

Daniel MACHOLD, BSc

Mikrofluidik Design auf Einmalteststreifen für ein Kalium Home Monitoring System

Masterarbeit



HEALTH- Institut für Biomedizin und Gesundheitswissenschaften
JOANNEUM RESEARCH Forschungsgesellschaft mbH
Neue Stiftingtalstraße 2, A-8010 Graz
Leitung: Univ.-Prof. Dr. Thomas Pieber



Institut für Medizintechnik
Technische Universität Graz
Stremayrgasse 16/3, A- 8010 Graz
Vorstand: Univ.-Prof. Dipl.-Ing. Dr.techn. Rudolf Stollberger

Betreuer (JOANNEUM RESEARCH):
Mag. pham. Dr. Bruna Pekec
DI Dr. Martin Hajsek

Begutachter (TUG):
Ao.Univ.-Prof. Dipl.-Ing. Dr.techn. Hermann Scharfetter

Graz, 14.03.2016

EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG

Ich erkläre an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst, andere als die angegebenen Quellen/Hilfsmittel nicht benutzt, und die den benutzten Quellen wörtlich und inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe. Das in TUGRAZonline hochgeladene Textdokument ist mit der vorliegenden Masterarbeit identisch.

Graz, am

(Unterschrift)

Danksagung

Mit dieser Diplomarbeit stehe ich nun am Ende meines Studiums. Es war nicht immer ein leichter Weg, jedoch war er sehr lehrreich und hat mir wesentliche Dinge für mein weiteres Leben gezeigt. Ich möchte mich bei meiner Familie und speziell bei meinen Eltern bedanken, die mir dieses Studium ermöglicht haben. Außerdem möchte ich diese Arbeit meiner Freundin Hanna widmen, sie ist mir stets zur Seite gestanden und hat mich tatkräftig unterstützt.

Auch meine Vorgesetzten und Kollegen haben maßgeblich daran mitgewirkt, dass diese Arbeit nun in dieser Form vorliegt. Vielen Dank, dass Sie mir die Möglichkeit gegeben haben, bei Ihnen zu forschen und zu arbeiten.

Ebenso danke ich Herrn Professor Scharfetter recht herzlich für seine Unterstützung.

Kurzfassung

Mikrofluidik Design auf Einmalteststreifen für ein Kalium Home Monitoring System

In dieser Arbeit wird ein Teststreifen-Design für einen Einmal-Kaliumsensor für die Heimanwendung entwickelt. Der Teststreifen soll einen Tropfen Blut aus der Fingerbeere aufnehmen, aus dem Blut die Erythrozyten hämolysefrei abtrennen und das gewonnene Plasma mit einem mikrofluidischen Kanal über die Messelektroden leiten. Durch die Verwendung von Blut bei der Messung besteht die Anforderung an Hämokompatibilität für alle Materialien, die mit der Probe in Kontakt kommen. Die Zeitspanne vom Applizieren des Bluttröpfens auf den Teststreifen, bis zur vollständigen Bedeckung der Messelektroden mit dem separierten Blutplasma, sollte 2 Minuten nicht übersteigen. Die für die mikrofluidischen Komponenten verwendeten Materialien wurden dabei auf hydrophile Benetzbarkeit (Kontaktwinkelmessung), Hämokompatibilität (Messung des Hämolysegrades), Plasmaseparationsvermögen und passive Kanalsaugwirkung (basierend auf Kapillarkräften) untersucht. Das finale Design ermöglicht eine Plasmaseparation aus einem 10 µl großem Bluttröpfen und die Bereitstellung des separierten Plasmas zur Messung des Kaliumgehaltes in unter 16 Sekunden, bei einer Plasmareinheit von 100%. Der Hämolysegrad des Plasmas bleibt dabei unverändert. Die Plasmarecoveryrate wurde mit 55% gemessen. Damit werden sowohl die Randbedingungen der hämolysefreien Separation von Plasma, als auch die Zeitvorgabe erfüllt.

Schlagwörter: Kaliumeinmalteststreifen, Hämolyse-detektion, Plasmaseparation, Mikrokanal, Dead-End-Betrieb

Abstract

Microfluidic design on single test strips for a potassium home monitoring system

In this work, a test strip design is developed for a single-use potassium-sensor for use in the patients' homes. The test strip shall draw a single drop of blood from the fingertip, separate the erythrocytes from the blood and guide the gained plasma via a microfluidic channel towards the measuring electrodes. These steps shall be performed without the occurrence of hemolysis of the sample. Since blood is used for the measurement, all materials that get in contact with the sample have to meet the requirement of haemocompatibility. The timeframe between applying the drop of blood onto the test strip and to entirely covering the measurement electrodes with the separated blood plasma should not exceed 2 minutes. The materials used for the microfluidic components were investigated on hydrophilic wettability (contact angle), haemocompatibility (measurement of the level of hemolysis), ability of plasma separation and passive channel suction effect (based on capillary forces). The final design allows plasma separation from a 10 μ l blood drop and delivering a sufficient volume of separated plasma for measuring the potassium concentration in less than 16 seconds with a plasma purity of 100%. The level of hemolysis remains unchanged as the used materials do not cause additional hemolysis. The plasma recovery rate was 55%. Thus, it meets the requirements of hemolysis-free separation of plasma, as well as the timing.

Keywords: potassium single test strip, detection of hemolysis, plasma separation, microchannel, dead-end-mode

Inhaltsverzeichnis

Danksagung	3
Kurzfassung	4
Abstract	5
Inhaltsverzeichnis	6
1 Einleitung und Aufgabenstellung	1
1.1 Techniken der Mikrokanalentwicklung	3
1.1.1 Mikrofluidik	3
1.1.2 Plasmaseparation	9
1.2 Physiologie des Blut	16
1.2.1 Aufgaben des Blutes	16
1.2.2 Feste Bestandteile des Blutes	16
1.2.3 Flüssige Bestandteile des Blutes	18
1.2.4 Hämolyse und Verfälschung des Kaliumwertes durch Hämolyse	18
1.2.5 Hämorrheologie	19
1.3 Biokompatibilität und Hämokompatibilität	24
1.4 Physiologie und Pathophysiologie des Kaliumhaushaltes	25
1.4.1 Physiologie des Kaliumhaushaltes	25
1.4.2 Pathophysiologie des Kaliumhaushaltes	26
1.4.3 Krankheitsbilder Herz- und Niereninsuffizienz	27
1.4.4 Bedeutung des Kaliumhaushaltes bei chronischer Herz- und Nieren-insuffizienz	28
1.5 Aufbau des Kaliumsensors mittels Siebdruck	31
1.6 Ziele der Arbeit	32
2 Materialien und Methoden	33
2.1 Herstellungstechniken von Mikrokanälen	34
2.1.1 COC-Kunststoff als Kanalwand	34
2.1.2 Kanalwände aus Isolierpaste	34

2.1.3	Doppelseitiges Klebeband als Kanalwände.....	35
2.1.4	Aufbau der Mikrokanäle aus Kombination der Isolierpaste SD 2462 NB und des Tesa Spacer Tapes.....	36
2.1.5	Aufbau des Mikrokanals auf abgeschliffener Isolierpaste SD 2462 NB und dem Basis Sensor.....	38
2.2	Prüfmethoden zur Kontaktwinkelmessung und Benetzbarkeit von Materialien ...	39
2.3	Prüfmethoden zur Hämokompatibilität der Materialien für den Kanalaufbau.....	41
2.3.1	Überprüfung der Kanalkombinationen auf Hämolyse	42
2.4	Mikrofilter in der Anwendung zur Plasmaseparation.....	44
2.4.1	Produktsuche für Plasmaseparationsmembranen (Mikrofilter).....	44
2.4.2	Mikrofilterauswahlkriterien nach Produktsuche.....	44
2.4.3	Mikrofilterauswahl durch Kontaktwinkelmessung.....	45
2.4.4	Überprüfung der Mikrofilter auf Plasmaseparationsvermögen	47
2.4.5	Überprüfung der Mikrofilter auf Hämolyse	48
2.5	Kanalwände aus Isolierpasten.....	49
2.5.1	Prüfmethoden zur Bestimmung der Aushärtezeiten der Isolierpasten	49
2.5.2	Prüfmethoden zur Schichtdickenmessung.....	50
2.5.3	Optimierung der Oberflächenbeschaffenheit der Isolierpaste SD 2462 NB.....	53
2.5.4	Prüfmethoden zur Schrumpfmessung der Isolierpasten	54
2.6	Prüfmethoden zu den Kanalsaugeigenschaften	55
2.6.1	Kanalsaugwirkung mit verschiedenen kombinierten Materialien als Mikrokanäle ...	55
2.7	Finales Design des Einmalteststreifen in Autodesk AutoCAD (2D) und Inventor (3D).....	57
2.7.1	Finaler Aufbau des Einmalteststreifens.....	58
2.7.2	Überprüfung der Saugwirkung des finalen Aufbaus des Einmalteststreifens	60
3	Ergebnisse.....	61
3.1	Ergebnisse der Prüfmethoden zur Kontaktwinkelmessung und Benetzbarkeit von Materialien	61
3.2	Ergebnisse Prüfmethoden zur Hämokompatibilität der Materialien für den Kanalaufbau.....	64

3.2.1	Ergebnisse der Überprüfungen der Kanalkombinationen auf Hämolyse.....	65
3.3	Ergebnisse der Mikrofilter in der Anwendung zur Plasmaseparation	66
3.3.1	Ergebnisse der Überprüfung der Mikrofilter auf Plasmaseparationsvermögen ...	66
3.3.2	Ergebnisse der Überprüfung der Mikrofilter auf Hämolyse	66
3.4	Ergebnisse der Kanalwände aus Isolierpaste.....	68
3.4.1	Ergebnisse zu Prüfmethode zur Bestimmung der Aushärtezeiten der Isolierpasten.....	68
3.4.2	Ergebnisse der Prüfmethode zur Schichtdickenmessung.....	72
3.4.3	Ergebnisse der Optimierung der Oberflächenbeschaffenheit der Isolierpaste SD 2462 NB	75
3.4.4	Ergebnisse der Prüfmethode zur Schrumpfmessung der Isolierpasten	75
3.5	Ergebnisse der Prüfmethode zu den Kanalsaugeigenschaften.....	77
3.5.1	Ergebnisse mit Vollblut auf unterschiedlichen Substraten	77
3.5.2	Ergebnisse der Mikrokanäle mit unterschiedlicher Deckelung und PET- Trägerfolie als Substrat	77
3.5.3	Ergebnisse der Mikrokanäle mit der Isolierpaste SD 2462 NB als Substrat	79
3.5.4	Ergebnisse der Mikrokanalkombination aus SD 2462 NB und Tesa Spacer Tape mit der PET-Trägerfolie als Substrat	79
3.5.5	Ergebnisse der Mikrokanäle mit optimierter Oberflächenbeschaffenheit der Isolierpaste SD 2462 NB	80
3.6	Ergebnisse der Saugwirkung des finalen Aufbaus des Einmalteststreifens	83
4	Diskussion.....	84
4.1	Kontaktwinkelmessung und Benetzbarkeit von Materialien	84
4.2	Hämokompatibilität der Materialien für den Kanalaufbau.....	85
4.3	Mikrofilter in der Anwendung als Plasmaseparationsmembranen.....	86
4.4	Kanalwände aus Isolierpaste.....	87
4.5	Mikrokanäle aus Kombination der Isolierpaste SD 2462 NB und des Tesa Spacer Tapes.....	89
4.6	Mikrokanäle mit dem doppelseitigem Klebeband Spacer Tape und der Hydrophilic Folie als Deckelung	90

4.7	Finales Design und Aufbau des Einmaltestreifens.....	92
5	Literatur.....	93
5.1	Abbildungsverzeichnis.....	96
5.2	Tabellenverzeichnis	97
6	Anhang	98
6.1	Berechnung zur Hämolyse induzierten Kaliumerhöhung durch die Hämoglobinkonzentration im Plasma	98
6.2	Berechnung zur Kanalsaugwirkung des finalen Designs mit Plasma.....	99

1 Einleitung und Aufgabenstellung

Bei JOANNEUM RESEARCH wird zurzeit im Projekt K@home die Sensorchemie für einen Kalium Sensor im Einmal-Teststreifen-Format erforscht. Das Sensorsystem mit Einmalteststreifen wird speziell für die Heimanwendung, für Personen mit den Krankheitsbildern chronische Herz- und Niereninsuffizienz entwickelt. Dadurch sollen akute Entgleisungen des Kaliumspiegels und daraus resultierende Krankenhausaufenthalte deutlich reduziert werden.

Die bis heute praktizierte Standardvorgehensweise zur Kaliumbestimmung setzt eine Arzt- oder Spitalsambulanzbesuch voraus, welcher mit großem Aufwand und hohen Kosten verbunden ist. Die Problematik verbirgt sich nicht nur hinter der Abnahmen des venösen Blutes beim Patienten, sondern auch durch den Transport und der Untersuchung durch ein Labor, über das der Kaliumgehalt bestimmt wird. Durch die standardisierten Methoden, kann es durch verschiedene Faktoren zur Hämolyse und einer damit verknüpften Ergebnisverfälschung kommen.

Im Zuge dieser Diplomarbeit wurde ein mikrofluidischer Kanal mit Plasmaseparationsbereich an einem Teststreifensystem entwickelt. Dieses Teststreifensystem soll Anwendung finden, für das Home-Monitoring von Kalium-Plasmakonzentrationen und damit für eine Überwachung von Patienten mit chronischer Herz- und Niereninsuffizienz. Das sensorische Element basiert dabei auf einer für Kaliumionen selektiven Membran, welche durch eine potentiometrische Messung die Kaliumaktivität misst. Damit eine Ergebnisverfälschung durch hämolysiertes Blut gemessen werden kann, wird Erythrozyten-freies Plasma, für eine Hämolyse-detektion, benötigt. In dieser Arbeit wurde der Einmalteststreifen, der diese Anforderungen erfüllt, in 2 Schritten entwickelt:

- Plasmaseparation
- Entwicklung des Mikrokanals

In der Einleitung wird auf folgende Themen Bezug genommen:

1. Techniken der Mikrokanalentwicklung
2. Physiologie des Blutes
3. Physiologie und Pathophysiologie des Kalium-Haushaltes

Im Methodenteil werden die Herstellungstechniken von Mikrokanälen, die Überprüfungen der Materialien auf Kontaktwinkel und Hämokompatibilität, die Untersuchungen zu den

Plasmaseparationsmembranen sowie die Prüfmethode zu den Kanalsaugeigenschaften beschrieben. Letztendlich ist das finale Design des Einmalteststreifens, samt Überprüfung angeführt.

Im Ergebnissteil wird auf die gewonnenen Ergebnisse durch die angewendeten Methoden eingegangen. Schließlich werden die angewendeten Methoden und daraus gewonnenen Ergebnisse in der Diskussion besprochen.

Im Anhang befinden sich eine Berechnung zur Kaliumerhöhung im Zusammenhang mit dem freien Hämoglobin induziert durch Hämolyse und eine Berechnung zur Kanalsaugwirkung.

