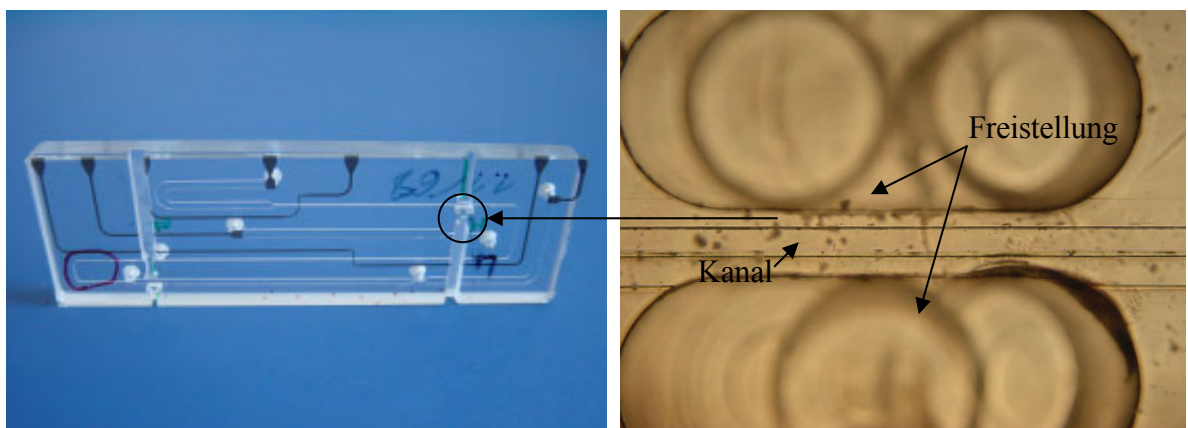


Abb. 7.2: Freistellungen für die optische Detektion: horizontal

Wichtige Voraussetzung für eine dementsprechende Anordnung ist die Möglichkeit, den Chip passiv an die Auswertoptik anzukoppeln. Über spezielle Justagestrukturen, die in den Chip eingebracht werden müssen, kann dies mit ausreichender Genauigkeit geschehen (s. Abb. 7.3).

Neben dieser Möglichkeit mit einer Glasfaserankopplung zu arbeiten, besteht die Möglichkeit, die Wellenleiter direkt in den Chip einzubringen. Dies hat den augenscheinlichen Vorteil, dass der Übergang Wellenleiter Fluidikkanal reproduzierbar herstellbar ist und damit auch nicht Parameter wie Wandrauheit variieren können.

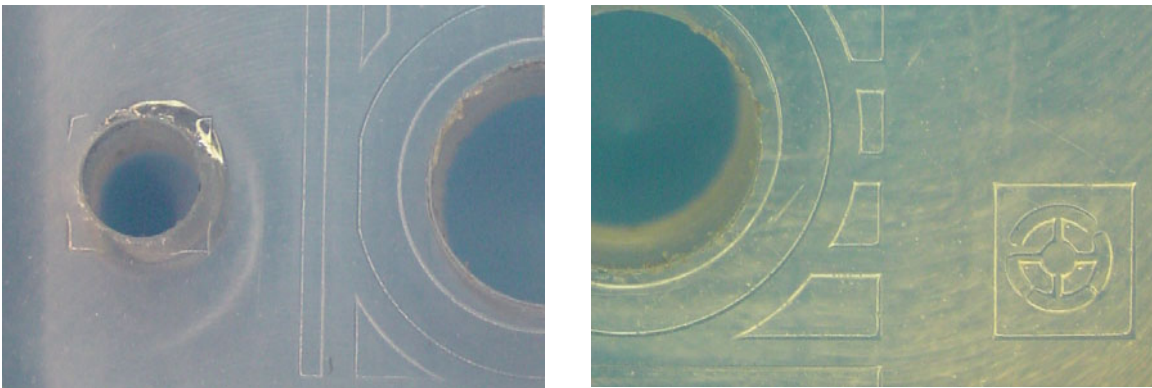


Abb. 7.3: Justagestrukturen für eine passive Ankopplung:
a) gebohrte Justageöffnung, b) geprägte Justagestruktur

In Abbildung 7.4 sind mehrere denkbare Wellenleitergeometrien gezeigt, die in ihrer Anordnung durch das verwendete Detektionsverfahren unterschiedlich ausfallen. Für die Absorption ist es unerlässlich, dass sich Einkoppelwellenleiter und Auskoppelwellenleiter direkt gegenüber liegen. Bei einer Fluoreszenzmessung kann darauf verzichtet werden, da sich die abgestrahlten Wellen anisotrop ausbreiten. Diese Anordnung hat zudem den Vorteil, dass das eingestrahelte Licht nicht im Detektionswellenleiter geführt wird und somit nicht ausgefiltert werden muss, damit erhöht sich die Detektionsfähigkeit.

Neben der technisch schwierigen Herstellung der Wellenleiter, müssen auch die integrierten Wellenleiter an ein externes System angekoppelt werden. Dies kann jedoch ebenfalls durch ein passives Koppelsystem erfolgen und ist bei Verwendung geeigneter Glasfasergrößen einfach zu realisieren.

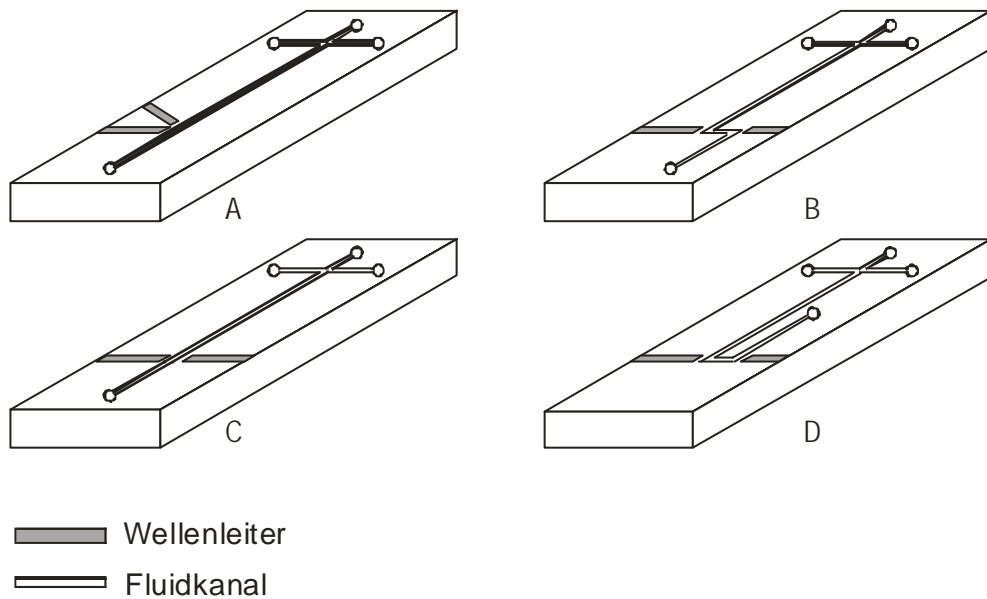


Abb. 7.4: Verschiedene Wellenleiteranordnungen für die optische Detektion, a) Fluoreszenz, b), c), d) Absorption

7.2 Wellenleiterherstellung

Für die integriert optische Detektion sind Wellenleiterstrukturen erforderlich. Um eine Lichtleitung zu ermöglichen muss die Brechzahl des als Kern verwendeten Materials höher sein, als das ihn umgebende Material [[BER-93](#), [KAR-91](#)]. Weiterhin müssen die Wellenleiter bereits in der Vorform vorgesehen werden. Mit dem Design wird auch das Detektionsverfahren festgelegt, für die Absorptionsmessung können nur sich gegenüberliegende Wellenleiter verwendet werden, wogegen für die Fluoreszenzdetektion auch seitliche Wellenleiter möglich sind (s. Abb. 7.5).