1.1 Techniken der Mikrokanalentwicklung

1.1.1 Mikrofluidik

In der Medizin findet die Mikrofluidik Anwendungen in der sogenannten Point of Care-Diagnostik (POC) oder beim „Lab-on-a-Chip“ (LOC). Damit ist eine möglichst patientennahe Messung von einzelnen Laborwerten in Chipformat gemeint. Die Mikrokomponenten ersetzen quasi das „echte“ Labor und machen Untersuchungen vor Ort, das sind zum Beispiel, die Wohnung des Patienten oder ein Notarztwagen, möglich [1]. Der Begriff Lab-on-a-Chip ist eine gängige Bezeichnung für Mikrosysteme, bei denen Flüssigkeiten, z.B. kleinste Mengen an Blut, analysiert werden. Es stellt ein makroskopisches Labor im Mikrobereich dar. Die Mikrofluidik umfasst nicht nur die Untersuchungen an Mikrosystemen, sondern auch den Entwurf, die Fertigung und den Einsatz von mikrofluidischen Systemen auf Flusssensoren und im Lab-on-a-Chip.

„Mikrofluidik“ beschreibt das Verhalten von kleinen Flüssigkeitsvolumina (oder Gasen) auf engstem Raum, wobei die physikalischen Gesetze der Makrofluidik nicht gleich auf die Mikrofluidik anzuwenden sind. So ist die Gravitation eine treibende Kraft in der Makrofluidik, in der Mikrofluidik wird diese jedoch durch Oberflächenenergie und Kapillarkräfte dominiert [2]. Auch die Trägheits- und Reibungskräfte, welche in der klassischen Strömungsmechanik meist vernachlässigt werden können, verändern sich mit zunehmender Miniaturisierung. So müssen einige „Skalierungsfaktoren“, welche die Gesetzmäßigkeiten der Miniaturisierung von Makro- zu Mikrobereich beschreiben, beachtet werden [3]. Weiters spielt in Mikrosystemen das Oberflächen-zu-Volumen Verhältnis eine tragende Rolle, da es sich bei Miniaturisierung um einige Größenordnungen zum „Dezimetersystem“ verändert. Veranschaulicht wird dieses Phänomen durch das square-cube Gesetz, wonach das Volumen eines Körpers kubisch, die Oberfläche dagegen nur quadratisch zunimmt [4].

Da dies eine empirische Arbeit ist, werden an dieser Stelle grundlegende Gesetzmäßigkeiten des Strömungsverhaltens in der Mikrofluidik erläutert. Im Anhang ist dazu ein Berechnungsbeispiel zu finden, durch welches die in dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnisse mit dem theoretischen Hintergrund verglichen werden.

Generell tritt in der Mikrofluidik eher laminares Strömungsverhalten auf. Definiert wird das Strömungsverhalten durch die Reynoldszahl (Re). Sie ist eine dimensionslose Größe, die die Beschaffenheit der Strömung in durchströmter Querschnitte charakterisiert [5]. Laminare Strömungen sind bei $Re < 2000$ zu erwarten, ab $Re > 2300$ treten Turbulenzen auf. Der Bereich dazwischen ist als Übergangsbereich definiert. Die Bestimmung der Reynoldszahl,

und der damit verbundenen Strömungseffekte in den Mikrokanälen, erfolgt aus dem Verhältnis der Trägheitskraft zur viskosen Reibungskraft. Formel (1) beschreibt diesen Zusammenhang:

$$Re = \frac{\text{Trägheitskraft}}{\text{viskose Reibungskraft}} = \frac{\rho * u * D_h}{\eta} \quad (1)$$

Re = Reynoldszahl [-]

ρ = Dichte des Fluids [kg/m³]

u = mittlere Strömungsgeschwindigkeit [m/s]

η = dynamische Viskosität der Flüssigkeit [Pa s]

D_h der hydraulische Durchmesser [m]

Neben der Reynoldszahl gibt es eine Reihe von physikalischen Größen, die zur Beurteilung von mikrofluidischen Systemen herangezogen werden. Der hydraulische Durchmesser D_h wird unter anderem zur Bestimmung der Druckverluste in nicht kreisförmigen Querschnitten herangezogen [6], siehe Formel (2):

$$D_h = \frac{4 * A}{U} \quad (2)$$

A = Fläche [m²]

U = Umfang [m]

Bei rechteckigen Kanälen, welche aus fertigungstechnischen Gründen eine hohe Beliebtheit in der Mikrofluidik aufweisen, ergibt sich die Berechnung des hydraulischen Durchmessers, wie in Formel (3) dargestellt [3]:

$$D_h = \frac{2 * h * b}{(h + b)} \quad (3)$$

h = Höhe [m]

b = Breite [m]

Der Fluidische Widerstand R_{fluid} ist maßgeblich für Auslegung eines Mikrokanals, da er den Widerstand beschreibt, der dem Fluid in seiner Bewegung durch den Mikrokanal entgegenwirkt. Für eine Kanal mit kreisförmigem Querschnitt ergibt sich eine Zusammenhang mit der Viskosität, der Kanallänge, der Dichte und dem Durchmesser zur vierten Potenz, wie es in Formel (4) gezeigt ist [3]:

$$R_{fluid} = \frac{128 * \eta * L}{\pi * \rho * D^4} \quad (4)$$

L = Länge des Kanals [m]

R_{fluid} = fluidischer Widerstand [N*s/m⁵]

Der Durchmesser des Mikrokanals beeinflusst den fluidischen Widerstand maßgeblich. Der Widerstand hängt umgekehrt von der 4. Potenz des Durchmessers ab. Bei einer Halbierung des Durchmessers würde der Widerstand somit um das 16-fache steigen.

Für rechteckige Kanäle mit Kanalbreiten die ein Vielfaches der Kanalhöhe ausmachen ($b \gg h$), gibt es die vereinfachte Form [7] des fluidischen Widerstandes, wie in Formel (5)(6) ersichtlich:

$$R_{fluid} = \frac{12 * \eta * L}{b * h^3} \quad (5)$$

Ein weiterer Parameter zur Beurteilung von mikrofluidischen Systemen ist der Druckverlust ΔP . Er wird vor allem durch die Reibung des Fluids mit der Mikrokanalwand, aber auch durch Reibung zwischen verschiedenen schnell fließenden Fluidteilchen verursacht [8]. Formel (6) gibt dessen Abhängigkeit vom Strömungswiderstand R_{fluid} wieder:

$$\Delta P = R_{fluid} * \dot{Q}_m \quad (6)$$

$\Delta P = \text{Druckverlust [N/m}^2\text{]}$

$\dot{Q}_m = \text{Volumenstrom [m}^3\text{/s]}$

Diese Gleichung kann analog zum Ohm'sche Gesetz der Elektrotechnik verstanden werden. ΔP ist dabei äquivalent zur Spannung U , \dot{Q}_m zum Strom I und der Widerstand R_{fluid} dem Ohm'sche Widerstand R . Die Abhängigkeit zwischen Volumenstrom und Massenstrom kann durch Gleichung (7) formuliert werden:

$$\dot{m} = \rho * u * A = \rho * \dot{Q}_m \quad (7)$$

$\dot{m} = \text{Massenstrom [kg/s]}$

Der Massenstrom \dot{m} (Masse/Zeit) ergibt sich aus der Dichte ρ der Geschwindigkeit u bezogen auf die durchströmte Fläche A , dies gibt wiederum den Volumenstrom \dot{Q}_m wieder [3].

1.1.1.1 Navier-Stokes Gleichung

Um die Strömung im Mikrokanal mathematisch beschreiben zu können ist die allgemein gültige Navier-Stokes Gleichung relevant. Die Navier-Stokes Gleichung beschreibt das Kräftegleichgewicht in einer Strömung mit einem Newtonschen Fluid. Die dabei auftretenden Kräfte, nämlich die Trägheitskraft, der Druckgradient, die Schwerkraft und die Reibungskraft sind durch die Formel (8) dargestellt [3]:

$$\rho \frac{Dv}{Dt} = -\nabla p + \rho * g + \eta * \nabla^2 * v \quad (8)$$

Trägheitskraft Druckgradient Schwerkraft Reibungskraft

$$\rho \frac{dv}{dt} = \text{Trägheitskraft [kg/m}^2\text{s}^2\text{]}$$

$$-\nabla p = \text{Druckgradient [kg/m}^2\text{s}^2\text{]}$$

$$\rho * g = \text{Schwerkraft [kg/m}^2\text{s}^2\text{]}$$

$$\eta * \nabla^2 * v = \text{Reibungskraft [kg/m}^2\text{s}^2\text{]}$$

$$\nabla = \text{nabla Operator [-]}$$

Für die Geschwindigkeit v gelten die 3 Geschwindigkeitskomponenten u , v und w , in x -, y und z -Richtung.

Die Young-Laplace Gleichung beschreibt den Zusammenhang zwischen der Oberflächenspannung, der Oberflächenkrümmung, dem Druck und der Tropfengröße (Radius) einer Flüssigkeit, welcher durch Formel (9) dargestellt werden kann [3]:

$$\Delta p = \frac{2 \sigma_{lg} * \cos \theta}{R} \quad (9)$$

$$\sigma_{lg} = \text{Oberflächenspannung (flüssig/gas) [N/m]}$$

$$\theta = \text{Kontaktwinkel [}^\circ\text{]}$$

$$R = \text{Kapillarradius [m]}$$

Für die Berechnung der Reibungskraft kann die Hagen-Poiseuille-Gleichung, siehe Formel (10), eingesetzt werden, jedoch ist zu erwähnen, dass diese nur für Newtonsche Fluide gilt:

$$\frac{dp}{dx} = \frac{8 \eta}{R^2} \frac{dx}{dt} \quad (10)$$

$$\frac{dp}{dx} = \text{Druckgradient [kg/ms}^2\text{]}$$

$$R = \text{Radius [m]}$$

In einer horizontal durchströmten Kapillare, fällt der Schwerkraftterm der Navier-Stokes Gleichung weg, da die Schwerkraft entlang der horizontalen Achse gleich ist. Die transiente Strömung einer Flüssigkeit kann durch die eindimensionale Navier-Stokes-Gleichung beschrieben werden, wobei für den Reibungsterm die Formel (10) eingesetzt wird und

Formel (9) für den Druckgradienten. Es ergibt sich Formel (11):

$$\frac{d^2x}{dt^2} = -\frac{1}{x} \left(\frac{dx}{dt}\right)^2 - \frac{8\eta}{R^2} \frac{dx}{dt} + \frac{1}{x} \frac{2 * \sigma_{lg} \cos \theta}{\rho R} \quad (11)$$

Der Term $\frac{1}{x} \left(\frac{dx}{dt}\right)^2$ ist klein und zu vernachlässigen. Nun handelt es sich bei der vereinfachten Form nur mehr um eine Differentialgleichung zweiter Ordnung, die analytisch gelöst werden kann [3].

Der Geschwindigkeitsverlauf dieses analytischen Beispiels in einer horizontalen Kapillare, und dessen experimentelle Ergebnisse, sind in *Abbildung 1* über die Länge des Kanals dargestellt. Als Medium wurde Wasser bei 25°C, mit einem statischen Kontaktwinkel von 25° zu dem kreisförmigen Mikrokanal, der einen Radius von 0,4 mm aufweist, verwendet. Das Beispiel soll zeigen, dass bei einer guten Benetzbarkeit (kleine Kontaktwinkel) sich der Mikrokanal aufgrund der Kapillarkraft über eine Distanz von einigen Dezimetern in wenigen Sekunden befüllt.

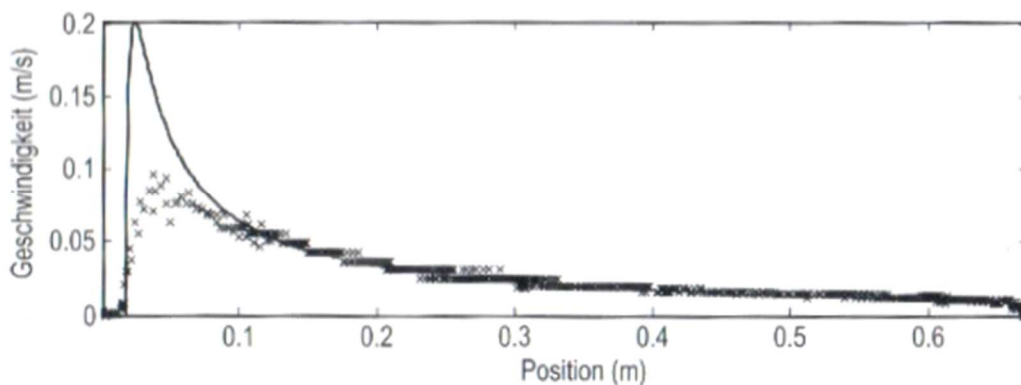


Abbildung 1: Analytische und experimentelle Lösung eines Meniskus in einem Mikrokanal mit $r = 0,4$ mm und Wasser bei 25°C. Der statische Kontaktwinkel zur Kapillarwand beträgt 25°. Das Fluid wird über 0,6 m weit gezogen, bei einer Geschwindigkeit von anfänglich bis zu 0,1 m/s. ab 0,1 m fällt diese auf 0,05 m/s ab und nach 0,2 m ist sie in etwa auf 0,025 m/s verzögert. Abbildung entnommen aus [3].

1.1.1.2 Kapillarität

Unter Kapillarität versteht man die „makroskopische Bewegung einer Flüssigkeit unter der Wirkung der eigenen Oberflächen- bzw. Grenzflächenkräfte“ [3]. Sie tritt bei einem Druckunterschied, welcher bei einem fluidischen System, das mindesten aus einer flüssigen Phase, in unserem Fall Blut oder Plasma, und einer anderen flüssigen, gasförmigen oder festen Phase besteht, auf. So ist eine flüssige, feste und gasförmige Phase in der Regel, für das Auftreten der Kapillarität von Nöten. Die dabei auftretende Kapillarkraft wird von 3 Parametern bestimmt:

- Grenzflächenspannung
- Geometrie der Grenzfläche, welche zwischen der flüssigen, festen und gasförmigen Phase besteht
- Geometrie der festen Phase beeinflusst an der Grenzlinie zw. den drei Phasen

Die Grenzflächenspannung wird durch das Gleichgewicht mit der Young-Gleichung durch den Kontaktwinkel beschrieben [3], der in Kapitel 1.2.5.4 *Benetzbarkeit und Kontaktwinkel* näher beschrieben wird.

Beispielhaft für die Kapillarität ist der Vergleich von Wasser und Quecksilber in einem Glasröhrchen (Kapillare). Wasser wird dabei, je nach Kapillardurchmesser, in das Röhrchen hinaufgezogen und benetzt es, Quecksilber wird nach unten gedrückt und benetzt nicht. Begründet wird dieses Phänomen durch die Oberflächenspannung (siehe Kapitel 1.2.5.3 *Oberflächenspannung*) [9].