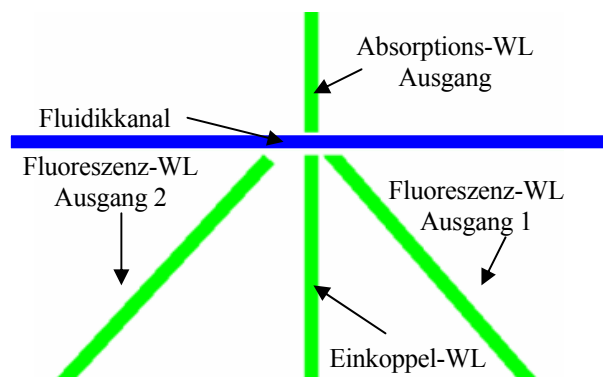


Abb. 7.5: Wellenleiteranordnung für die Absorption und die Fluoreszenz

Die Schwierigkeit bei der Wellenleiterherstellung besteht darin, den Wellenleiterkanal mit einem höher brechenden Polymer zu befüllen, ohne dass dabei der Fluidikkanal mitgefüllt wird. Ein Verfüllen und anschließendes Verpressen der Struktur fällt damit aus [[WIE-96](#), [LEH-00](#), [WIT-01](#), [MED-01](#)]. Gute Ergebnisse wurden damit erzielt, die Wellenleiterkanäle mit Kleber zu überfüllen, d.h. nicht nur die Kanäle werden mit Kleber gefüllt, sondern auch ein großer Teil der Substratoberfläche und anschließend auszuhärten (s. Abb. 7.6).

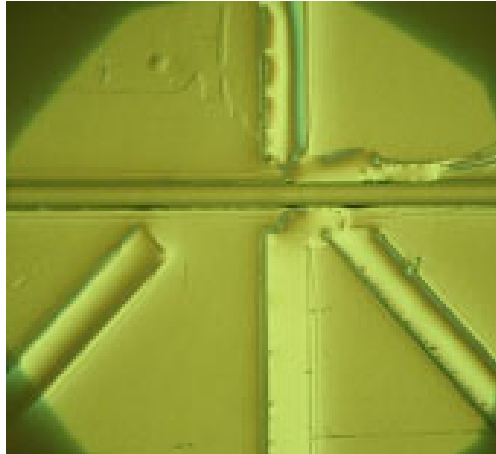


Abb. 7.6: Verfüllte Wellenleiterkanäle mit freibleibendem Fluidikkanal (Schema s. 7.5)

In einem weiteren Schritt kann die Oberfläche planarisiert (s. Abb. 7.7) und anschließend wie in Kapitel 6 beschrieben verklebt werden. Auf das Planarisieren kann verzichtet werden, wenn die Wellenleiterkanäle nur durch Kapillarkwirkung gefüllt werden. Hierzu wird nur ein Tropfen im Außenbereich des Substrats aufgegeben. Dank der [Kapillarkraft](#) zieht sich der Kleber in den Kanal. Es entsteht ein leicht konkaves Profil, das aber beim Verkleben mit Material gefüllt wird. Vor dem Verkleben des Substrats mit dem Deckel muss dieser Außenbereich entfernt werden.

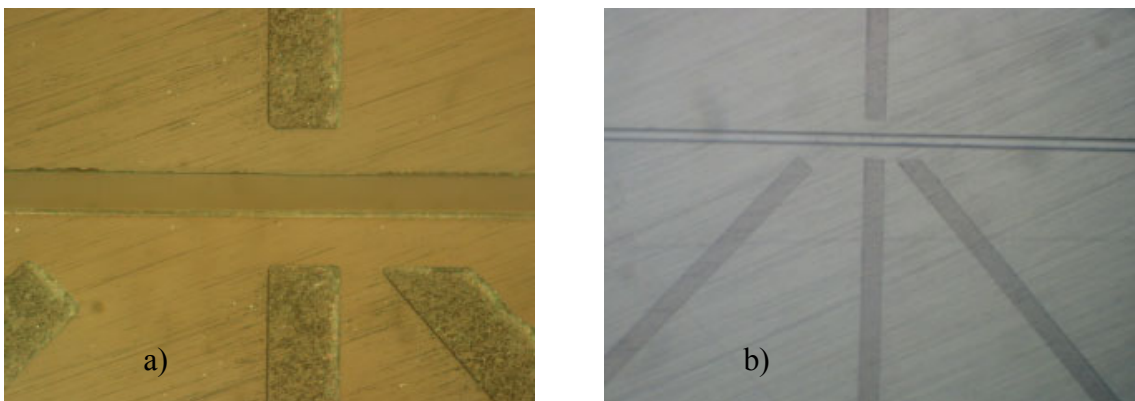


Abb. 7.7: Polierte Substratoberseite mit Wellenleitern und Fluidikkanal:
a) Nahaufnahme, b) Übersicht

Der Vorteil dieses Herstellungsverfahrens liegt darin begründet, dass Wellenleitermaterial und Kleber gleich sind und somit durch den Verklebeprozess ein Indexmatching vorgenommen wird (s. Abb. 7.8.). Hierdurch werden die beim Polieren entstandenen Oberflächenbeschädigungen ausgeglichen und es entstehen keine zusätzlichen Abstrahlverluste.

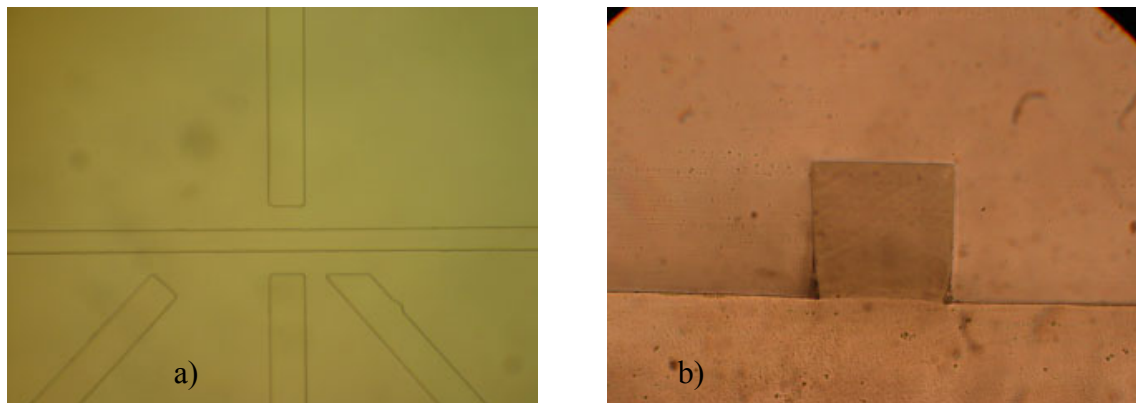


Abb. 7.8: Verklebter Chip: a) Aufsicht, b) Wellenleiterquerschnitt

Der verwendete Kleber [\[NOA-02\]](#) weist in den relevanten Wellenlängenbereichen folgende Charakteristik auf (s. Abb. 7.9).

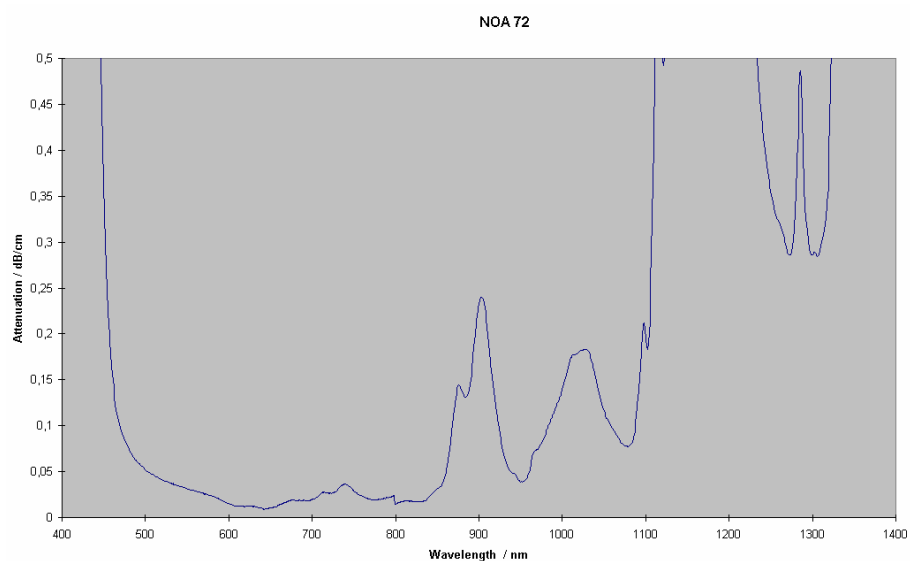


Abb. 7.9: Dämpfungskennlinie Noa-72 [\[NOA-02\]](#)

Hieran wird das Problem der z. Z. kommerziell erhältlichen Kleber deutlich: Die Dämpfung nimmt im für die Proteinanalyse wichtigen Wellenlängenbereich von unter 250 nm stark zu und ist somit für diesen Bereich als Wellenleitermaterial ungeeignet. Im Bereich der Fluoreszenz der meisten Stoffe ist die Dämpfung sehr gering (400-600 nm) und somit gut geeignet.