1.1.1.3 Mikrokanal

Der Mikrokanal bildet zusammen mit dem Mikrofilter den Hauptteil des Teststreifens, in Bezug auf diese Arbeit. Er muss so ausgelegt sein, dass die Kapillarkräfte groß genug sind, damit das durch den Mikrofilter abgetrennte Plasma angezogen und zum Zielort befördert werden kann. Um eine passende Auslegung des Kanals zielführend durchführen zu können, muss dafür die grundlegende Strömungsmechanik verstanden werden und im Bereich der Mikrofluidik spezielle Gesetzmäßigkeiten beachtet werden. Fertigungstechnisch ist ein rechteckiger Kanal deutlich leichter herzustellen als einer mit runder Kanalgeometrie, wobei abgerundete Kanten speziell bei Ätztechniken, Fräsarbeiten oder im Bereich des Siebdruckes durchaus entstehen können.

1.1.2 Plasmaseparation

Die Plasmaseparation bildet ein Teilgebiet der Filtration, genauer gesagt der Mikrofiltration. Unter Filtration wird die Trennung eines Stoffgemisches beim Durchgang eines oder mehrerer seiner Komponenten durch eine trennungswirksame Schicht verstanden. Dabei kann die Trennung durch die Größe der abzuscheidenden Komponenten, wie in *Abbildung 2* gezeigt, unterteilt werden:

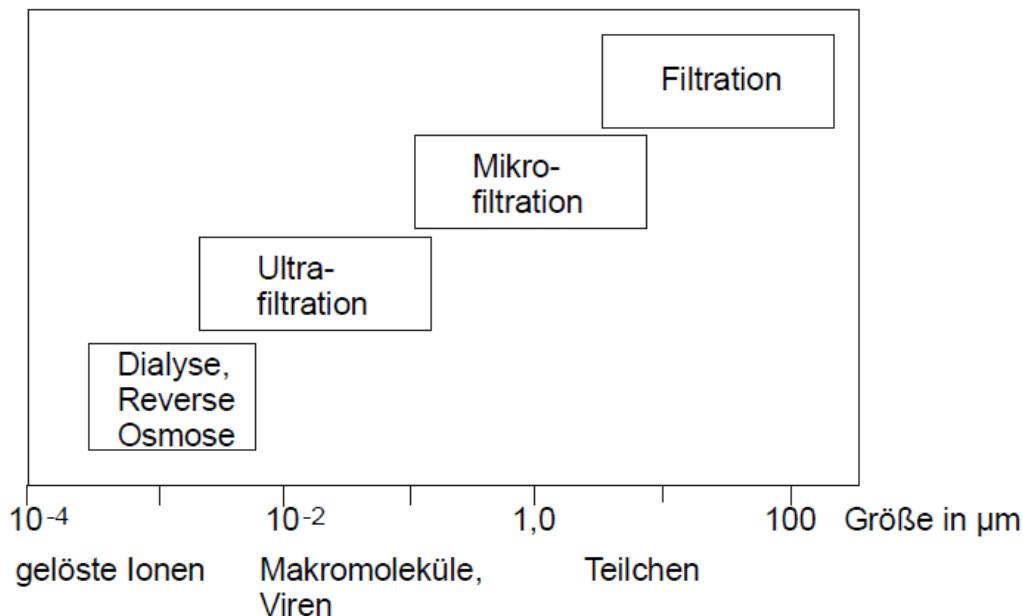


Abbildung 2: Größe der abzutrennenden Komponenten und der dazu definierte Filtrationsbereich [10], so wird bei einem Bereich von $0,1 - 10 \mu\text{m}$, die Mikrofiltration definiert in welche die Blutzellen fallen.

Im Bereich der Ultra- und Mikrofiltration ist der Begriff „Membran“ statt Filter geläufiger. Er stammt aus der Biologie, wo er für Zellwände, die Haut oder den Darm verwendet wird. Da die synthetische Herstellung von Membranen in der heutigen Zeit eine ähnliche Selektivität wie die der biologischen Membranen zulässt, wird der Begriff dafür vermehrt verwendet.

Der derzeitige Stand der Technik bietet eine große Auswahl an mikrofluidischen Systemen, ins Besondere aber an Plasmaseparationsmethoden, und zeigt, dass sich mittlerweile eine Vielzahl an Forschern mit dem Thema der Blut-Plasma-Separation, aber auch der Zellfraktionierung, auseinander gesetzt haben. Einen guten Überblick zu den gängigen Plasmaseparationsmethoden liefern Z. Yu et al. in ihrer Arbeit [11], die diese tabellarisch zusammengefasst haben. Primär kann hier grob zwischen den zu Grunde liegenden Effekten unterschieden werden:

- physikalische Filtrationsmethoden
- hydromechanische Mechanismen

- hämodynamische Phänomene
- Oberflächenaffinitäten und Topographien
- Magnetophorese
- elektrische Methoden
- und die Akustophorese

Bis auf die Trennmethode durch den Zweifach-Fung Effekt ist mit keiner der zusammengefassten Methoden eine Plasmareinheit von 100% erreicht worden. Hier ist jedoch zu sagen, dass nur für 50% ein Plasmareinheitswert angegeben wurde [11].

Man kann die Techniken aber auch in aktive und passive bzw. deren Kombinationen, unterscheiden, wobei mit „aktiv“ das Einbringen zusätzlicher Energie in Form eines externen Feldes gemeint ist, und nicht die Beförderung des Blutes oder Plasmas durch Mikropumpen. So fallen in die passiven Methoden die Filtration, die hydrodynamische Filtration und die Pinched Flow Fractionation (PFF) bei der über eine Einschnürung unter laminaren Strömungsbedingungen die Zellauftrennung erfolgt. Der Zweifach-Fung Effekt ist ein passives hämodynamisches Phänomen, bei dem durch eine Y-Gabelung und unterschiedlich hohen Strömungsgeschwindigkeiten in den beiden Verzweigungen Zellen dazu tendieren, in den schnelleren Kanal zu fließen. Weitere passive Trennmethoden wären noch die „Inertia and Dean Flow Fractionation“ bei der sich Partikel aufgrund ihrer Verformbarkeit, Größe und der damit verbundenen Massenträgheitskräfte trennen lassen. Auch die Deterministic lateral Displacement Methode (DLD) ist passiv, dabei sind in Strömungsrichtung Hindernisse aufgestellt, die jedoch normal zur Strömungsrichtung versetzt sind. Zellen werden dabei, je nach ihrer Größe abgelenkt, oder bleiben auf der Strömungslinie. Dadurch werden sie separiert. Die „Micro-hydroclone“ Methode basiert auf der Zentrifugation und ist auch passiv.

Aktive Techniken sind unter anderem die Elektrophorese oder die Dielektrophorese, bei der ein inhomogenes elektrisches Gleich- und Wechselfeld für das Einfangen, kontrollieren oder fraktionieren der Zellen verwendet wird. Bei der magnetischen Separation sind die Schubspannungen auf die Zellen geringer und werden so nicht so leicht zerstört. Hinzu kommt es, dass diese Methode effizienter und zeitsparender, als die zuvor erwähnte, ist. Mit der Akustophorese werden die Zellen beschallt und sammeln sich so mittig im Kanal an. Über seitlich abzweigende Kanäle kann dann das Plasma gewonnen werden [12].

M. Kersaudy-Kerhoas und E. Soillier fassen in ihrem Artikel die aktive und passive Plasmaseparation wie folgt zusammen, wobei mit passive eine „rein fluidisch“ ausgeprägte Separation beschrieben wird:

- **passive Separation:**

1. *Plasma Extraktion durch Sedimentation*

- i) durch „Cross-Flow“ Filtration → Probengröße: 6-30 µl in 1 Stunde, Reinheit k.A., Ertrag 20%, Flussrate 0,1 µl/min, keine Verdünnung
- ii) durch rückseitige Abstufung → Probengröße bei 4 Stunden Laufzeit berechnet 3,6 ml Reinheit ~99%, Ertrag 66%, Flussrate 15 µl/min bei einer Verdünnung von 1:5
- iii) durch einen Pfropfen → Laufzeit 2 - 4 min ergibt ein Probenvolumen von 1-2 µl, Reinheit ~100%, Ertrag 60%, Flussrate 0,5 µl/min, Verdünnung 1:5
- iv) durch einen Graben → Probengröße 5 µl Blutströpfchen, Reinheit ~100%, Ertrag k.A., Flussrate 0,83 µl/min, keine Verdünnung

2. *Plasma Extraktion durch Mikrofiltration*

- i) Dead-End Filtration durch Mikrokugeln und Kapillaraktuatoren → 188 nl aus 10 µl Blutstropfen in 10 min, Reinheit des Plasmas ist 100%, Ertrag jedoch nur ~2%, die Flussrate ist 0,02 µl/min, keine Verdünnung
- ii) Dead-End Filtration mit Membran-Filter und magnetischem Aktuator → 7 µl Plasma aus 50 µl Blut in unter 1 min, Reinheit des Plasmas: ~100%, Ertrag ~14%, Flussrate 50 µl/min, keine Verdünnung
- iii) Cross-Flow Filtration durch eine Membran → 14 -45 nl Plasma aus 5 µl Blut in 4 Stunden, Reinheit des Plasmas: ~100%, Ertrag ~15%, Flussrate 10 µl/min, Verdünnung 2:3 (Hämatokrit (Hkt) ~ 30%)

3. *Plasmaextraktion durch Zellabweichungsmechanismen*

- i) Separation mit abgeschrägten Hindernissen → Probengröße ungekannt, Reinheit: k.A., Ertrag: 40%, Flussrate: 4 µl/min, Verdünnung: 1:4
- ii) Separation mit hydrodynamischen Auftriebskräften
 - (1) Reine viskose Auftriebskraft (Zweifach-Fung-Effekt) → Probengröße: ungekannt ,Reinheit: ~100%, Ertrag: 35%, Flussrate: 0,16 µl/min bei keiner Verdünnung
 - (2) Separation durch viskose und Trägheitskräfte
 - (a) Einschnürung → Probengröße: ungekannt, Reinheit: ~99%, Ertrag: 20%, Flussrate: 100 µl/min, Verdünnung: 1:20
 - (b) Gabelung → Probengröße: ungekannt, Reinheit: ~99%, Ertrag: 5%, Flussrate: 33 µl/min, keine Verdünnung

(3) Reine Trägheitskräfte → Probengröße: 30 ml, Reinheit: ~100%, Ertrag: unbekannt, Flussrate: 8 ml/min, Verdünnung: 0,5 %.

- **aktive Separation**

1. Akustische Plasmaseparation → Probengröße: ungekannt, Reinheit: ~100%, Ertrag: k.A., Flussrate: 80 µl/min, Verdünnung: 40% Hkt
2. Elektrische Plasmaseparation → Probengröße: ungekannt, Reinheit: ~100%, Ertrag: 8-26,6%, Flussrate: k.A., Verdünnung: 1:16

- **Alternative Plasmaseparationen**

1. Papier-Format mit Antikörper → Probengröße: ungekannt, Reinheit: 99,5%, Ertrag: k.A., Flussrate: k.A., Verdünnung: keine
2. CD-Format mit Zentrifugation → Probengröße: 5 µl in 20s, Reinheit: ~100%, Ertrag: ~40%, Flussrate: k.A., Verdünnung: keine
3. Manueller Schneebesen → Reinheit: ~100%, Ertrag: 60%, Flussrate: k.A., Verdünnung: keine [13]

Da im Zuge dieser Diplomarbeit hauptsächlich mit Mikrofiltrationsmembranen, welche zur Plasmaseparation herangezogen wurden, gearbeitet wurde, werden diese im folgenden Kapitel näher beschrieben.

1.1.2.1 Mikrofiltrationsmembran

Mikrofilter haben einen Porendurchmesser von ~0,08 µm bis ~10 µm, wobei diese Werte leicht abweichen können. Sie sind hauptsächlich symmetrisch aufgebaute Membrane, welche durch die Porengröße charakterisiert werden. Üblicherweise wird die Porengröße so auf die Teilchengröße abgestimmt, sodass mehr als 95% davon im Mikrofilter zurückgehalten werden. In der Anwendung der Mikrofiltration ist die treibende Kraft ein Druckgradient oder eine Differenz des chemischen Potentials. Das zu trennende Stoffgemisch wird Feed genannt, die nach der Filterung erhaltene Flüssigkeit Permeat. Der zurückgehaltene Teil heißt Retentat oder Konzentrat [14].

Der spezifische Strömungswiderstand der Membranen ist aufgrund der relativ großen Porengröße vernachlässigbar. Der Widerstand der sich auf dem Mikrofilter durch die anfallende Deckschicht (bedingt durch das Retentat) aufbaut, beeinflusst hauptsächlich die Druckdifferenz was für Ultrafiltration generell nicht zutrifft. Darum sind für Mikrofilter generell keine kleinen Membrandicken und damit auch keine asymmetrisch produzierten Membranen erforderlich. Häufig verwendete Werkstoffe für die Fertigung von Mikrofiltern sind dabei

Polypropylene oder PTFE (Teflon®), beide mit hydrophoben Eigenschaften. Aber auch Celluloseester, Polyamid, Polysulfone oder Polycarbonate, welche eher hydrophile Eigenschaften aufweisen, sind üblich. Anorganische Werkstoffe wie Glasfaser, Aluminium oder keramische Werkstoffe werden ebenso für die Herstellung von Mikrofiltern verwendet. All diese Materialien zeichnen sich durch gute mechanische Eigenschaften, aber auch hohe chemische und thermische Resistenz, aus. [15]

1.1.2.2 Plasmaseparationsmembran

Die Filtration von Blutproben erfordert jedoch spezielle Membranen, die die Erythrozyten nicht beschädigen (siehe Kapitel 1.2.4 *Hämolyse und Verfälschung des Kaliumwertes durch Hämolyse*). Eine geringe Anzahl an Herstellern hat sich mit ihren Produkten auf die Plasmaseparation bei geringer bis gar keiner Hämolyse spezialisiert. Diese ist durch folgende Eigenschaften von Dialysemembranen zu unterscheiden:

- Durchlässigkeit für das gesamte Spektrum der Plasma- und Lipoproteine
- Große Oberflächen- und Gesamtporosität der Membran zur Erlangung maximaler Filterleistungen
- Hydrophile spontan benetzbare Membranstruktur
- Geringe Foulingeneigenschaften
- Geringe Proteinadsorption
- Glatte blutkontaktierende Oberfläche
- Geringe Hämolyse neigung
- Konstante Siebeigenschaften und Filtrationsverhalten über den Behandlungszeitraum
- Biokompatible (hämokompatible) Membraneigenschaften
- Gute mechanische Eigenschaften
- Möglichkeit der Sterilisation

Plasmaseparationsmembranen weisen typische Porengrößen von 0,02 μm auf. So ist sogar ein Filtern von den kleinsten Blutzellen (Thrombozyten ($\phi_{\text{mittel}} = 2 \mu\text{m}$)) möglich, ein Durchlassen der Plasmaproteine aber noch gegeben [16].