7.3 Alternative Verfahren

Da z. Z. kommerziell erhältliche Klebstoffe eine hohe Absorption im niedrigen UV-Bereich aufweisen, ist die Verwendung von integrierten Wellenleitern für die Absorptionsmessung keine optimale Lösung. Für diesen Einsatz ist vielmehr ein passiv gekoppelter Aufbau mit dämpfungsarmen Glasfasern besser geeignet (s. Abb. 7.10).

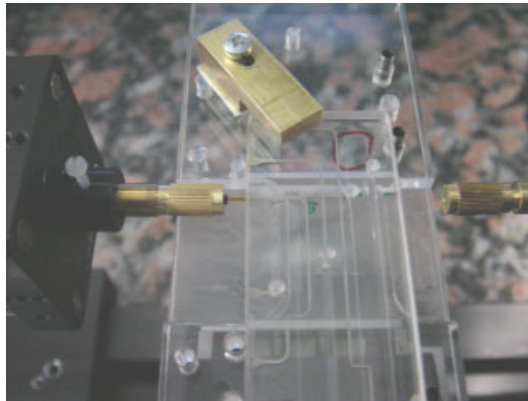


Abb. 7.10: Fluidikchip mit angekoppelten Glasfasern, horizontaler Ansatz

Statt der Wellenleiterlänge als Dämpfungsglied bleibt hier nur die Wandstärke als abschwächendes Element übrig. Durch Verwendung unterschiedlicher Glasfaserdurchmesser für die Ein- und Auskopplung lassen sich zudem die Abstrahlverluste minimieren.

Neben dem Nachteil der hohen Dämpfung der integrierten Wellenleiter hat die Lösung mit passiv gekoppelten Glasfasern einen weiteren entscheidenden Vorteil, die technische Realisierung ist wesentlich einfacher und in den Fertigungsprozess der Substrate zu integrieren. Wenn die Deckel zudem auch spritzgegossen werden, ist die Ankopplung an den Chip durch den normalen Fertigungsprozess realisierbar.

Die passive Ankopplung an den Chip stellt zudem auch keine höheren Ansprüche an den Messplatzaufbau als das Ankoppeln an integrierte Wellenleiter. Bei der vertikalen Anordnung kann eine Glasfaser in die Fluidikaufnahme und die zweite Faser in die Grundplatte integriert werden. Der Abstand Grundplatte Fluidikkanal ist durch die Deckelstärke definiert und somit gleich bleibend, d. h. der Abstand der Glasfaser zum Fluidikkanal ist auf einige μm reproduzierbar einstellbar, ohne auf aktive Stallelemente zurückgreifen zu müssen. Die zweite Ankopplung kann ebenfalls passiv angekoppelt werden, da die Substratstärke auch nur um wenige μm variiert. In Abbildung 7.11 ist eine Freistellung für die vertikale Ankopplung gezeigt.

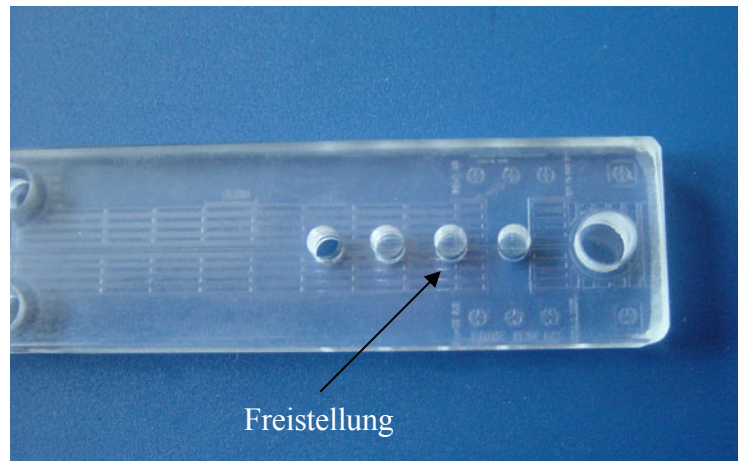


Abb. 7.11: Detektionsfenster für die vertikale Ankopplung

Bei heißgeprägten Substraten variiert die Substratdicke um einige zehn μm , was Einfluss auf den Abstand Glasfaser/Substrat hat. Eine erhebliche Verbesserung dieses Abstandes kann durch Verwendung spritzgegossener Substrate erzielt werden, hier liegt die Dickenvariation und somit auch die Justagevariation bei unter zehn μm .

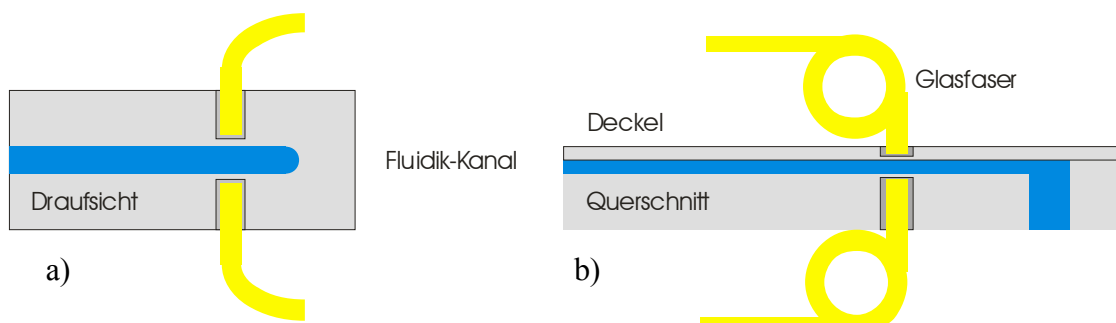


Abb. 7.12: Schematischer Aufbau horizontale (a)/vertikale Detektion (b)

Neben der vertikalen Anordnung ist die horizontale Anordnung ebenfalls Erfolg versprechender als die integrierte Lösung. In diesem Fall wird die bei der integrierten Lösung mit Wellenleitern überbrückte Wegstrecke mittels einer Fräsung bzw. durch geeignete Formwerkzeuge freigestellt (s. Abb. 7.12). Somit ist ein nahezu gleicher Aufbau wie bei der integrierten Lösung möglich und damit ein direkter Vergleich beider Ansätze. Ein Vorteil gegenüber der vertikalen Lösung liegt darin, dass beide Glasfasern in einer Ebenen liegen und somit die Ankopplung einfacher ausfallen kann. Nachteilig ist jedoch, dass sowohl Substrat als auch Deckel freigestellt werden müssen, was im Labormaßstab durch eine Nachbearbeitung der bereits gebondeten Chips erfolgen kann, für eine Massenfabrikation wie sie angestrebt wird jedoch nicht praktikabel ist. Für diesen Fall müssen Substrat und Deckel jeweils strukturiert und im Gegensatz zur vertikalen Lösung justiert miteinander

verklebt werden. Zudem ist das Handling des Deckels extrem schwierig, da an der Detektionsstelle nur noch eine Stegbreite von hundert μm bei der CE und von 300 μm bei der ITP verbleibt, somit ist die Gefahr eines Deckelbruches sehr hoch.

7.4 Analytik mit optischen Detektionsverfahren

Für die optische Detektion wurde ein Messplatz aufgebaut, der für die Absorption- und Fluoreszenzdetektion vorgesehen ist (s. Abb. 7.13).