Als Methode zur Plasmaseparation am Kalium-Einmalteststreifen wurde die Dead-End Methode ausgewählt. Diese Methode kennzeichnet sich durch folgende Eigenschaften aus:

- hoher Reinheitsgrad des Plasmas (~100%)
- passiver mikrofluidischer Transport durch die Kapillarkräfte (keine Pumpe ist erforderlich)

- passive Trennmethode durch die Mikrofiltration
- einfacher Auf- und Zusammenbau (geringer technischer Aufwand)
- geringe Anfälligkeit auf technisches Gebrechen
- kosten- und platzsparend

Im folgenden Kapitel wird deshalb näher auf die Mikrofiltration im Dead-End-Betrieb eingegangen.

1.1.2.3 Mikrofiltration im Dead-End-Betrieb

Bei der Mikrofiltration im Dead-End-Betrieb wird der Mikrofilter orthogonal zur Membranoberfläche vom Feed angeströmt. Dabei lagern sich die zu filternden Teile an der Membran ab. Diese bilden eine Deckschicht (auch Kuchen genannt → Kuchenfiltration) auf der Membran, welche eine zeitliche Zunahme des Strömungswiderstandes zur Folge hat. Deshalb nimmt der Permeatstrom mit der Zeit ab (siehe *Abbildung 3*). In diversen Systemen wird der Filter nach unterschreiten eines gewissen Permeatflusses rückgespült respektive ausgetauscht. Somit ist der Dead-End-Betrieb ein diskontinuierlicher Betrieb.

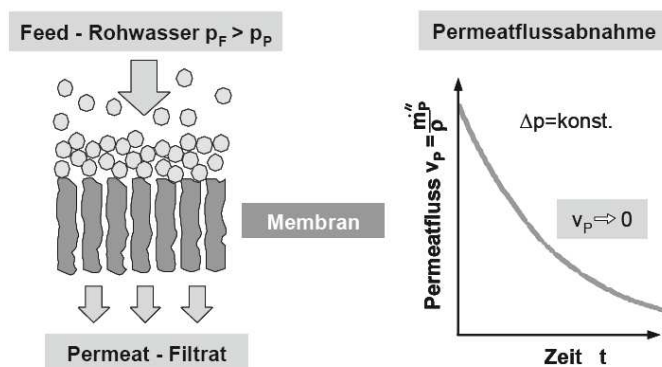


Abbildung 3 zeigt eine Membran in der Anwendung im Dead-End-Betrieb (linkes Bild). Eine Filtration ist nur dann möglich, wenn der Feeddruck größer dem Permeatdruck ist. Rechts im Bild ist der zeitliche Verlauf des Permeatflusses, welcher einer abnehmenden e-Funktion gleicht, zu sehen. Abbildung entnommen aus [14].

Der Membranfluss J wird durch Formel (12), welche als Widerstandsmodell durch Einfluss des Membranwiderstandes R_M gegeben ist, beschrieben:

$$J = \frac{\Delta p}{\eta * (R_M + R_D)} \quad (12)$$

J = Permeatfluss [m/s]

Δp = transmembranen Druckunterschied [N/m²]

η = dynamische Viskosität [Pa*s]

R_M = Membranwiderstand [1/m]

R_D = Deckschichtwiderstand [1/m]

„Der Membranwiderstand ist eine materialabhängige Größe, die während des gesamten Filtrationsprozesses konstant bleibt. Der Deckschichtwiderstand R_D ist abhängig vom Stoffsystem und den Betriebsbedingungen. Er kann sowohl reversibel als auch irreversibel sein.“ [17]

A. Homsy et al. haben in ihrer Arbeit mit ihrem BFE (Blood Filtration Element) [18], angewandt im Dead-End-Betrieb, innerhalb von 10 min 12 μL Plasma aus 100 μL unverdünntem Blut extrahiert. Dabei wurde, mit der kommerziell erhältlichen Plasmaseparationsmembran Pall Vivid GR [Pall Corporation, (New York, USA)], alleine durch Kapillarwirkung das Plasma aus parallel angeordneten Mikrokanälen, welche unter der Membran angeordnet waren, in einen Sammelkanal weitergeführt. Die Membran war mit einem Durchmesser von 20 mm bemessen und nach Angaben des Herstellers können so maximal 125 μL , ohne auftretende Hämolyse, extrahiert werden. Es wurde keine Indikation auf eine auftretende Hämolyse während der Experimentierzeit beobachtet.

Die Dead-End Plasmaseparationsmethode, die im Zuge dieser Arbeit entwickelt wurde, wird in Kapitel 2.7 *Finales Design des Einmalteststreifen in Autodesk AutoCAD (2D) und Inventor (3D)* bezüglich des Designs beschrieben und im Kapitel 2.7.1 *Finaler Aufbau des Einmalteststreifens* bezüglich des Aufbaus und der Überprüfung am Einmalteststreifen näher erklärt.

1.2 Physiologie des Blut

1.2.1 Aufgaben des Blutes

Die Aufgaben des Blutes lassen sich wie folgt unterteilen:

1. Stofftransport
 - Sauerstoff
 - Nährstoffe (z.B. Glucose)
 - Vitamine
 - Mineralien
 - Proteine
 - Beförderung von Abbauprodukten zu den Ausscheidungsorganen (z.B. Kohlendioxid)
2. Wärmeregulation
 - Aufrechterhaltung der Körpertemperatur
3. Signalübertragung
 - Hormonverteilung
4. Pufferung
 - Konstanter Blut pH-Wert von 7,4 durch Puffersysteme des Blutes aufrechterhalten
5. Abwehr
 - Immunsystem (Leukozyten)
 - Blutgerinnung (Thrombozyten) [19]

1.2.2 Feste Bestandteile des Blutes

Der Hämatokrit ist der Volumenanteil der zellulären Elemente im Blut. also die Gesamtheit der Blutzellen. Sie sind im Schnitt zu 45% im Blut vorhanden, wobei er bei Männern leicht darüber und bei Frauen etwas darunter liegt. Die Blutzellen werden folgendermaßen unterteilt:

- Erythrozyten
- Leukozyten
- Thrombozyten

1.2.2.1 Erythrozyten

Die Hauptaufgabe der Erythrozyten, oder auch rote Blutkörperchen genannt, ist der Sauerstofftransport, welcher durch die Bindung von Sauerstoff, an das in den Erythrozyten vorhandene Hämoglobin, von statten geht. Aber auch ein Teil des Kohlendioxids wird über die roten Blutkörperchen abtransportiert.

Die Erythrozyten, bilden den Hauptbestandteil der Blutzellen mit 99%igem Anteil, welche mit circa 5 Millionen Stück pro μl im Blut vorhanden sind. Sie haben die Form einer bikonkaven flachen Scheibe und besitzen keinen Zellkern. Es handelt sich um Zellen mit einer durchschnittlichen Größe von circa $7,5 \mu\text{m}$ im Durchmesser, einer Randdicke von $2 \mu\text{m}$, bei einer zentralen Dicke von einem μm . Bemerkenswert ist die Verformbarkeit der roten Blutkörperchen. Erythrozyten können Kapillaren passieren, die mit einem Durchmesser von $3\text{-}5 \mu\text{m}$ nur etwa halb so groß sind, wie die Erythrozyten selbst. Diese Eigenschaft limitiert die Auswahl der Mikrofilterporengröße, wie es zuvor im Kapitel 1.1.2.2 *Plasmaseparationsmembran* beschrieben wird.

Die durchschnittliche Normallebensdauer von Erythrozyten beträgt ca. 120 Tage, danach werden diese durch die physiologische Hämolyse abgebaut [20].

1.2.2.2 Leukozyten

Leukozyten werden auch weiße Blutkörperchen genannt. Sie dienen vor allem der Abwehr von Krankheitserregern und sonstigen körperfremden Stoffen, wie zum Beispiel entarteten Zellen. Eine Unterteilung erfolgt hier noch in drei Zellarten, die Granulozyten, die Monozyten und die Lymphozyten. In einem μl Blut befinden sich in der Regel circa 5000 Leukozyten, dieser Wert kann sich je nach Gesundheits- oder Krankheitsgrad der Person zwischen 2000 und 10000 verändern.

1.2.2.3 Thrombozyten

Thrombozyten sind die kleinsten Blutzellen, sie werden auch Blutplättchen genannt und haben die Aufgabe der Blutgerinnung. Sie sind $1\text{-}4 \mu\text{m}$ große kernlose Scheibchen, welche im Knochenmark gebildet werden. Bei einer Verletzung bilden die Thrombozyten einen Pfropf, durch den die Verletzung möglichst schnell wieder verschlossen wird. Damit wird einem zu hohen Blutverlust vorgebeugt und Krankheitserreger können nicht in den Blutkreislauf gelangen.

1.2.3 Flüssige Bestandteile des Blutes

Das Blutplasma (in der weiteren Arbeit nur mehr als Plasma bezeichnet) ist eine gelbliche durchsichtige Flüssigkeit, die mit ca. 55% Anteil im Blut homogen verteilt ist. Plasma besteht zu 90% aus Wasser, wobei von den übrigen 10% circa 8% Proteine sind. Die restlichen 2% sind kleinmolekulare Substanzen, wie Elektrolyte (Kalium-, Natrium-, Chlorid- oder Phosphationen) und Glukose, Kreatinin und Harnstoff, oder Hormone und Stoffwechselprodukte. Weiters kann das Plasma noch in Blutserum unterschieden werden, bei dem die Gerinnungshemmer, im Vergleich zum Plasma fehlen.

Das Blut erhält seine typisch rote Farbe durch das Hämoglobin, dem sogenannten Blutfarbstoff. Werden rote Blutkörperchen zerstört, so gelangt das Hämoglobin ins Plasma und kann bei genügend hoher Konzentration dieses rötlich färben.

1.2.4 Hämolyse und Verfälschung des Kaliumwertes durch Hämolyse

Hämolyse beschreibt die Zerstörung von Erythrozyten. Man unterscheidet zwischen physiologischer (natürliche) Hämolyse und gesteigerte Hämolyse. Bei der physiologischen Hämolyse, die durch den natürlichen Abbau der Erythrozyten altersbedingt nach 120 Tagen auftritt, werden deren Inhaltsstoffe ins Blut freigesetzt. Bei der gesteigerten Hämolyse tragen folgende Effekte zur Zerstörung der Erythrozyten bei:

- Mechanische Hämolyse (z.B. Herzklappe) durch Schubspannungen
- Hämolyse durch strahlende Energie (Sonneneinstrahlung oder Röntgenstrahlung)
- Hämolyse durch Temperaturänderung
- Hämolyse in Zusammenhang mit osmotischem Druck [21]
- Hämolyse durch Toxine (tierische, bakterielle oder serologische Gifte) [19]

Erythrozyten haben eine circa 20-fach höhere Kaliumkonzentration als das Plasma. Bei der Blutabnahme für die Bestimmung von Kaliumionen im Plasma, muss beachtet werden, dass keine gesteigerte Hämolyse verursacht wird. Durch die venöse Blutabnahme kommt es durch folgende Punkte zu einer erhöhten Hämolyse und einer damit verknüpften Verfälschung des Kaliumwertes:

- Venenstauzeit >1 min
- zu geringes Nadellumen (Nadelinnendurchmesser)
- zu großer Unterdruck und zu rasches Abziehen des Blutes (Schaumbildung, Blasenbildung)

- zu große Einstechtiefe aktiviert Thrombokinase, in Folge dieser Mikrothrombenbildung und eine Teilgerinnung (siehe 1.2.2.3 *Thrombozyten*) [22]

Bei der Probenbehandlung im Labor können die Erythrozyten in der Probe ebenso hämolysieren:

- durch Schütteln der Probe, statt schwenken
- durch Zentrifugieren mit zu hoher Drehzahl
- wenn die Blutprobe nicht unverzüglich nach der Abnahme zentrifugiert wird
- durch Zugabe von destilliertem Wasser [23]
- Gefrieren von Blutproben

Die Hämolysen spielen nicht nur bei der Blutabnahme eine tragende Rolle, sondern auch im Zusammenhang mit dem in dieser Arbeit entwickelten Mikrokanal und der Abtrennung der Erythrozyten durch die Plasmaseparationsmembran am Kaliumeinmalteststreifen. So dürfen die für den Kaliumeinmalteststreifen verwendeten Materialien keine zusätzliche Hämolysen erzeugen. Aus diesem Grund wurde die Hämokompatibilität der verwendeten Materialien untersucht (siehe Kapitel 2.3 *Prüfmethoden zur Hämokompatibilität der Materialien für den Kanalaufbau*). Für die Messung der Hämolysen wird in dieser Arbeit das Hämoglobin Messgerät HemoCue Plasma/LowHb [HemoCue AB (Ängelholm, S)] verwendet (*Kapitel 2.3 Prüfmethoden zur Hämokompatibilität der Materialien für den Kanalaufbau*).

1.2.5 Hämorheologie

Die Hämorheologie befasst sich mit den Fließeigenschaften von Blut. Blut ist eine Suspension, d.h. eine heterogene Flüssigkeit, die sich aus dem Plasma (= Trägerflüssigkeit), das fast nur aus Wasser besteht, ähnlich diesem Verhält (Newtonsches Fluid) und den Blutzellen zusammensetzt. Physikalisch gesehen ist das Blut eine nicht-Newtonsche, inkompressible Flüssigkeit [24], dessen Flusseigenschaften stark vom Anteil des Hämatokrits abhängen. So verändern sich die Schereigenschaft, Dichte, Oberflächenspannung und Viskosität, je nach Höhe des Hämatokritwertes. Als Ganzes gesehen ist Blut eine pseudoelastische thixotrope Flüssigkeit [25], die mittels physikalischer Parameter beschrieben werden muss.

1.2.5.1 Viskosität des Blutes

Die Viskosität des Blutes hängt von den vorhandenen Scherkräften ab. Sie wird durch die Höhe des Hämatokritwertes, die Viskosität des Plasmas, die Aggregation und den mechanischen Eigenschaften der Erythrozyten beeinflusst. Erythrozyten sind stark

verformbar. Diese Eigenschaft trägt wesentlich zu den Flusseigenschaften sowohl in den großen Gefäßen, als auch in den Kapillaren bei [25].

Im Folgenden wird die zeitabhängige Fließeigenschaft der Viskosität beschrieben, die bei zunehmender mechanischer Beanspruchung abnimmt, siehe *Abbildung 4*.

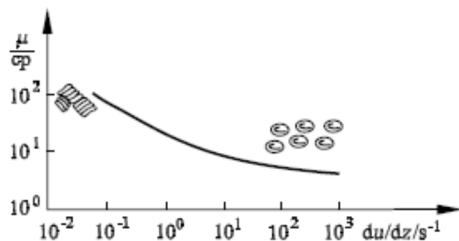


Abbildung 4: Viskosität des Blutes μ in Abhängigkeit der Scherrate du/dz , wobei die Effekte, Aggregation bei niedrigen Scherraten, dies entspricht eher geringeren Geschwindigkeiten in den Blutgefäßen (li.), und Spindelung bei hohen Scherraten, entspricht höheren Geschwindigkeiten in Blutgefäßen (re.), angedeutet sind [26].

Die Schubspannung τ_{xy} tritt nicht, wie bei Newtonschen Fluiden, in einen linearen Zusammenhang mit dem Geschwindigkeitsgradienten du/dz , sondern kann mit Hilfe der Casson-Gleichung [26], siehe Formel (13), angenähert werden:

$$\sqrt{\tau_{xy}} = K * \sqrt{\frac{du}{dz}} + \sqrt{C} \quad (13)$$

τ_{xy} = Schubspannung [N/m^2]

K = Casson-Viskosität [$\sqrt{Ns/m^2}$]

$\frac{du}{dz}$ = Scherrate [1/s]

C = Verformungsspannung des Blutes [N/m^2]

Blut weist bei hohen Geschwindigkeitsgradienten und damit großen Schubspannungen Verformungen auf, die unter anderem die Viskosität beeinflussen. So verformen sich die Erythrozyten bei Schubspannungen ab $50 N/m^2$ spindelförmig. Bei Scherraten kleiner 1 (tritt tendenziell bei erkrankten Menschen auf) kann es aufgrund einer verminderten Pumpleistung des Herzens zu Rückströmungsbereichen kommen. Die Erythrozyten aggregieren (diese benötigt circa 10 Sekunden), hängen sich stapelförmig aneinander und verketteten sich [26].

Der Zusammenhang der Viskosität η und des Hämatokritwertes Ht ist ebenso nichtlinear. Die einfachste Darstellung ist eine Linearisierung von Einstein [27] nach Formel (14):

$$\eta = \eta_{\text{Plasma}}(1 + 2,5 * Ht) \quad (14)$$

η = dynamische Viskosität [Pa s]

η_{Plasma} = dynamische Viskosität des Plasmas [Pa s]

Ht = Hämatokritwert [-]

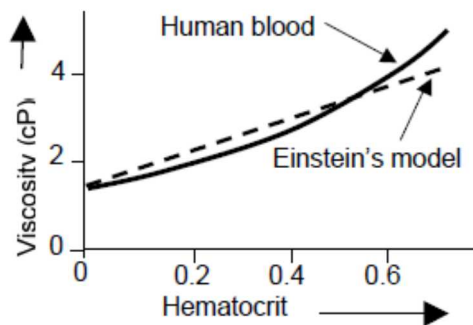


Abbildung 5: Darstellung der Viskosität als Funktion des Hämatokritwertes und lineare Vereinfachung durch das Einstein'sche Modell [27].

Die Viskosität des Blutes wird weiters noch von der Größe, der Form und der Flexibilität der Erythrozyten, aber auch der Temperatur beeinflusst. So hat Blut bei 37°C 1,6-2,5 mPa s und bei 25°C 3,4-4,3 mPa s, zum Vergleich hat Wasser bei 20°C 1 mPa s [28].

1.2.5.2 Dichte

Die Dichte des Blutes ist jener von Wasser sehr ähnlich und variiert je nach Hämatokritwert zwischen 1040 und 1055 g/dm³ bei 37°C. Blutplasma weist bei dieser Temperatur eine Dichte von 1020 g/dm³ auf. Erythrozyten haben bei Körpertemperatur eine Dichte von 1090 g/dm³, dies erklärt das Absinken der Zellen beim Zentrifugieren [29].

1.2.5.3 Oberflächenspannung

Die Oberflächenspannung σ beschreibt jenes Phänomen, bei der Flüssigkeiten versuchen, eine minimale Oberfläche zu erzeugen. „Gleichzeitig wird als Oberflächenspannung die physikalische Größe bezeichnet, die das Verhältnis zwischen der (für eine Vergrößerung der Oberfläche) verrichteten Arbeit und der Oberflächenvergrößerung beschreibt“ [30], mit der Einheit J/m² bzw. N/m. Die Oberflächenenergie ist dafür verantwortlich, dass sich ein Tropfen Wasser oder Blut in der Luft immer zu einer Kugel formen wird, da eine Kugel die geringste Oberfläche bei gegebenem Volumen hat.

Die Oberflächenspannung von Blut hängt stark von der Temperatur ab. Bei einer Körpertemperatur von 37°C hat Blut eine Oberflächenspannung von 27-34 mN/m und bei

25°C Raumtemperatur einen deutlich höheren Wert von ca. 49-58 mN/m. Im Vergleich dazu hat Wasser bei 20°C 73 mN/m. [28]

Bei Kontakt mit Feststoffen kann es zur Adhäsion der Flüssigkeiten auf dem Objekt kommen. Der Grenzflächeneffekt hängt stark von der Oberflächenenergie (in Zusammenhang mit Feststoffen eher üblich, anstatt Oberflächenspannung) ab, das heißt von der Fähigkeit das Material zu benetzen. Überwiegen die Adhäsionskräfte der Moleküle an der Oberfläche der Flüssigkeit Richtung Feststoff bei weiten die Kohäsionskräfte innerhalb der Flüssigkeit, so lässt sich der Feststoff benetzen. Durch das Gesetz nach Young lässt sich dieses Phänomen beschreiben und durch den Kontaktwinkel messen [30]. Aus diesem Grund wird nun der Kontaktwinkel im Detail beschrieben.

1.2.5.4 Benetzbarkeit und Kontaktwinkel

Die Benetzbarkeit gibt Aufschluss über das Verhalten bei Kontakt einer Flüssigkeit zu einem Festkörper und wie dieser von der Flüssigkeit bedeckt wird. Die Benetzbarkeit wird durch den Kontaktwinkel gemessen und mit dem Gesetz der Grenzflächenspannungen nach Young beschrieben, siehe Formel (15):

$$\sigma_{sg} - \sigma_{sl} = \sigma_{lg} \cos\theta \quad (15)$$

σ_{sg} = Oberflächenenergie (fest (solid) zu gasförmig (gaseous)) des Festkörpers [N/m]

σ_{sl} = Grenzflächenenergie (fest zu flüssig (liquid)) [N/m]

σ_{lg} = Oberflächenspannung (flüssig zu gasförmig) der Flüssigkeit [N/m]

θ = Kontaktwinkel [°]

Die Spannungen in diesem Dreiphasensystem bilden sich zwischen fester und flüssiger, flüssiger und gasförmiger bzw. fester und gasförmiger Grenzfläche. „Der Kontaktwinkel θ repräsentiert das Gleichgewicht der Grenzflächenspannungen“ [3] und gibt an, wie sich eine Flüssigkeit gegenüber einem Feststoff verhält. Ist der Kontaktwinkel kleiner 90°, so spricht man grundsätzlich von Hydrophilie, ist er größer als 90°, von Hydrophobie. Das heißt, eine Oberfläche verhält sich je nachdem, welche Flüssigkeit sie benetzt, aus welchem Material sie besteht und wie die Oberfläche (z.B. Rauheit) beschaffen ist, unterschiedlich. Daraus lässt sich die Oberflächenenergie der Flüssigkeit berechnen. Ein hydrophiles Beispiel ist Wasser auf einer Glasplatte. Hydrophob verhält sich zum Beispiel Quecksilber gegenüber Glas. Eine detailliertere Unterteilung der Hydrophilie/Hydrophobie bekommt man, wenn man sich die Angaben der Kontaktwinkelmessgerätehersteller, bzw. die in der Literatur angegebenen Werte, bezüglich der Winkeldefinitionen, zusammenstellt:

- Spreitung → Kontaktwinkel um die 0°
- superhydrophil → Kontaktwinkel kleiner 30° [31]
- superhydrophob → Kontaktwinkel zwischen 150° und 180° [31]
- ultrahydrophob → Kontaktwinkel um die 180°

So findet man unter anderem auf der Homepage [32] des Hersteller Krüss [Krüss GmbH (Hamburg, D)] die maximale und minimale Benetzbarkeit, bezeichnet als die Spreitung (Kontaktwinkel um die 0°) und den Lotuseffekt (ultrahydrophobe Oberflächen mit einem Kontaktwinkel um die 180°), welcher nach dem Prinzip des völligen natürlichen Abperlens der Wassertropfen von den Blättern der Lotuspflanze, aber auch anderen Pflanzen oder Oberflächen, benannt ist.

Veranschaulicht sind die Kontaktwinkel und Spannungen durch den sogenannten liegenden Tropfen, welcher in *Abbildung 6* als hydrophiles und hydrophobes Beispiel dargestellt wird:

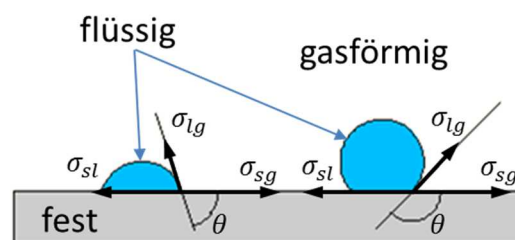


Abbildung 6: links: Wassertropfen auf einer hydrophilen Oberfläche ($0^\circ < \theta < 90^\circ$) und auf einer hydrophoben, rechts im Bild ($90^\circ < \theta < 180^\circ$).

Zur Auswertung des Kontaktwinkels sind in der Regel Goniometer-Mikroskope nötig. Dabei wird der Festkörper flach aufgelegt, und auf dessen Oberfläche ein Tropfen der Flüssigkeit gegeben. Danach kann mit dem Goniometer-Mikroskop der Kontaktwinkel bestimmt werden. [33]. Da für diese Arbeit diese Ressource nicht zur Verfügung stand, wurde anstatt der Auswertung über das Goniometer-Mikroskop die Auswertung, nach Aufnahme des dispensierten Tropfens mittels Digitalkamera, mit dem CAD-Programm AutoCAD durchgeführt. Die genaue Beschreibung zur Vorgehensweise ist in Kapitel 2.2 *Prüfmethoden zur Kontaktwinkelmessung und Benetzbarkeit von Materialien* beschrieben.

1.3 Biokompatibilität und Hämokompatibilität

Die Biokompatibilität beschreibt die Verträglichkeit von Werkstoffen mit biologischem Gewebe. Die Hämokompatibilität beschreibt die Verträglichkeit von verschiedenen Materialien in Zusammenhang mit Blut, d.h. in wie weit die Bestandteile des Blutes z.B. Erythrozyten durch die Materialien beschädigt werden. Sowohl die Biokompatibilität als auch die Hämokompatibilität sind in den harmonisierten Normen nach ISO 10993 und deren Unternormen beschrieben. Weiters werden dort die Anforderungen an Medizinprodukte und Implantate in Bezug auf Biokompatibilität festgelegt. Die Kontaktdauer zwischen Werkstoff und umliegendem Gewebe spielt hier eine wesentliche Rolle.

In Abschnitt 4 der ISO Norm 10993 wird eine Auswahl an Testmethoden zur Überprüfung der Hämokompatibilität gestellt [34].

Grundsätzlich ist die Hämokompatibilität durch die Blutreaktion definiert. Bei Kontakt des Blutes mit der Oberfläche, lagern sich Proteine an dieser an. Danach adhären Thrombozyten an diesen Proteinen. Hämokompatible Werkstoffe sollten keine Blutkoagulation, Änderung der Plasmaproteine des Blutes, oder Verringerung der Elektrolytenkonzentration hervorrufen. Für die Testung dieser Veränderungen, gibt es eine Vielzahl an in-vitro Tests. Die einfachste Möglichkeit zur Bestimmung der Hämokompatibilität ist ein Gerinnungstest. Dabei wird Blut auf die Oberfläche gebracht und die Gerinnungszeit, der Plättchenfaktor, sowie die Anzahl der Blutplättchen bestimmt [35].

Wie bereits angesprochen, sind in der ISO Norm 10993-4:2009 Tests für die Überprüfung des freien Hämoglobins beschrieben. So ist hier die Rede von 20 verschiedenen Verfahren zur Bestimmung der Hämoglobinkonzentration im Plasma oder Überstand. Diese werden wiederum durch 2 maßgebliche Verfahren analysiert - direkte optische und chemische Techniken. Bei der optischen Analyse wird der Peak der Hämoglobinextinktion bei 415, 541 und 577 nm gemessen. Bei den chemischen Bestimmungen des Hämoglobingehalts wird speziell auf die Anwendung quantitativer Bestimmungen auf der Grundlage chemischer Reaktionen mit Reagenzien abgezielt. Die Norm gibt dabei keine Vorgabe für eine Überprüfung der Hämolyse an, sondern zielt viel mehr darauf ab, dass sich der Anwender im Klaren sein muss, in wie weit die Untersuchungstechnik für die Ermittlung des Hämoglobins relevant ist [36].

Deshalb wurde eine geeignete Methode zur Bestimmung der Hämolyse, induziert durch die Werkstoffe, ausgearbeitet. Diese ist im Kapitel 2.3 *Prüfmethoden zur Hämokompatibilität der Materialien für den Kanalaufbau* detailliert beschrieben.

1.4 Physiologie und Pathophysiologie des Kaliumhaushaltes

1.4.1 Physiologie des Kaliumhaushaltes

Zwischen Zellinnerem und der extrazellulären Flüssigkeit wird eine asymmetrische Verteilung von Natrium- und Kaliumionen durch die Natrium-Kalium-Pumpe (Na^+/K^+ -ATPase) erzeugt. Dieses Konzentrationsgefälle wird unter Energieverbrauch entgegen dem natürlichen Diffusionsgefälle erzeugt. Durch die Umverteilung der positiven Ladung wird ein stätiges Membranpotential aufgebaut, welches der Fortleitung von neuronalen und muskulären Erregungen dient. Nur so sind Prozesse wie Muskelkontraktionen und Informationsaustausch zwischen Neuronen möglich. Neben der Erzeugung und Aufrechterhaltung dieses Membranpotentials, ist das Kaliumion am Erhalten des Zellvolumens, der Verwertung von Kohlenhydraten und Eiweiß, sowie der Regulation von Blutdruck und Säure-Basen-Haushalt beteiligt [19].

Kalium im menschlichen Körper:

In etwa 0,25% der Körpermasse besteht aus Kalium. Dabei kommen 90% der Kaliumionen im Körper im Inneren der Zellen vor, nur 10% sind extrazellulär, zum Beispiel im Blutplasma enthalten [37].

Normwerte:

Die Normwerte für Kalium im Blutplasma für Erwachsene sind zwischen 3,0 und 5,0 mmol/l [20], wobei im Serum um bis zu 0,5 mmol/l höhere Werte vorkommt [38]. Der Serumwert ist höher, da bei der Gerinnung des Blutes die Thrombozyten Kalium freisetzen.

Erythrozyten:

Mit einer Konzentration von 7,5 – 9,6 fmol pro Zelle [39], ergibt sich bei einer durchschnittlichen Zellenzahl von 5 Mio/ μl eine Konzentration von 83 – 106 mmol/l Hämatokrit. Im Plasma sind im Schnitt 3 - 5 mmol/l Kalium, im Mittel ergibt sich so ein berechneter Faktor von 23,6 (stimmt gut mit dem Wert aus der Literaturquelle [40] (Faktor 23) überein, ist jedoch in der Literatur [38] mit bis zu Faktor 40 angegeben. Hämolysieren bereits wenige Erythrozyten (z.B. nach Aussetzen der Natrium-Kalium-Pumpe, da die Glukose in den Zellen verbraucht ist, geschieht nach ca. 4 Stunden, oder andere Faktoren, siehe Kapitel 1.2.4 *Hämolyse und Verfälschung des Kaliumwertes durch Hämolyse*), so beeinflussen sie den Kaliumwert des Plasmas signifikant.