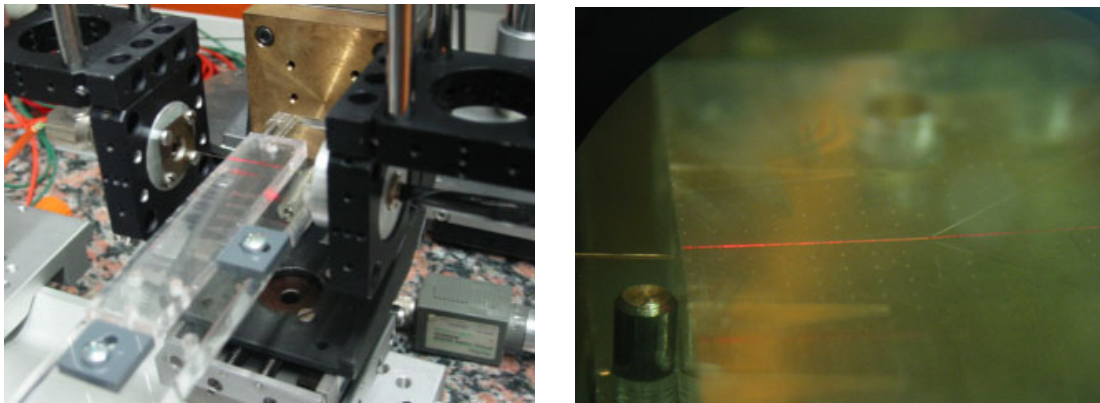


Abb. 7.13: Optischer Messplatz mit eingesetztem Chip mit integrierten Wellenleitern, Detailaufnahme Einkopplung

Neben der Hochspannungsquelle und dem damit verbundenen Umschalter werden eine Lichtquelle und ein Detektor benötigt. Im Gegensatz zu anderen Forschungsgruppen, sind die Lichtwellenleiter für den VIS-Bereich auf dem Chip integriert.

Als Lichtquelle dient ein Fotospektrometer der Firma Varian, welches Wellenlängen von 175 – 3300 nm zu Verfügung stellt. Dieses Spektrometer dient gleichzeitig auch als Detektor und hat eine Empfindlichkeit von insgesamt über 60-70 dB.

Als Glasfasern kamen Fasern der Firma Optronis mit einer numerischen Apertur von 0,22 und einer Dämpfung von 0,1 dB/m bei 180 nm zum Einsatz.

Als optische Detektionsmethoden können die Absorptions- und die Fluoreszenzmessung verwendet werden. Je nach verwendetem Wellenlängenbereich kann ein integrierter oder ein externer Wellenleiter zum Einsatz kommen. Bei Wellenlängen unter 350 nm nimmt die Dämpfung innerhalb der integrierten Wellenleiter stark zu, so dass für diese Wellenlängen-

bereiche externe Wellenleiter erforderlich sind. Detektiert werden sollen Proteine, die einen Absorptionspeak bei 280 nm aufweisen und DNA-Fragmente. In Abbildung 7.14 a) ist eine Proteindetektion mit Hilfe der Absorption und in Abbildung 7.14 b) eine DNA-Detektion mit Fluoreszenzdetektion gezeigt.

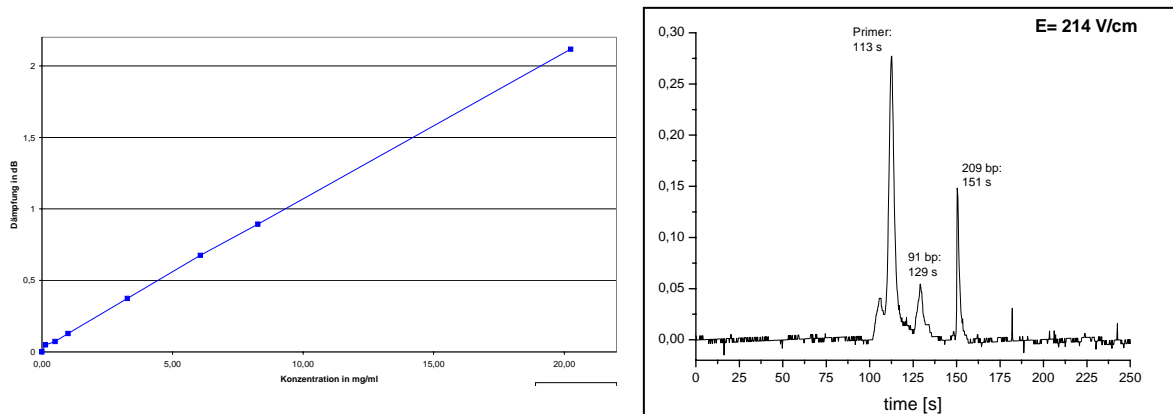


Abb. 7.14: a) Absorptionsmessung von Albumin,
b) Fluoreszenzmessung: Detektion von DNA-Fragmenten

Fluoreszenzdetektion

Die Voraussetzung dafür, dass das Prinzip der Fluoreszenzdetektion angewendet werden kann, ist, dass der verwendete Buffer oder die zu ermittelnden Bestandteile fluoreszierende Eigenschaften haben. Wenn dies nicht der Fall ist, müssen die zu detektierenden Substanzen bei diesem Messverfahren erst zeit- und kostenintensiv mit einem fluoreszierenden Marker verbunden werden. Wie bei der Absorption wird die Kapillare mit einer Lichtquelle bestrahlt, meist ist dies eine Laserlichtquelle oder eine Laserdiode. Bei diesem Verfahren wird nicht das von der Quelle einfallende Licht detektiert, sondern das Licht, das von den fluoreszierenden Komponenten auf einer anderen Wellenlänge abgestrahlt wird. Bei diesem Verfahren müssen sich zudem Quelle und Detektor nicht direkt gegenüber liegen, da die Abstrahlung radial erfolgt, kann der Detektor aus dem Lichtkegel der Quelle entfernt werden. Weiterhin ist es auch möglich, mehrere Sensoren entlang des Kanals anzubringen und somit einen zeitlichen Fluoreszenzverlauf aufzunehmen. So können Rückschlüsse auf die zu analysierenden Bestandteile nicht nur aus der Stärke der Fluoreszenz zu einem bestimmten Zeitpunkt nach der Anregung, sondern auch über deren zeitlichen Verlauf gezogen werden [Kib-96].

Absorption

Bis zum heutigen Zeitpunkt stellt die on-column-UV-Absorptionsdetektion die gebräuchlichste Nachweismethode dar, die zur Analyse über CE getrennter Proben verwendet wird. On-column bedeutet, dass die Messung in der Trennstrecke erfolgt, im Gegensatz dazu wird bei der end-column Messung erst hinter der Trennstrecke gemessen. Bei den hier verwendeten Chips wird immer eine on-column Messung durchgeführt. Der große Einsatzbereich der Absorptionsmessung lässt sich auf die Tatsache zurückführen, dass die Mehrzahl der zu analysierenden Substanzen eine Absorption im UV-Bereich aufweist. Darüber hinaus handelt es sich bei der UV-Absorption um einen bequemen und wenig aufwendigen Detektionsmodus, da er selten eine der Trennung vorgeschaltete Modifikation der Probe erfordert, d.h. es kann auf ein kosten- und zeitintensives Labeln der Probe verzichtet werden. Beispielsweise absorbieren die meisten Proteine bei 230 nm und lassen so direkt detektieren.

Das im Rahmen dieser Arbeit verwendete CE-System besaß einen UV-Detektor mit variabler Wellenlänge, der die Kapillare quer durchstrahlte. Aufgrund dieser Anordnung stand mit dem mittleren Kapillardurchmesser nur ein sehr begrenzter Absorptionsweg zur Verfügung. Durch den quadratischen bzw. rechteckigen Querschnitt ergibt sich der Durchmesser analog zum verwendeten Querschnitt.