Leukozyten:

Obwohl Leukozyten eine hohe intrazelluläre Kaliumkonzentration von 39 – 64 fmol [39] pro Zelle aufweisen, liegt der Wert bezogen auf die Blutzellen nur zwischen 0,4 und 0,7 mmol/l, da die Zellenzahl in Bezug auf den Gesamthämatokritwert relativ gering ist (max. 10000 pro μ l Blut bei einer vorliegenden Leukozytose sogar bis zu 200.000 [38]). Werden also Leukozyten zerstört, beeinflusst das den Plasmakaliumwert im Normalfall (keine Leukozytose liegt vor) nur sehr gering.

Thrombozyten:

Der Kaliumgehalt der Thrombozyten liegt pro Zelle bei 0,7 – 1,3 fmol [39]. In einem μ l Blut befinden sich bis zu 350.000 Stück Thrombozyten (bei Thrombozytose sogar über 600.000). Daraus lässt sich eine Konzentration von 0,5 – 1 mmol/l bei einem Hämatokritwert von 45% berechnen. Daraus lässt sich eine Erhöhung des Serumkaliumwertes um bis zu 0,5 mmol/l durch Gerinnung [40] (Thrombozyten setzen dabei Kalium frei) oder aufgrund einer Zerstörung (z.B. nach langer Stehzeit des Blutes [38]) durchaus erklären.

1.4.2 Pathophysiologie des Kaliumhaushaltes

Entgleisungen des Kalium-Spiegels treten bei gestörter Aufnahme, Ausscheidung und/oder Verteilung der Kaliumionen im Körper auf. Ein Abfall des Kalium-Spiegels (Hypokaliämie) tritt bei Plasmakonzentrationen von $< 3,0$ mmol/l auf. Folgende Ursachen können dafür z.B. verantwortlich sein:

- Nephritis (Nierenentzündung)
- Akutes Nierenversagen
- Medikamentöse Behandlung durch Diuretika
- Diarrhö, Erbrechen oder Missbrauch von Abführmitteln
- Alkalose oder Insulintherapie
- Erhöhter Verbrauch od. verminderte Zufuhr von Kalium

Die dazu sich manifestierenden Symptome sind:

- Antriebslosigkeit
- Adynamie der Muskulatur
- Herzrhythmusstörungen bis hin zu Extrasystolen
- Vorhofflimmern, Kammerflimmern (sowohl Brady- als auch Tachykardie)
- Herzstillstand

Ein Kalium-Spiegel von $> 5\text{mmol/L}$, wird als Hyperkaliämie definiert und wird durch folgende Ursachen begründet:

- Verminderte Ausscheidung der Niere in Folge von Niereninsuffizienz
- Zellschädigung (z.B. Hämolyse)
- Medikamenteneinnahme (z.B. kaliumsparende Diuretika, ACE-Hemmer, β -Blocker)
- Erhöhte Kaliumzufuhr über die Nahrung, bei Niereninsuffizienz
- Azidose

Dadurch sind Symptome wie folgt möglich:

- Muskelschwäche
- Veränderung des EKGs
- Herzrhythmusstörungen
- Asystolie

Die Messung des Plasmakaliumwertes ist somit, gerade für Menschen mit den Krankheitsbildern Herz- und Niereninsuffizienz, lebensnotwendig. Ein Screening des Kaliumhaushaltes ist unumgänglich.

1.4.3 Krankheitsbilder Herz- und Niereninsuffizienz

Beim Krankheitsbild der Herzinsuffizienz ist die Herzleistung vermindert, das heißt, die Pumpleistung zur Versorgung der Organe ist vermindert. Je nachdem, welche Herzkammer betroffen ist, spricht man von rechts-, links- oder beidseitiger Herzinsuffizienz. Ursachen dafür sind akute Überlastung, Myokardinfarkt, koronare Herzerkrankung (KHK), Hypertonie, Rhythmusstörung, Kardiomyopathie, Herzfehler etc.

Die chronische Herzinsuffizienz (chronic heart failure, kurz CHF) unterscheidet sich von der akuten Herzinsuffizienz von der Zeitspanne in der diese entsteht. Sie bildet sich über längere Zeit (Monate/Jahre) aus und kann dabei durch unterschiedliche Schweregrade geprägt sein (New York Heart Association (NYHA) Stadien I-VI). In der chronischen Form der Herzinsuffizienz leiden die Menschen je nach Lokalisationsart unter folgenden Symptomen:

- Ödeme im Lungenkreislauf (linksseitige CHF)
- Stauungsödeme im Bauchbereich (Bauchhöhle und Leber) und in den Beinen (rechtsseitige CHF)
- Kurzatmigkeit
- Erschöpfungssymptomatik

- Belastung der Niere

Dadurch werden nachstehende Kompensationsmechanismen im Körper ausgelöst:

- Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (kurz RAAS) zur Flüssigkeitsretention
- Erhöhung der Sympathikusaktivität (zusätzliche RAAS-Aktivierung)
- Frank-Starling Mechanismus (Anpassung der Pumpleistung des Herzens)

Kurzfristig erfolgt so eine strukturelle Anpassung durch eine Zunahme der Schlagkraft des Herzens und dadurch bedingt daraus ein erhöhter Sauerstoffverbrauch der Muskulatur, eine Vasokonstriktion (Gefäßverengung) und eine $\text{Na}^+/\text{H}_2\text{O}$ Retention in der Niere. Daraus entsteht der „circulus virtiosus“ (Teufelskreis) der chronischen Herzinsuffizienz. Der circulus virtiosus wird durch die mehrfachen Wirkmechanismen, die sich gegenseitig beeinflussen und die Erkrankung damit aufrechterhalten bzw. verstärken (positive Rückkopplung), ausgelöst.

Um dem Voranschreiten der Erkrankung der CHF entgegenzuwirken, gibt es eine Reihe an medikamentösen Therapien:

- Diuretika → korrigieren Volumenüberlastung (wirken entwässernd)
- Angiotensin-Konversionsenzym-Hemmer (ACE-Hemmer) → Blutdrucksenker
- ATH_1 -Rezeptorblocker → Alternative zu ACE-Hemmern
- β -Adrenozeptorenblocker (β -Blocker) → verbesserte Herzauswurfleistung
- Herzwirksame Glykoside (Herzglykoside) → Regulierung des Herzens (Schlagkraft, Frequenz, Erregungsleitung, Reizschwelle) [19]

Bei der chronischen Niereninsuffizienz treten ähnliche Symptome wie bei der CHF auf und die medikamentöse Behandlung mit Diuretika wird ebenso praktiziert.

1.4.4 Bedeutung des Kaliumhaushaltes bei chronischer Herz- und Niereninsuffizienz

Herzinsuffizienz ist mit 5-10% Prävalenz der häufigste Grund für stationäre Aufenthalte in Österreich, und ist zahlenmäßig häufiger vertreten als alle Krebserkrankungen zusammen [41]. Bei der Herzinsuffizienz gibt der Hauptverband der Sozialversicherung Österreichs an, dass 250.000 Menschen in Österreich (2013) an der Krankheit leiden, wobei wiederum andere Quellen [42] von „nur“ 160.000 Personen sprechen. Schätzungsweise 2-3 Prozent der erwachsenen Weltbevölkerung leiden an Herzinsuffizienz, wobei diese bei über 26 Mio.

Menschen (2011) diagnostiziert wurde und jedes Jahr weitere 3,5 Mio. dazu kommen [43]. Alleine im Raum Europa sind nach Schätzungen 10 Millionen betroffen. Besonders in den westlichen Ländern, bedingt durch Diabetes, Bluthochdruck, aber hauptsächlich durch Arteriosklerose ist das Krankheitsbild weit verbreitet, mit steigender Tendenz, vor allem bei älteren Menschen [44]. In den westlichen Ländern der Welt fallen dabei 1-2% des Gesamtgesundheitsbudgets für Herzinsuffizienz an, wobei davon 2/3 für stationäre Rehabilitation ausgegeben werden [45]. Bei einem Gesamtbudget für Gesundheit von rund 35 Milliarden Euro (Zahlen von 2013), das ist in etwa 9 % des BIP Österreichs, belaufen sich jährlich 350-700 Millionen Euro alleine auf die Behandlung von Menschen mit Herzinsuffizienz [46]. Der Kaliumeinmalteststreifen in der Heimanwendung könnte im Hinblick auf den Therapieerfolg ein mögliches Einsparungspotential aufweisen. Bei einer Studie ergab sich eine Patientencompliance (Einhaltung, Befolgung) oder Therapietreue von nur rund 50% [47]. Wissen Patienten ihren täglichen Kaliumspiegel, so sind sie möglicherweise besser gewillt ihre Medikamente oder Ernährung dementsprechend einzuhalten. Dadurch könnten die stationären Krankenhausaufenthalte und die damit verbundenen Kosten drastisch gesenkt werden.

Es leiden weltweit 500 Mio. Menschen an einer chronischen Niereninsuffizienz [48]. In Österreich sind in etwa 700.000 Menschen davon betroffen, wobei rund 4.000 oder 0,5% dialysepflichtig sind. Die Kosten für die Behandlung dieser Patienten betragen pro Jahr und Person ca. 60.000 Euro. Rund 2 Mio. Österreicher unterliegen dem Risiko einer Niereninsuffizienz, bedingt durch Diabetes und Bluthochdruck [49] [50]. Je weiter die Nieren in ihrer Funktion beeinträchtigt werden, desto mehr steigt das Risiko für Herz- und Gefäßerkrankungen.

Der Kaliumgehalt im Blut ist ein lebensnotwendiger Parameter, insbesondere für Menschen, bei denen eine chronische Herz- oder Niereninsuffizienz diagnostiziert wurde. Da die Überwachung des K^+ -Plasmaspiegels zum jetzigen Zeitpunkt nur mittels aufwendiger Analytik und Blutabnahme von großen Blutvolumina durch geschultes medizinisches Personal stattfinden kann, ist das K^+ -Monitoring für den Patienten mit hohem Aufwand und in unregelmäßigen Zeitabständen möglich.

Die Motivation zu einer Entwicklung eines Einmalteststreifens, für eine Kaliummessung als Heimanwendung, ist somit sehr hoch. Das Problem, dass der Patient sich beim Arzt eine hohe Blutmenge abnehmen lassen muss und die damit verknüpfte Hämolyse, die durch Fehler bei der venösen Blutabnahme gesteigert sein kann (siehe Kapitel *1.2.4 Hämolyse und Verfälschung des Kaliumwertes durch Hämolyse*), würden durch das Home Monitoring

System eliminiert werden. Bei täglicher Messung könnte somit einerseits die Einnahme der Medikamente nachgewiesen und die Wirkung beobachtet werden, andererseits die Dosierung angepasst werden. Der Arzt kann die Dosierung gemäß der aufgezeichneten Werte einstellen, resultierend daraus sind weniger häufige Krankenhausaufenthalte notwendig und damit verbundene hohe Kosten könnten gesenkt werden.

1.5 Aufbau des Kaliumsenors mittels Siebdruck

Der Kaliumsensor wird als ionenselektive Elektrode (ISE) aufgebaut und die Messung erfolgt elektrochemisch nach der Nernstgleichung. Der Kaliumsensor wird mittels Siebdruck hergestellt. Auf eine Polyethylenterephthalat-Trägerfolie (PET-Trägerfolie) mit der Bezeichnung Mylar® Elektroisolierfolie [Dr. Dietrich Müller GmbH (Alhorn, D)], in der weiteren Arbeit auch als Sheets oder Substrat bezeichnet, wird der Sensor durch verschiedene Siebdruckpasten in Schichten nach einander aufgedruckt. Das Substrat hat eine Dicke von 0,3 mm und ist als Rolle mit einer Länge von 100 m und 20 cm Breite erhältlich. Der Basis Sensor weist eine Länge von 25 mm und eine Breite von 7 mm auf. So können über 6 Reihen mit jeweils 20 Sensoren auf einmal 120 Sensoren gedruckt werden.

Beim Siebdruckverfahren wird durch eine Schablone, die auf einem feinmaschigen Gewebe aufgebracht ist, Farbe bzw. Paste auf das Substrat aufgetragen. Das Sieb wird dabei in einem speziellen Verfahren von einer externen Firma bedruckt (ähnlich dem Fotoentwickeln), wobei für das gewünschte Druckbild die Lochstruktur des Siebes offen bleibt.

Der Vorgang zur Bedruckung des Substrates läuft grundsätzlich folgendermaßen ab:

- Im ersten Schritt wird die Siebdruckpaste mit dem Flutrakel gleichmäßig auf dem Sieb aufgetragen.
- Im zweiten Schritt wird diese dann mit dem Druckrakel durch das Sieb gleichmäßig auf das Substrat gedruckt.

Nach der Bedruckung muss das Substrat mit der aufgetragenen Schicht im Trockenschrank bei 85°C bzw. 90°C und 1 Stunde, respektive 30 Minuten verbleiben, je nach aufgetragener Schicht, bevor eine weitere aufgetragen werden kann.

Zur Erstellung eines Mikrokanals für den Transport von Blut/Plasma durch den Siebdruck, war eine Änderung des bestehenden Teststreifen-Designs (Basis Design) notwendig. Dieses wurde im Zuge dieser Arbeit durchgeführt.

1.6 Ziele der Arbeit

Bis dato gibt es keine POC-Diagnostik bei der Kalium, aus kleinsten Mengen (einem Tropfen) menschlichen Kapillarblutes, in der Heimanwendung gemessen werden kann. In dieser Arbeit wird der Kaliumeinmalteststreifen für das Home-Monitoring so entwickelt, dass eine Hämolyseerkennung im extrahierten Plasma möglich ist. Deshalb ist als generelles Ziel, die Plasmaseparation aus Vollblut und der Weitertransport des Plasmas zu den Messelektroden, zu sehen. Der Prozess soll dabei nicht länger als 2 Minuten dauern.

2 Kernbereiche sind dabei zu untersuchen:

1. Hämolysefreie Blut/Plasmaseparation mittels Plasmaseparationsmembran
2. Transport des Plasmas in einem mikrofluidischem Kanal (Mikrokanal) zu den Messelektroden

Für die Blut/Plasmaseparation ist dabei eine Plasmaseparationsmembran durch eine gezielte Produktsuche zu finden, die eine hämolysefreie Filtration gewährleistet und ein Ansaugen des extrahierten Plasmas in den Mikrokanal zulässt.

Der Mikrokanal ist aus Materialien zu wählen, die eine hohe Benetzbarkeit für Plasma/Blut aufweisen und somit eine hohe Kapillarwirkung aufweisen. Dies wird über eine Kontaktwinkelmessung bewerkstelligt. Weiters dürfen die Materialien keine zusätzliche Hämolyse bewirken, d.h. sie müssen eine hohe Hämokompatibilität aufweisen. Mit einem Hämoglobin Messgerät wird dies überprüft. Das Design ist so zu wählen, dass eine die Hämolyseerkennung im Nachhinein (durch marginale Änderungen) auf dem Einmalteststreifen platziert werden kann. Außerdem ist ein möglichst leichtes bzw. schnelles Ansaugen des Plasmas aus dem Filter erforderlich.