7.5 Lösungsabschätzung

Auf den ersten Blick erscheint eine integrierte Lösung als der eleganteste Weg für eine optische Detektion. Da zum einen aber auch diese integrierten Wellenleiter an die Strahlungsquelle und die Auswertanlage angeschlossen werden müssen und zum anderen momentan keine Core-Materialien erhältlich sind, die für die verwendeten Wellenlängenbereiche brauchbar sind, bringt die integrierte Lösung bei Absorptionsmessungen nicht nur keine Vorteile, sondern durch die hohe Dämpfung der Wellenleiter sogar Nachteile. Durch Verwendung eines geeigneten Designs bzw. Detektionsanordnung kann die passive Justage ähnlich gut ausfallen wie bei den integrierten Wellenleitern. Die vertikale Anordnung bringt neben diesem Vorteil noch weitere entscheidende Vorteile mit sich, die Glasfasern werden nicht durch die Schwerkraft nach unten gezogen und führen so zu Justageproblemen, die Chipherstellung beinhaltet keine neuen Probleme und auf ein justiertes Verkleben kann weitestgehend verzichtet werden. Eine grobe Justage, die jedoch passiv ausfallen kann ist

weiterhin erforderlich, damit der Detektionsort nicht von Chip zu Chip zu stark variiert. Eine zusätzliche Verbesserung der Detektionsfähigkeit ist durch Verwendung von geeigneten Indexölen zu erwarten. Diese können ohne zusätzliche technische Veränderungen bei der vertikalen Lösung eingesetzt werden, da die Freistellungen als Reservoir dienen. Für die untere Ankopplung muss eine Aufnahme entwickelt werden, die einerseits die Glasfaser aufnimmt und zusätzlich als Reservoir für ein Indexöl dient.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass solange keine geeigneten Core-Materialien erhältlich sind, die integrierte Wellenleiterlösung für die Absorptionsmessung nicht optimal ist. Da zudem die Lösung mit Freistellung statt Wellenleiter technisch erheblich einfacher zu realisieren ist, ist die integrierte Lösung für größere Stückzahlen keine geeignete Methode, optisch am Chip zu detektieren. Eine Abschätzung der beiden hier vorgestellten Ansätze der vertikalen oder horizontalen Detektion fällt zugunsten des vertikalen Ansatzes aus, da dieser technisch einfacher, sowohl in der Nachbearbeitung als auch in der Neuplanung zu realisieren ist, die Ausbeute höher abgeschätzt werden kann und durch Verwendung von Indexölen eine höhere Detektionsfähigkeit zu erwarten ist.

Für die optische Detektion ist es möglich Proteine bis zu einer Konzentration von 10^{-6} mol nachzuweisen, was der Nachweisgrenze für einen kritischen Albumingehalt im Blut entspricht. Hiermit sind Rückschlüsse auf Krankheiten möglich.

8. Zusammenfassung und Ausblick

Abschließend wird die vorliegende Arbeit nochmals kurz zusammengefasst und ein Ausblick auf künftige Forschungsarbeiten gegeben.

8.1 Zusammenfassung

Während dieser Arbeit konnte ein komplettes mikrofluidisches Analysesystem realisiert werden. Dies umfasst die Punkte Vorformherstellung, Substratherstellung, Elektroden-deckelherstellung, Bonding und den Aufbau eines Messplatzes.

Im Gegensatz zu anderen Forschungsgruppen kam Kunststoff als Werkstoff zum Einsatz, um den Übergang von Labormaßstäben zu einer Massenfertigung zu realisieren. Mit selbst hergestellten und mit fremd gefertigten Prägewerkzeugen entstanden während dieser Arbeit ca. 10.000 Kunststoffsubstrate, von denen ein Großteil durch eine Fremdfirma für die Firma Merck KGaA gefertigt wurde. Anhand dieser Stückzahlen lässt sich leicht ableiten, dass der Übergang zu einer kommerziellen Fertigung erfolgreich stattgefunden hat.

Analog zu den Substraten sind entsprechende Elektrodendeckel gefertigt worden. Für verschiedene Materialien konnten haftfeste Metallisierungen entwickelt werden. Das für die chemische Analytik wichtige Metall Platin konnte bis zu einer Strukturgröße von einigen μm strukturiert auf PMMA, PC, PS und COC übertragen werden. Das teilweise als Haftschrift verwendete Chromoxid beeinträchtigt die Analytik nicht, da es in den verwendeten Messbereichen chemisch inaktiv ist. Das zur Strukturierung verwendete Lift-Off Verfahren ist bei einer Variation von 5 % der Strukturgeometrien als hervorragend geeignet zu bezeichnen. Der speziell für Kunststoff entwickelte Fotolack lässt nur geringe (30 nm) Oberflächenmodifikationen erkennen und vermindert damit auch nicht die Detektionsfähigkeit des Systems.

Zum Ende dieser Arbeit ist ein CE-Chip mit Wellenleitern für die Fluoreszenz bzw. Absorptionmessung entstanden, der das hier vorgestellte Analysensystem noch universeller macht. Damit sind Chips für die Detektionsverfahren Amperometrie, direkte und kontaktlose Leitfähigkeit, Fluoreszenz und Absorption entwickelt und hergestellt worden.

Um Substrat und Deckel miteinander zu verbinden, ist ein Bondingverfahren entwickelt worden, das es erlaubt, Substrat und Deckel justiert und flüssigkeitsdicht miteinander zu verkleben. Mit Hilfe eines modifizierten Belichters aus der Fotolithografie konnte eine Justagegenauigkeit von besser 10 µm erreicht werden. Als Kleber kam ein UV-Kleber zum Einsatz. In speziell entwickelte Pressen konnte sich ein homogener Klebefilm bilden, der nicht in die Fluidikkanäle fließt und diese zerstört. Damit wurde sichergestellt, dass alle vier Kanalwände aus dem gleichen Material bestehen und sich somit ein gleichmäßiger EOF ausbilden kann.

Um die Funktionalität der Chips testen zu können, entstand ein mikrofluidischer Messaufbau. Zunächst wurde dieser bei einem Kooperationspartner, dem Institut für Spektrochemie und angewandte Spektroskopie (ISAS) aufgebaut und erfolgreich verwendet [[GRA-01](#), [VOG-01](#)], später wurde am AG MST ebenfalls ein Messplatz installiert um Detektionsverfahren zu testen und den Chipaufbau weiter zu optimieren.

Mit der Leitfähigkeitsdetektion konnte ein Detektionsvermögen von 12 fmol erreicht werden, was im internationalen Vergleich mit den Standardverfahren und auch mit den mikrofluidischen Glaschips vergleichbar ist. Für die optische Detektion konnte ein Detektionslimit von 10^{-6} Mol für Proteine (Albumin) erreicht werden. Mit einer Haltbarkeit von bis zu 200 Messungen pro Chip ist die Vorgabe von 20 Messungen pro Chip von unserem industriellen Kooperationspartner weit übertroffen worden.

Somit stellen die hier vorgestellten Kunststoffchips eine Alternative zur klassischen Analytik und auch zu anderen mikrostrukturierten Analyseverfahren dar, die zudem großtechnisch und damit preiswert herstellbar sind.

Probleme bestehen weiterhin in der galvanischen Abformung von Dicklackstrukturen, da durch die nicht restlos austreibbaren Lösungsmittel keine optimale Haftung zwischen Dicklack und der Galvanikstartschicht erreicht werden konnte.

Die niedrige Glasübergangstemperatur von PMMA führt zu einem unkontrollierbaren Schrumpfen bzw. Ausdehnen der Substrate während des Sputterprozesses. Weiterhin stellt die ebenfalls durch thermische Belastung hervorgerufene Verformung der Deckel für die anschließende Verklebung ein Problem da, da Deckel und Substrat nicht flächig aufeinander aufliegen. Durch ein Tempern der Deckel kann diese Durchbiegung zwar behoben werden,

aber die Temperung führt gleichzeitig auch zu einem Schrumpfen des Deckels. Als Lösung ist hier ein Übergang zu einem temperaturstabileren Kunststoff möglich. Durch Verwendung von optimierten Parametern während des Sputterprozesses konnten die thermischen Probleme jedoch auf ein Minimum reduziert werden. Ein Übergang zu temperaturstabileren Kunststoffen wie PC oder einigen COC's wäre vorteilhaft, auch weil diese Kunststoffe lösungsmittelbeständiger und damit universeller einsetzbar sind.

8.2 Ausblick

Die Forschungen zu dieser Arbeit haben gezeigt, dass Kunststoff hervorragend für den Einsatz in der mikrofluidischen Analytik geeignet ist. Die Herstellung der Substrate konnte in großtechnischen Maßstab überführt werden, hier liegen momentan noch Optimierungsmöglichkeiten im Bereich der CE.

Anders sieht es im Bereich der Elektrodendeckelherstellung aus. Der Einsatz der Lift-Off Technik ist zwar über den Labormaßstab hinaus erprobt, ein Umsetzen auf eine maschinell gestützte Produktion ist jedoch nur schwer vorstellbar. Die Lift-Off Technik ist sehr zeitaufwendig und auch durch die vielen Prozessschritte prinzipiell fehleranfällig. Eine alternative Strukturierungsmethode wie beispielsweise das Laserablatieren ist für eine großtechnische Umsetzung zwingend erforderlich.

Das während dieser Arbeit entwickelte Bondingverfahren hat sich als gut geeignet für das flüssigkeitsdichte und gleichzeitig justierte Verkleben herausgestellt. Die hierbei eingesetzte Technik ist bereits während dieser Arbeit in automatisierte Fertigungsprozesse überführt worden.

Die optische Detektion wurde nur in einer Machbarkeitsstudie durchgeführt, hier besteht noch Forschungsbedarf. Die Leitfähigkeitsdetektion konnte erfolgreich realisiert werden, durch Einsatz von Simulationssoftware könnte die Detektionsfähigkeit noch optimiert werden, dies trifft auch auf den Bereich der elektrochemischen Detektion zu. Für diese Detektionsart muss jedoch zunächst ein geeignetes Design entwickelt werden.

Literaturverzeichnis

- [ACL-02] www.aclara.com, Webseite Oktober 2002
- [AMS-02] www.calipertech.com/products/products_ams90se_DNA.html, Webseite Oktober 2002
- [AND-97] Andreev, V. P., Dubrovsky, S. G., Stepanov, Y. V.: "Mathematical Modeling of Capillary Elektrophoresis in rectangular Channels", Journal of Microcolumn Separations, 1997, Vol. 9, S. 443-450
- [AR1-02] AllResist Photolackserie AR P 321X, Datenblatt
- [AR2-02] AllResist Photolackserie AR P 322X, Datenblatt
- [AR3-02] AllResist Entwickler AR 300-26, Datenblatt
- [AR4-02] AllResist Photolack AR-X P 5300/4, Datenblatt
- [BAC-95] Bächmann, K.,: "Grenzen und Möglichkeiten der Kapillarelektrophorese"; CLB Chemie in Labor und Biotechnik, 1995, Vol. 46, S. 77-329
- [BAT-96] Batas, Daniel: "Photolithographische Strukturierung und Kontaktierung von Heizelektroden für thermo-optische Schalter in Polymeren", Studienarbeit am Arbeitsgebiet Mikrostrukturtechnik der Universität Dortmund, 1996
- [BEC-02] Becker, H. Locascio, L.: "Polymeric microfluidic devices", Talanta 56, 267 - 287, 2002
- [BEC-98] Becker, H., Manz, A., Sensors Update, vol. 3, VCH, Weinheim, 1998, 208-238
- [BEL-96] Bellard, L., et al.: "Interaction between chromium and oxidized polyphenylquinoxaline surfaces", Journal of Applied Physics, 1996, 79, 4456-8
- [BER-93] Bergmann, Schaefer: „Optik“, Lehrbuch der Experimentalphysik, De Gruyter, 1993
- [BRU-93] Brueggemann, Thomas: "Kapillarelektrophorese", Universität Hannover Juli 93
- [CAL-01] Caliper Werbevortrag: Welcome to the laboratory of the future, Internet 2001
- [CAL-02] www.caliper.com, Webseite Oktober 2002
- [CAL-98] Calsen, B.: "Entwicklung und Aufbau eines Hochfrequenzmessplatzes für die Mikroanalytik", Studienarbeit, AG MST, Universität Dortmund, 1998
- [CHI-97] Chiem, N., et al.: "Microchip-Based Capillary Electrophoresis for Immunoassays: Analysis of Monoclonal Antibodies and Theophylline", Analytical Chemistry, 1997, 69, 373-378

- [COL-01] Collins, G., et al.: „Radionuclide and metal ion detection on a capillary electrophoresis microchip using LED absorbance detection“, *Sensors and Actuators B*, 2001, 76, 244-249
- [COL-97] Colyer, C., et al.: „Clinical potential of microchip capillary electrophoresis systems“, *Electrophoresis*, 1997, 18, 1733-1741
- [COO-01] Cooper, J., et al.: “Fabrication of a Configurable, Single-Use Microfluidic Device”, *Anal. Chem.* 2001, 73, 5645-5650
- [COO-02] Cooper, J., et al.: “Prototyping of Microfluidic Devices in Poly(dimethylsiloxane) Using Solid-Object Printing”, *Anal. Chem.* 2002, 74, 1537-1545
- [DIN-81] “Klebstoffe, Klebstoffverarbeitung, Begriffe”, Beuth-Verlag, 1981
- [DIN-98] Vo-Dinh, T., et al.: “Development of an DNA biochip: principle and applications” *Sensors and Actuators B*, 1998, 51, 52-59
- [DON-99] Dong, Y.: “Capillary electrophoresis in food analysis“, *Trends in Food Science & Technology*, 10, 87-93, 1999
- [DUF-98] Duffy, D. et al.: Rapid Prototyping of Microfluidic Systems in Polydimethylsiloxane, *Analytical Chemistry*, 70, 4974-4984, 1998
- [EBE-79] Ebert, H.: ”Elektrochemie”, Vogel Verlag, 1979
- [EFF-97] Effenhauser, C., et al.: „Integrated Capillary Electrophoresis in Flexible Silicone Microdevices: Analysis of DNA Restriction Fragments and Detection of Single DNA Molecules on Microchips“, *Analytical Chemistry*, 1997, 69, 3451-3457
- [EHN-02] Ehrnström, R.:” Miniaturization and integration: challenges and breakthroughs in microfluidics”, *Lab-on-a-Chip*, 2002, 2, 26N-30N
- [EHR-82] Ehrfeld, W., et al.: “ Production of Separation Nozzle Systems for Uranium Enrichment by Combination of X-Ray Lithography and Galvanoplastics”, *Naturwissenschaften*, 1982, 69, 520-523
- [EIS-97] Eisenbeiss, F., Vorschneider, C.: „Einfache Ionenanalytik mit Hilfe der Isotachophorese“, *GIT Fachzeitschrift Labor*, 1997, Vol. 41, S. 452-459
- [ENG-98] Engelhardt, H., et al.:” Polymerkapillaren – eine Alternative für die Kapillarelektrophorese”, *Chemie in Labor und Biotechnik*, 1998, 49, 347-350
- [ERM-00] Ermakov, S., et al.: “Computer Simulations of Electrokinetic Injection Techniques in Microfluidic Devices”, *Analytical Chemistry*, 2000, 72, 3512-3517

- [ERM-98] Ermakov, V. Ermakov.: „Computer Simulations for Microchip Electrophoresis“
- [FAN-02] Fang, Q., Xu, G., Fang, Z.: A High Throughput Continuous Sample Introduction Interface for Microfluidic Chip-based Capillary Electrophoresis Systems, *Analytical Chemistry*, 74, 1223-1231, 2002
- [FAU-79] Fauner, G.: „Angewandte Klebetechnik“, Hanser Verlag, 1979
- [FEN-01] Yi-Feng Tu, et al.: „The fabrication and optimization of the disposable amperometric biosenso“, *Sensors and Actuators B*, 2001, 101-105
- [FER-88] Ferenc, Pal.: „Oscillometric Detector for Ion Chromatography. A Note on Detection Limit and Detector Sensitivity“, *Anal. Chem.* 1988,60,2254-2258
- [FLU-02] www.fluidigm.com, Webseite Oktober 2002
- [FRI-97] Friedrich, Jörg: „Plasmabehandlung von Polymeren“, *Kleben & Dichten*, 1997
- [FU-00] Fu, C., et al.: „Combination of flow injection with capillary electrophoresis Part 7. Microchip capillary electrophoresis system with flow injection sample introduction and amperometric detection“, *Analytica Chimica Acta*, 2000, 422, 71-79
- [FUO-59] Fuoss, R., Accascina, F.: „Electrolytic Conductance“, Interscience Publishers, 1959, S. 191-204
- [GID-99] Peters, L.; Wagenmann, U.: „Rasterfahndung und Todesurteile“, *GID* 133, Juni 1999
- [GOT-00] Gottschlich, N., et al.: „Integrated microchip-device for the digestion, separation and postcolumn labeling of proteins and peptides“, *Journal of Chromatography B*, 2000, 745, 243-249
- [GRA-01] Graß, B. et al.: „A new PMMA-microchip device for isotachopheresis with integrated conductivity detector“, *Sensors and Actuators B*, 2001, 249-258
- [GRE-01] Greiner BioTech Internetinformation
- [GUI-01] Guijt, R. et al.: Capillary electrophoresis with on-chip four-electrode capacitively coupled conductivity detection for application in bioanalysis, *Electrophoresis*, 22, 2537-2541, 2001
- [HAA-99] Haab, B., et al.: „Single-Molecule Detection of DNA Separations in Microfabricated Capillary Electrophoresis Chips Employing Focused Molecular Streams“, *Analytical Chemistry*, 1999, 71, 5137-5145
- [HAB-90] Habenicht, Gerd: „Kleben“, Springer Verlag, 1990