Aufgrund dieser Randbedingungen soll schließlich ein Design für den siebgeruckten Teststreifen entwickelt werden, welcher durch den Mikrofilter und den Mikrokanal optimal mit Plasma versorgt wird. Weiters soll eine Fertigungsmethode für den Kanalaufbau gefunden werden, bei der die Reproduzierbarkeit der Kanalgeometrie ausreichend (Toleranz für Kanalbreite und Kanalhöhe von $\pm 10\%$) hoch ist.

2 Materialien und Methoden

In diesem Kapitel werden die zugrunde liegenden Methoden beschrieben, die für die Ergebnisführung ausschlaggebend waren. Zunächst werden für diese Arbeit relevante Herstellungstechniken von Mikrokanälen geschildert, danach wird auf die in dieser Arbeit angewendeten Herstellungstechniken weiter eingegangen. Da der Kanalaufbau mit den Isolierpasten durch Siebdruck als primäre Variante gedacht war, sind im Kapitel 2.5 *Kanalwände aus Isolierpasten* die dazu aufgeführten Prüfmethode beschrieben.

Zuvor sind jedoch die Prüfmethode zur Kontaktwinkelmessung und der Hämokompatibilität aller verwendeten Materialien in Kapitel 2.2 *Prüfmethode zur Kontaktwinkelmessung und Benetzbarkeit von Materialien* und 2.3 *Prüfmethode zur Hämokompatibilität der Materialien für den Kanalaufbau* beschrieben.

In Kapitel 2.4 *Mikrofilter in der Anwendung zur Plasmaseparation*, bei dem die Mikrofilter, welche durch eine gezielte Produktsuche bezogen wurden, durch verschiedenen Auswahlkriterien auf deren Plasmaseparationsvermögen und Hämokompatibilität untersucht wurden.

Im Kapitel 2.6 *Prüfmethode zu den Kanalsaugeigenschaften* sind jegliche aufgebaute Kanäle auf deren Sauwirkung untersucht worden.

Der finale Aufbau des Mikrokanals wurde durch die Herstellungstechnik mit doppelseitigem Klebeband realisiert, da dieser deutlich bessere Ergebnisse zeigte und auch um vieles einfacher zu gestalten ist (2.1.3 *Doppelseitiges Klebeband als Kanalwände*). In Kapitel 2.7 *Finales Design des Einmalteststreifen in Autodesk AutoCAD (2D) und Inventor (3D)*, ist das für den Einmalteststreifen veränderte Sensordesign als 2-Elektrodensystem angeführt. (Das Basisdesign (mit diesem wurde die Sensorchemie entwickelt) war ein 3 Elektrodensystem und basierte auf einem Glukosemessstreifen aus dem Jahr 2011).

Im Kapitel (2.7.1 *Finaler Aufbau des Einmalteststreifens*) ist der Aufbau des finalen Sensordesigns und der dazu entwickelte Einmalteststreifen mit Plasmaseparationsmembran näher beschrieben.

2.1 Herstellungstechniken von Mikrokanälen

Jene Herstellungstechniken von Mikrokanälen, welche sowohl am JR, als auch auf der Technischen Universität Graz realisierbar waren, d.h. die Ressourcen bzw. das Material sind vorhanden oder müssen durch geringen Aufwand beschafft werden, werden in den folgende Kapiteln beschrieben und auf Durchführbarkeit überprüft.

2.1.1 COC-Kunststoff als Kanalwand

Die erste Überlegung zur Herstellung des Mikrokanals wurde mit dem Kunststoff Cyclo-Olefin-Copolymer (COC) gemacht, dessen gebräuchlicherer Name Topas[®] ist. Topas[®] ist als Granulat am Rohstoffmarkt verfügbar und weist eine hohe Biokompatibilität auf [51]. Die Herstellerfirma [TOPAS Advanced Polymers GmbH (Frankfurt-Höchst, D)] stellte Topas[®] Platten als Muster zur Verfügung. In diese wurden Mikrokanäle gefräst. Da das Material laut Hersteller nur mit Luft gekühlt werden darf und dadurch der Wärmeabtransport deutlich geringer ist als mit Flüssigkühlmitteln, ergaben sich Kanäle mit geschmolzenen Fräswänden bzw. -kanten. Diese waren in der Anwendung als Mikrokanäle unbrauchbar. Außerdem zeigt COC mit einem Kontaktwinkel von 83° zu Blut und 91° zu destilliertem Wasser eine sehr schlechte Hydrophilie auf. Um das Material verwenden zu können müsste eine Spritzgussanlage gekauft, oder eine externe Vergabe gemacht werden, wobei beide Möglichkeiten sehr teuer sind und deshalb nicht angestrebt wurden. Somit wurde diese Fertigungsmethode verworfen.

2.1.2 Kanalwände aus Isolierpaste

Die Herstellung der Mikrokanäle mit den Isolierpasten ist, da dies mit der Siebdruckanlage durchgeführt werden kann, als primäre Variante zum Kanalaufbau, eine einfache und kostengünstige Option, welche als Prototyp getestet wurde. Zunächst wurden circa 20 cm x 12cm große Stücke aus der Elektroisierfolie Mylar[®], im weiteren auch PET-Trägerfolien bezeichnet, zugeschnitten, mit Aceton gereinigt und bei 90°C für 30 Minuten in den Trockenschrank gelegt. Dies hat ein Begradigen der Trägerfolie zur Folge, da diese aufgerollt zur Verfügung stand. Schließlich wurden die flachen PET-Folien jeweils 4-mal mit 1 mm breiten und 18 cm langen Klebefilmen, im Abstand von 2 cm, beklebt. Diese Beklebungen dienten als „Platzhalter“ für die Mikrokanäle. Zunächst wurden die Isolierpasten (SD 2462 NB von Fa. Peters bzw. 5036 von DuPont) mit dem sogenannten 8-Schichtrakel (0,5 – 6 mil) [BYK-Chemie GmbH (Wesel, D)] mit einer Höhe von 2 mil ($\approx 50,8 \mu\text{m}$, entspricht in etwa der Höhe der Klebestreifen) auf die Trägerfolie aufgebracht. Die Klebestreifen wurden daraufhin entfernt und die Trägerfolie mit den so entstandenen Kanälen in den

Isolierpasten bei 90°C für 30 Minuten ausgehärtet. Eine Deckelung der Kanäle mit einem Klebefilm beendet den Herstellprozess.

Durch den händischen Auftrag der Kanalwände mit der Isolierpaste ist grundsätzlich keine hohe Reproduzierbarkeit der Kanalhöhen zu erwarten. Deshalb mussten die erstellten Kanalwände auf deren Höhe durch die Schichtdickenmessung (siehe Kapitel 2.5.2 *Prüfmethoden zur Schichtdickenmessung*) bestimmt werden. Im speziellen spielt hier die Viskosität (siehe Kapitel 2.5 *Kanalwände aus Isolierpasten*) und der Schrumpf (Schwund) (siehe Kapitel 2.5.4 *Prüfmethoden zur Schrumpfmessung der Isolierpasten*) der Paste eine Rolle.

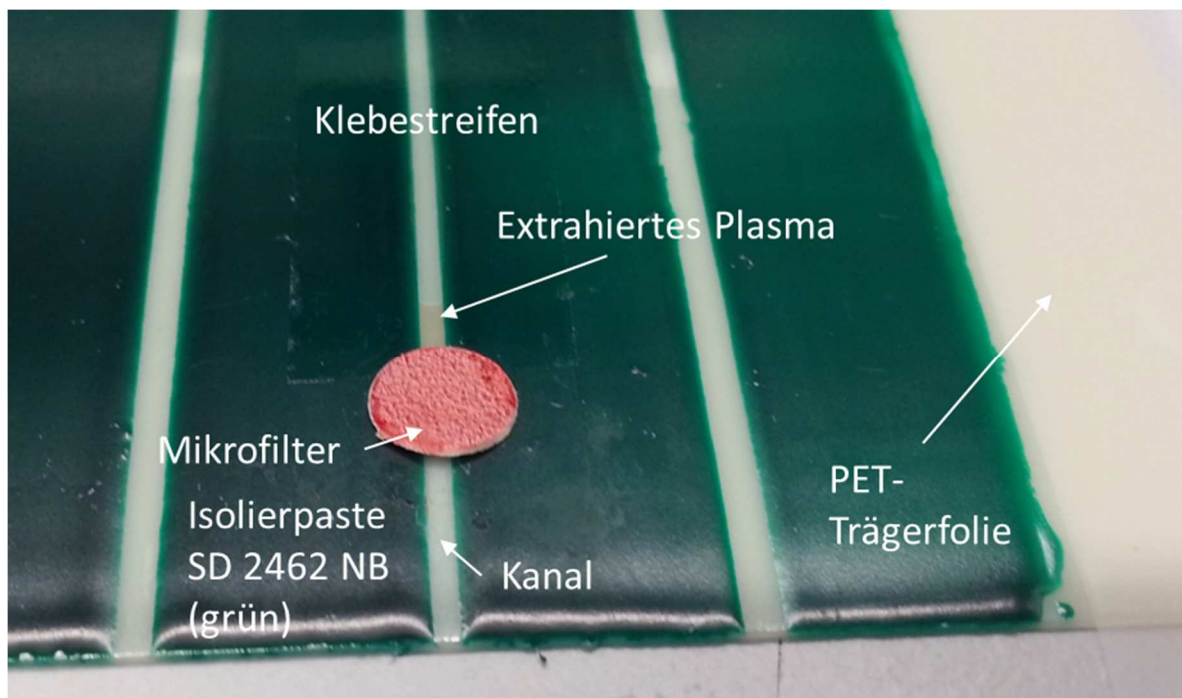


Abbildung 7: Kanäle auf PET-Trägerfolie geformt aus Isolierpaste SD 2462 NB. Der mittlere Kanal ist mit einem Klebestreifen gedeckelt (office discount Klebefilm). Darüber wurde eine Plasmaseparationsmembran (Vivid GR) zur Mikrofiltration des Blutes fixiert. Das extrahierte Plasma ist mit einer leichten Gelbfärbung im Kanal direkt nach dem Filter sichtbar.

2.1.3 Doppelseitiges Klebeband als Kanalwände

Abhilfe für die Deckelung der mit Isolierpaste konstruierten Kanäle schaffte ein hierfür eigens entwickeltes Tesa Produkt. Die sogenannten Tesa Spacer Tapes und Hydrophilic Folien von Tesa, sind speziell für den „In Vitro Diagnostik-Markt“ (IVD-Markt) entwickelte PET-Folien. Das Tesa Spacer Tape ist ein doppelseitiges Klebeband (Klebefolie), bestehend aus einem PET-Kern, welcher variabel bestellbar ist mit Schichtdicken zwischen 6 und 125 µm und den Klebefilmen jeweils darüber bzw. darunter. Es besteht aus einem Reinacrylat-Klebstoff und kann mit Schichtdicken von 15, 25 oder 35 µm bestellt werden.

Gedeckelt werden die Mikrokanäle, bei denen das Spacer Tape als Kanalwand dient, mit der Hydrophilic Folie, welche einen Kontaktwinkel zu Wasser von $< 30^\circ$ laut Hersteller aufweisen. Diese Folie ist durchsichtig und ermöglicht ein Beobachten der Saugwirkung von Flüssigkeiten in den zusammengesetzten Kanälen. In dieser Arbeit wurde ein Kontaktwinkel zu Wasser bei $n = 5$ von $(21,0 \pm 2,5)^\circ$ gemessen. *Abbildung 8* zeigt die modulare Auswahlmöglichkeiten des Tesa Spacer Tapes, *Abbildung 9* den Mikrokanalaufbau mit diesem Material.

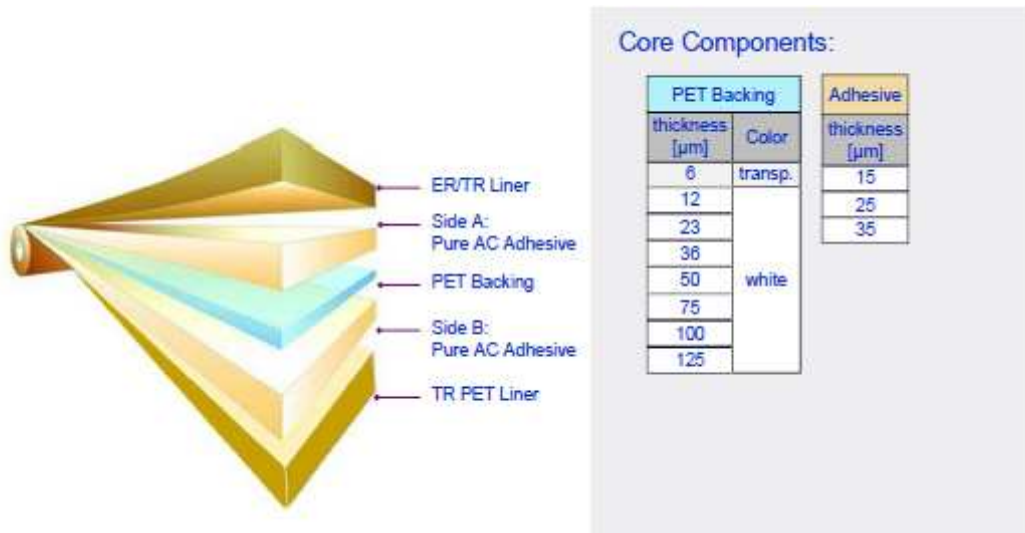


Abbildung 8: Modulare Auswahlmöglichkeiten des Tesa Spacer Tapes mit Schichtdicken von 6 – 125 μm.

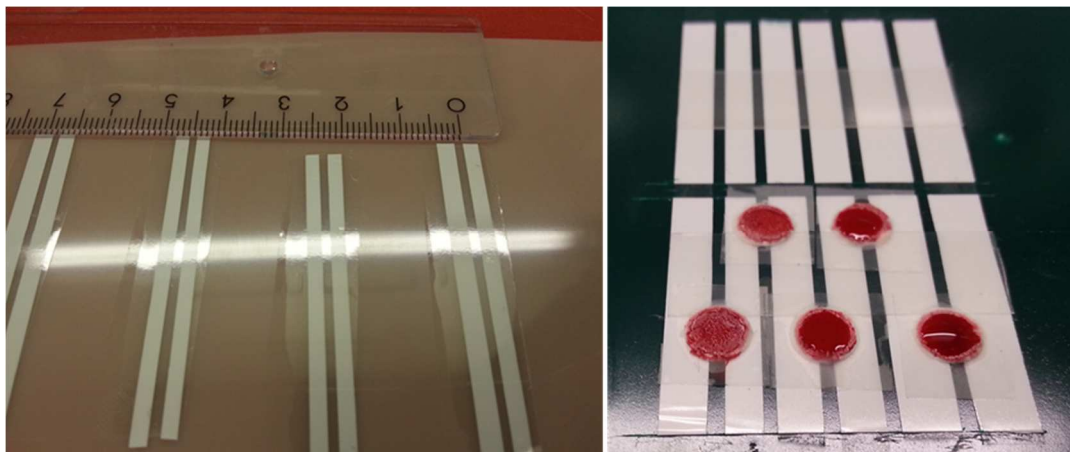


Abbildung 9: 50 μm hohe Kanalaufbauten mit dem Spacer Tape gedeckelt mit der Hydrophilic Folie von Tesa. Im linken Bild sind die Kanäle für die Saugenschaften auf dem Substrat (PET-Trägerfolie) abgebildet, im rechten Bild sind Kanäle auf der Isolierpaste SD 2462 NB aufgeklebt. Sie sind mit den Plasmaseparationsmembranen $d = 5\text{mm}$ Vivid GR von Pall ausgestattet welche mit dem hydrophobem Klebeband (hier ist ein Loch mit $d = 4\text{mm}$ zur Blutdispensierung in das Klebeband gestanzt) Scotch Magic 3M fixiert sind.