- [HAB-98] Haber, Carsten.: „Quantitative Analysis of Anions at ppb/ppt Levels with Capillary Electrophoresis and Conductivity Detection: Enhancement of System Linearity and Precision Using an Internal Standard“, Anal. Chem. 1998, 70, 2261-2267
- [HAN-96] Hann, J. T.: „Capillary electrophoresis with conductivity detection“, Laboratory Equipment Digest, 1996, Vol.34, Nr. 3
- [HAR-88] Harsch, S., et al.: “ Untersuchungen zur Herstellung von Mikrostrukturen grosser Strukturhöhe durch Galvanoformung im Nickel-sulfamatelektrolyten”, KfK, Report No. 4455, Karlsruhe, Deutschland, 1988
- [HAR-93] Harrisson, D., et al.: “Towards miniturized electrophoresis and chemical-analysis systems on silicon – an alternative to chemical sensors”, Sensors & Actuators B, 1993, 10, 107-116
- [HAU-99] Hauser, P.; Kappes, T.: „Electrochemical detection methods in capillary electrophoresis and application to inorganic species“, Journal of Chromatography A, 834, 89-101, 1999
- [HEC-99] Heckmann, A.: ”Kontaktlose Detektionsverfahren für die Kapillarelektrophorese: Entwurf und Realisierung“, Diplomarbeit am AG MST, 1999
- [HEL-68] Hellwig, G: “Über den Zusammenhang von grenzflächenenergetischen Größen von Klebstoffen und ihrer Verklebfähigkeit gegenüber Kunststoffen”, Adhäsion, 1968
- [HER-94] Hergenröder, R., Et al.: “ Effects of injection schemes and column geometry on the performance of microchip electrophoresis devices”, Analytical Chemistry, 1994
- [HMJ-02] www.hmdj.justiz.hessen.de/pressemeldungen/hmdj/35.pdf
- [IST-02] I-Stat Informationsseite Analysegerät: www.istat.com, Oktober 2002
- [JAC-94] Jacobsen, S.C., Hergenröder, R., Moore, R., Ramsey, J.M.: “Precolumn reactions with electrophoretic analysis integrated on a microchip”, Anal. Chem. 66 (1994) 4127-4132
- [JON-96] Jones, William.: „Capillary ion electrophoresis with conductivity detection“, American Laboratory, 1996, Vol.28, Nr.5, S.25-33
- [KAL-01] Kalveram, Stefan.: „Abgeformte polymere Mikrostrukturen für die optische Informationstechnik“, Dissertation 2001, <http://eldorado.uni-dortmund.de:8080/FB8/ag11/forschung/2001/Kalveram>
- [KAR-91] Karthe, Wolfgang: „Integrierte Optik“, Akademische Verlagsgesellschaft Geest & Portig, 1991

- [KAY-97] Kaye, Brian H.: "Mit der Wissenschaft auf Verbrecherjagd", VCH-Verlag, Weinheim, 1997
- [KEL-95] O'Kell, S. et al.: "Effects of Low-power Plasma treatment on Polyethylene Surfaces", Surface and Interface Analysis, 1995, 23, 319-327
- [KEN-00] Kenis, P., et al.: "Fabrication inside Microchannels Using Fluid Flow", Accounts of Chemical Research, 2000, 33, 841-847
- [KIB-96] Kibler, M, Lochmann, H.: „Anwendung und Grenzen der laserinduzierten Fluoreszenz in der Kapillarelektrophorese“, GIT Fachzeitschrift Labor, 1996, Vol. 10, S. 1004-1007
- [KLA-98] Klampfl, C.W., Katzmayr, M.U.: "Determination of low molecular mass anionic compounds in beverage samples using capillary zone electrophoresis with simultaneous indirect ultraviolet and conductivity detection", Journal of Chromatography A, 1998, Vol. 822, S. 117-123
- [KLE-76] "Grundlagen des Klebens"
- [KRÜ-99] Krüger, P., et al.: "Surface cleaning by plasma-enhanced desorption of contaminants (PEDC)", Surface and Coatings Technology, 1999, 112, 240-244
- [KUT-00] Kutter, J.: „Current developments in electrophoretic and chromatographic separation methods on microfabricated devices“, trends in analytical chemistry, vol. 19, no6, 352-363, 2000
- [KUT-02] Kutter, J.: "Basic Fluidic Handling", Short Course Microfluidics, smallTalk20002, San Diego USA, 2002, Konferenzband
- [LAG-00] Lagally, E., et al.: "Monolithic integrated microfluidic DNA amplification and capillary electrophoresis analysis system", Sensors and Actuators B, 2000, 63, 138-146
- [LEE-01] Lee, G., et al.: "Microfabricated plastic chips by hot embossing methods and their applications for DNA separation and detection", Sensors and Actuators B, 2001, 75, 142-148
- [LEH-00] S. Lehmacher, A. Neyer: „Integration of polymer optical waveguides into printed circuit boards“, Electronics Letters, 36, 1052-1053 2000.
- [LIN-01] Lin, Y. et al. ; Microfluidic Devices on Polymer Substrates for Bioanalytical Applications, Seminarvortrag, 2001
- [LIU-01] Liu, Y., et al.: „Microfabricated Polycarbonate CE Devices for DNA Analysis“, Analytical Chemistry, 2001, 73, 4196-4201
- [MAD-02] Madou, M.:” Fundamentals of Microfabrication – The Science of Miniaturization“, 2nd Edition, CRC Press, 2002

- [MAN-00] Manz, A.; Sander, G.: Chip-based microsystems for genomic and Proteomic analysis, trends in analytical chemistry, vol. 19, no. 6, 2000
- [MAN-88] Maner, A., et al.: "Mass Production of Microdevices with extreme Aspect Ratios by Electroforming", Plating and Surface Finishing, 1988, 60-65
- [MAN-90] Manz, A., et al.: "Miniaturized total chemical analysis systems: A novel concept for chemical sensing", Sensors and Actuators, B 1, 244-248, 1990
- [MED-01] F. Mederer, et al.: "Improved VCSEL structures for 10 gigabit-Ethernet and next generation optical-integrated PC-boards", Proceedings 51st Electronic Components and Technology Conference, Piscataway NJ, USA, 2001, pp.1-7.
- [MEI-02] Meißner, T.: "ITP-Kompodium", J&M Analytische Mess- und Regeltechnik, Internetdownload, August 2002
- [MEL-02] Mello, A.: "Platica Fantastic", Lab-on-a-Chip, 2002, 2, 31N-36N
- [MEN-97] Menz, Wolfgang: Mikrosystemtechnik für Ingenieure, 2. Erw. Auflage, Weinheim: VCH, 1997
- [MIC-01] Micralyne Werbevortrag: Off-The-Shelf Chips For CE, Internet 2001
- [MIC-02] www.micronics.net, Webseite Oktober 2002
- [MIC-03] Informationsbroschüre Microparts GmbH, Download von www.microparts.de, Webseite Oktober 2002
- [MIZ-02] Mizukami, Y., et al.: "A novel microchip for capillary electrophoresis with arcylic microchannel fabrication on photosensor array", Sensors and Actuators B, 2000, 81, 202-209
- [MST2-97] MSTNews, VDE-Verlag, 02 1997
- [MST3-01] MSTNews, VDE-Verlag, 03 2001
- [NAN-02] www.nanosphere-inc.com/news_publications/PR100302.htm, Webseite Oktober 2002
- [NOA-02] <http://www.norlandprod.com/adhesives/noa72.html>
- [NÜH-89] Nährmann, D.: "Das Große Werkbuch Elektronik", Franzis Verlag, 1989, 5. Auflage, S. 37
- [OLE-00] Oleschuk, R. ; Harrison, J. : Analytical microdevices for mass spectrometry, trends in analytical chemistry, vol. 19, no. 6, 2000
- [ORC-02] www.orchid.com, Webseite Oktober 2002

- [PAI-02] Pai, R., et al.: "Integrated Electrochemical Detection for Lab on a Chip Analytical Microsystems", University of Louisville, Internet
- [PAT-01] „Miniaturisiertes Analysensystem“, Internationale Patentanmeldung PCT/EP00/05206
- [PAT-02] „Vorrichtung zur Probenvorbereitung“, Internationale Patentanmeldung PCT/EP00/05518
- [PAT-03] Integrierte optische Wellenleiter für mikrofluidische Analysensysteme, Offenlegungsschrift, DE 100 29 946 A1, 2001
- [PHI-92] Philippow, E.: "Grundlagen der Elektrotechnik", Verlag Technik, 1992, 179
- [POC-97] Pochner, K., et al.: "Treatment of polymers for subsequent metallization using intense UV radiation or plasma at atmospheric pressure", Surface and Coatings Technology, 1997, 97, 372-377
- [POL-02] www.polizei.thueringen.de/lka/wissenschaft/fingerprint_d.html, vom 21.06.02
- [PUN-83] Pungor, Ernö.: "Oscillometric Flow Cell for Measurement of Conductivity and Permittivity", Anal. Chem. 1983, 55, 1728-1731
- [RAM-00] Ramsey, M.: "Lab-on-a-Chip: Applying the Microelectronics Paradigm to Chemistry", Vortrag, 2000
- [RAS-98] Rastomjee, C., et al.: "Aluminium metallization of argon and oxygen plasma-modified polycarbonate thin film surfaces", Applied Surface Science, 1998, 136, 280-297
- [REE-00] Reeb, Winfried.: Internetseite: <http://lasercomponents.de/faq/liappl.htm>
- [REG-01] Regnier, et al.: "A Picoliter-Volume Mixer for Microfluidic Analytical Systems", Analytical Chemistry, 2001, 73, 1942-1947
- [REG-99] Regnier, F. et al.: Chromatography and electrophoresis on chips : critical elements of future integrated, microfluidic analytical system for life science, TIBTECH, 03, 1999
- [RIC-78] VDI – Richtlinie 3821: Kunststoffkleben; VDI-Verlag, 1978
- [ROC-02] Roche Informationsseite Blutzuckermessgerät Accu-Check: www.accu-check.de , Oktober 2002
- [ROM-76] Romankiw, L., et al.: "X-Ray Lithography for Bubble Devices", Solid State Technology, 04 1976, 62-68
- [RÖT-02] Rötting, O.; Röpke, W.; Becker, H., Gärtner, C.: Polymer microfabrication technologies, Microsystem Technologies 8, 32-36, 2002

- [SCH-97] Schneider, Patrik.: "Kapillarelektrophoresegeräte", Labo 5, Mai 1997
- [SFU-02] Simon Fraser University, Kanada, Webseite: www.css.sfu.ca/sites/immr
Oktober 2002
- [SIE-00] Siepe, D., et al.: "Production Of Microanalytical Devices For Electrophoretic Separations With Integrated Electrodes In Polymeric Materials", HPCE 2000, Saarbrücken
- [SIE-98] Siepe, Dirk: "Optimierung der Herstellung heißgeprägter Mikrostrukturen", Studienarbeit am Arbeitsgebiet der Universität Dortmund, 1998
- [SIE-99] Siepe, D.: Herstellung eines Analysegerätes auf Basis der Techniken der Mikrostrukturtechnik, Diplomarbeit am Arbeitsgebiet Mikrostrukturtechnik, Universität Dortmund 1998
- [SIM-77] Simonyi, K.: "Theoretische Elektrotechnik", VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, 1977, 88
- [SPU-96] Betriebsanleitung Sputteranlage
- [STJ-98] Stjernstöm, M., et al.: "Method for fabrication of microfluidic systems in glass", Journal of Micromechanical Microengineering, 1998, 8, 33-38
- [SWA-00] Swanson, P., et al.: "A fully multiplexed CMOS biochip for DNA analysis", Sensors and Actuators B, 2000, 64, 22-30
- [SWE-92] Schwedt, Georg: Taschenatlas der Analytik", Thieme Verlag 1992
- [SWI-00] Swinney, K., et al.: "Detection in capillary electrophoresis", Electrophoresis 21, 2000, 1239-1250
- [TRA-98] Tarvaly, Y., et al.: "Theoretical Modeling of the Nucleation and Groth of Aluminium Film Thermally Evaporated onto Poly(Ethyleneterephthalate) Substrate", Journal of Adhesion, 1998, 66, 275-287
- [TSU-00] Tsukagoshi, K., et al.: "Application of Microchip Capillary electrophoresis with Chemiluminescence Detection to an Analysis for Transition-Metal Ions", Analytical Science, 2000, 16, 1111-1112
- [VOE-97] Voegel, P., et al.: „Electrochemical detection in capillary electrophoresis“, Electrophoresis, 1997, 18, 2267-2278
- [VOG-01] Vogt, O., et al.: „Characterization of sputtered thin film electrodes on PMMA microchips with electrochemical impedance spectroscopy and cyclic voltammetry“,
- [WAN-00] Wang, J., et al.: „Capillary electrophoresis microchips with thick-film amperometric detectors: separation and detection of phenolic compounds“, Analytical Chimica Acta, 2000, 416, 9-14

- [WÄT-00] Wätzig, Hermann.: Internetseite: www.pharmazie.uni-wuerzburg.de/AKW/CE_grundlagen.html
- [WEB-00] Weber, G. et al.: „Capillary electrophoresis with direct and contactless conductivity detection on a polymer microchip“, Proceedings of μ TAS 2000, Twente
- [WIE-96] Wiesmann, R., et al.: „waveguides for optical backplanes“, Electronics Letters, 32, 2329-2330. 1996.
- [WIE-98] Wiesmann, R.: „Optische Parallelverbindungen mit Polymerwellenleitern“, Fortschr.-Ber. VDI Reihe 10 Nr. 559, 1998
- [WIT-01] B. Wittmann, et al.: “Optical Interconnects on and in Printed Circuit Boards”, International Journal of Electronics and Communications, 55, 319-322 2001.
- [WOO-97] Woolley, A., et al.: “High-Speed DNA Genotyping Using Microfabricated Capillary Array Electrophoresis Chips”, Analytical Chemistry, 1997, 69, 2181-2186
- [WOO-98] Woolley, Adam T.: “Capillary Electrophoresis Chips with Integrated Electrochemical Detection“, Anal. Chem. 1998, 70, 684-688a
- [WU-97] Wu, P., et al.: “Metal/polymer adhesion enhancement by reactive ion assisted interface bonding and mixing”, Applied Physical Letters, 1997, 71, 2710-2712
- [WU-99] Wu, E., et al.: “Surface Modification of Poly(tetrafluoroethylene) Films by Graft Copolymerisation for Adhesion Improvement with Evaporated Copper”, Macromolecule, 1999, 32, 186-193
- [ZEM-98] Zemmann, Andreas.: „Contactless Conductivity Detection for Capillary Electrophoresis“, Analytical Chemistry, 1998, 70, 563-567

Curriculum Vitae

Persönliche Daten

Name: Dirk Siepe
Geburtsdatum: 06.03.1970
Geburtsort: Eberbach
Familienstand: ledig

Schulbildung

1976 – 1979 Grundschule a. d. Kurfürstenstr. Mülheim a. d. Ruhr
1979 – 1980 Grundschule Salchendorf b. Siegen
1980 – 1982 Aufbaugymnasium der Stadt Siegen
1982 – 1983 Otto-Pankok Gymnasium Mülheim a. d. Ruhr
1983 – 1987 Hauptschule Speldorf, Mülheim a. d. Ruhr
1987 – 1990 Aufbaugymnasium der Stadt Dortmund,
Abschluss: Abitur.

Grundwehrdienst

07.1990 – 06.1991 Ableistung des Grundwehrdienstes als amphibischer Pionier.

Studium

10.1991 – 09.1998 Studium der Diplom-Elektrotechnik in Dortmund,
Abschluss: Diplom Ingenieur der Elektrotechnik.

Promotion

12.1998 – 11.2003 Promotion über ein mikrofluidisches Analysesystem zur
Untersuchung wässriger Lösungen.

Berufstätigkeit

12.1998 – 04.2003 Wissenschaftlicher Mitarbeiter der Universität Dortmund am
Arbeitsgebiet Mikrostrukturtechnik, Fakultät für Elektrotechnik und
Informationstechnik. Betraut mit der Bearbeitung interdisziplinärer
Aufgaben mit den Schwerpunkten Fotolithografie, Metallisierung,
Lehre und Beschaffungen.