2.1.4 Aufbau der Mikrokanäle aus Kombination der Isolierpaste SD 2462 NB und des Tesa Spacer Tapes

Eine weitere Option zur Realisierung der Kanalwände war die Kombination der Isolierpaste SD 2462 NB auf der PET-Trägerfolie und darüber das Tesa Spacer Tape, gedeckelt mit der hydrophilen Folie, wie in *Abbildung 10* dargestellt. Sie wurde aufgrund einer deutlich höheren Mikrokanalhöhe von $(122,03 \pm 9,85) \mu\text{m}$ als Variante für ein mögliche Blockade des Plasmaflusses durch die ISE (durch die Höhe der ISE erfolgt eine so große Verengung, dass kein Plasma mehr passieren kann) im Mikrokanal untersucht. Dabei haben jedoch nur 50% der aufgebauten Teststreifen das Plasma, welches durch die Plasmaseparationsmembran extrahiert wurde, gezogen.

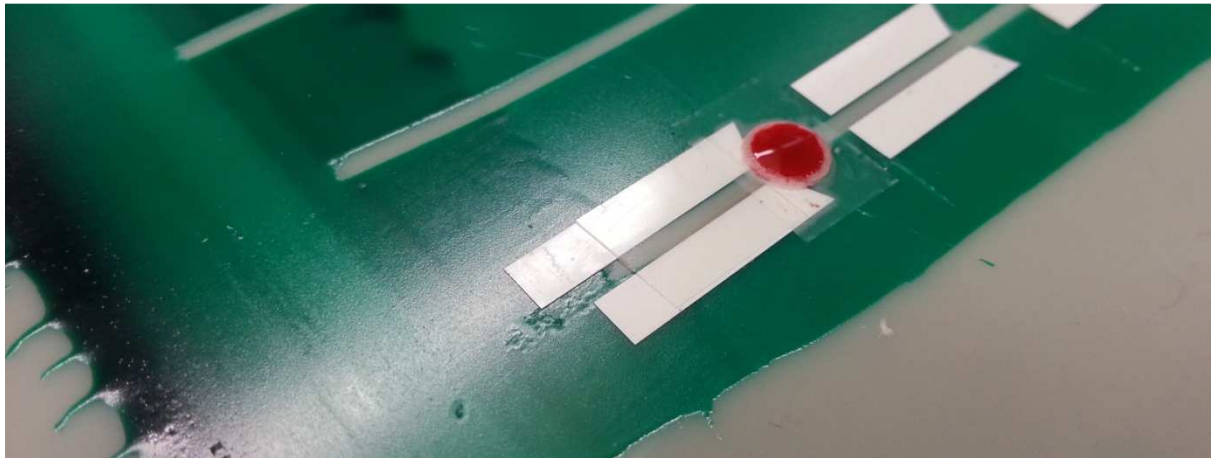


Abbildung 10: Kanalkombination aus der Isolierpaste SD 2462 NB und des Tesa Spacer Tapes gedeckelt mit der Hydrophilic Folie von Tesa. Bei einer durchschnittlichen Kanalhöhe von $(122,03 \pm 9,85) \mu\text{m}$, welche mit dem digitalen Mikroskop VHX vermessen wurde und der eher hydrophoben PET-Trägerfolie als Substrat, hat ein Einsaugen des Plasmatropfens, gefiltert mit der Pall Vivid GR, in den Kanal nur zu 50% (siehe 3.5.4 *Ergebnisse der Mikrokanalkombination aus SD 2462 NB und Tesa Spacer Tape mit der PET-Trägerfolie*) funktioniert.

2.1.5 Aufbau des Mikrokanals auf abgeschliffener Isolierpaste SD 2462 NB und dem Basis Sensor

Da die Kanäle mit der PET-Trägerfolie als Substrat hohe Saugzeiten aufwiesen (Saugzeit von $(83,60 \pm 20,43)$ s über 50 mm), wurde die eher hydrophile (Kontaktwinkel von $(70,0 \pm 2,2)^\circ$ zu Wasser und $(63,8 \pm 3,5)^\circ$ zu Blut) Isolierpaste SD 2462 NB als Substrat herangezogen. Untersuchungen der Kanalsaugeigenschaften auf der abgeschliffenen Isolierpaste, siehe Kapitel 3.5.5 *Ergebnisse der Mikrokanäle mit optimierter Oberflächenbeschaffenheit der Isolierpaste SD 2462 NB und dem Basissensordesign* haben gezeigt, dass ein Separieren, Einsaugen und Transportieren des Plasmas zum Zielort (Elektroden) zu 100% erfolgreich war. Hierbei wurde die Oberfläche der Isolierpaste wie in Kapitel 2.5.3 *Optimierung der Oberflächenbeschaffenheit der Isolierpaste SD 2462 NB* behandelt.

In *Abbildung 11* ist ein Mikrokanal mit Plasmaseparationsmembran auf dem Basis Sensor Design zu sehen.



Abbildung 11: Basis Sensor Design mit aufgebautem Mikrokanal aus Tesa Spacer Tape, Tesa hydrophilic Folie, Plasmaseparationsmembran Pall Vivid GR, fixiert mit dem hydrophoben Klebeband Scotch Magic 3M. Der Kanal ist mit reinem Plasma vollgezogen. Dispensiert wurde auf der Membran ein 10 μ l großer Tropfen Blut aus der Fingerbeere.

2.2 Prüfmethoden zur Kontaktwinkelmessung und Benetzbarkeit von Materialien

Verwendete Geräte und Materialien:

- Mylar® Elektroisierfolie [Dr. Dietrich Müller GmbH (Alhorn, D)]
- Isolierpaste 5036 [E.I. Du Pont de Nemours and Company, kurz DuPont (Wilmington, USA)]
- Isolierpaste SD 2462 NB [Lackwerke Peters GmbH & Co. KG (Kempten, D)]
- Spacer Tape [Tesa SE, (Norderstedt, D)]
- Hydrophilic Folie [Tesa SE, (Norderstedt, D)]
- Scotch Magic 3M [3M Corporation (St. Paul, USA)]
- Office discount Klebefilm [office discount GmbH (Salzburg, A)]
- Diverse Klebebänder
 - Tesa 04024 PP Packband transparent, 50 mm x 66 m
 - Tesa 04287 PP-Träger, Kautschukmasse transparent 50 mm x 66 m
 - Tesa 51134 PE Surface Protection, Acrylat farblos, 75 mm x 100 m
 - Tesa 04104 PVC-Träger, Naturkautschuk, transparent, 19 mm x 66 m
 - Tesa 04967 doppelseitiges Klebeband, farblos 19 mm x 50 m, rote Deckfolie
 - Tesa 04972 doppelseitiges Klebeband, Polyesterfolie, mod. Acrylat, transparent, gelbe Deckfolie
- Diverse Mikrofilter
 - Merckmillipore RNWP02500
 - Sartorius
 - PP3 50502
 - Sartoclean 56004E
 - Sefar Medifab 07-5/1
 - Membrane Solutions SPGFD810270N, SPGFD810160N
 - Cobetter filtration HD1.2B, HD1.8B
 - GE (General Electric)
 - Whatman Cyclopore PC
 - Whatman Nucleopore
 - Whatman ME 27 Membrane Filters
 - Whatman Membrane Circles
 - Whatman Nylone Membrane Filters
 - Pall Vvid GR

- Destilliertes Wasser
- Venöses menschliches Frischblut
- Digitalkamera Sony Nexus 5R [Sony Corporation, (Tokyo, J)]
- AutoCAD 2010 [Autodesk Inc., (Mill Vally, USA)]

Für die Kontaktwinkelmessungen nach dem Prinzip des „Liegenden Tropfens“ [33], beschrieben in Kapitel 1.2.5.4 *Benetzbarkeit und Kontaktwinkel*, wurden die oben genannten Materialien auf deren Hydrophilie überprüft. Dabei wurden sowohl Substrate, als auch Kanalwände, Klebebänder zur Deckelung, oder Mikrofilter und deren Fixiermöglichkeiten, also alle Materialien, die zur Anwendung am Einmal-Teststreifen in Frage kamen, auf deren Benetzbarkeit durch Dispensieren eines 10 µl großen Tropfens destilliertem Wasser bzw. Blut getestet. Die Winkelmessung wurde nicht, wie üblich, mit einem Goniometer durchgeführt. Die benetzten Materialien wurden von der Seite, auf Tropfenhöhe innerhalb von 10 Sekunden (um einen möglichst gleichbleibenden Kontaktwinkel messen zu können) nach Dispensieren der Flüssigkeiten auf die Oberfläche, mit der Digitalkamera Sony Nexus 5R abfotografiert. Der Kontaktwinkel wurde danach am Computer in der Aufnahme visuell herausgemessen. Dazu wurden die Fotos ins AutoCAD 2010 importiert und mit der Winkelbemaßungsfunktion nach Zeichnen der horizontalen Gerade und der Tangente, welche sich im Tripelpunkt schneiden und durch welche der Kontaktwinkel eingeschlossen wird, bemaßt. Für die Verwendung der Materialien war nicht ein möglichst genauer Kontaktwinkel von Bedeutung, sondern eine Beurteilung der Materialien hinsichtlich auf eher hydrophile oder hydrophobe Oberflächeneigenschaften in Bezug auf Blut. Wasser wurde deshalb mit untersucht, da Kontaktwinkeldaten zwischen Blut und diversen Materialien eher rar sind und Blutplasma sehr ähnliche Eigenschaften wie Wasser aufweist (da es zu 90% aus Wasser besteht). In Bezug auf Wasser gibt es einige Daten, die als Überprüfungswerte zu den gemessenen Werten herangezogen werden können.

2.3 Prüfmethoden zur Hämokompatibilität der Materialien für den Kanalaufbau

Verwendete Geräte und Materialien:

- Mylar® Elektroisierfolie [Dr. Dietrich Müller GmbH (Alhorn, D)]
- Isolierpaste 5036 [E.I. Du Pont de Nemours and Company, kurz DuPont (Wilmington, USA)]
- Isolierpaste SD 2462 NB [Lackwerke Peters GmbH & Co. KG (Kempten, D)]
- Office discount Klebefilm [office discount GmbH (Salzburg, A)]
- Venöses menschliches Frischblut
- HemoCue Plasma / LowHb [HemoCue AB (Ängelholm, S)]
- Zentrifuge IKA mini G [IKA-Werke GmbH & CO. KG (Staufen, D)]
- 1000 µl und 20 µl Eppendorf Research Plus Pipettierer [Eppendorf AG (Hamburg, D)]

Als Messgröße zur Beurteilung der Hämokompatibilität von eingesetzten Materialien für den Kanalaufbau, wurde der Hämolysegrad definiert. Die Bestimmung des Hämolysegrades wurde durch das freie Hämoglobin, welches mit dem HemoCue Plasma / LowHb messbar ist, festgelegt. Dabei wurde die Kontaktmessung zum Material mit der Referenzmessung verglichen. Bei beiden Messungen wird das Plasma welches zuvor aus menschlichem venösem Blut abzentrifugiert worden ist, auf den Hämoglobingehalt gemessen. Zunächst wurde aus 200 µl Blut, der freie Hämoglobingehalt ohne Kontakt zu jeglichen Materialien als Referenzwert bestimmt. Daraufhin wurden 200 µl Vollblut auf die Prüfoberflächen dispensiert und nach zwanzig Sekunden Kontaktdauer, respektive 2 Minuten wieder abgesaugt und im Zentrifugenröhrchen gesammelt. Diese Zeiten wurden als kürzeste bzw. längste Zeit zwischen Erstkontakt des Blutes mit den getesteten Materialien und maximal erlaubter Messdauer definiert. Eine Messung des Kaliumwertes ist in unter 20 Sekunden aufgrund der Trägheit der Blutplasmaseparation und des Transportes bis hin zu den Elektroden kaum möglich. Die Randbedingung von 2 Minuten ist eine Vorgabe von JR. Es ist jene maximal erlaubte Zeit, in der alle Prozesse, vom Dispensieren des Blutes bis hin zur Messung der Kaliumkonzentration im separierten Plasma, abgeschlossen sein müssen.

Nach Kontaktdauer des Blutes mit den Materialien, wurde dieses 2 Minuten lang bei 6000 U/min mit dem der Zentrifuge IKA mini G zentrifugiert. Schließlich wurden 20 µl des erhaltenen Plasmas auf den Hämoglobingehalt geprüft. Dabei werden die in der Probe enthaltenen Erythrozyten durch das in den Mikroküvetten enthaltene Natriumdesoxycholat

(sekundäre Gallensäure) lysiert, und im Plasma das freie Hämoglobin durch Messung des Peaks bei 570 nm optisch ermittelt.

2.3.1 Überprüfung der Kanalkombinationen auf Hämolyse

Verwendete Geräte und Materialien:

- Mylar® Elektroisierfolie [Dr. Dietrich Müller GmbH (Alhorn, D)]
- Isolierpaste 5036 [E.I. Du Pont de Nemours and Company, kurz DuPont (Wilmington, USA)]
- Isolierpaste SD 2462 NB [Lackwerke Peters GmbH & Co. KG (Kempten, D)]
- UV-Kleber Loctite 4306 (Henkel AG & Co. KGaA [Düsseldorf, D])
- UV-Station Blue Wave 50 (Dymax Corporation [Torrington, USA])
- Kendall Monoject 10 ml Einmalspritze [Medtronic plc (Dublin, IRL)]
- Neodent 25G Kanüle 0,52 x 42 mm Institut [Straumann AG (Basel, CH)]
- Schlauch Tygon® S-50-HL [Saint-Gobain (Paris, F)]
- Peristaltikpumpe MPP 102 [Joanneum Research Forschungs GmbH (Graz, A)]

Die Kanäle wurden nach der Methode beschrieben in Kapitel 2.1.2 *Kanalwände* hergestellt. Da die Einzelmaterialien keine Hämolyse bewirkt haben, kann davon ausgegangen werden, dass sie in Kombination ebenso keine Hämolyse verursachen. Dennoch wurde dieser Sachverhalt überprüft, um eine vollständige Aussage darüber machen zu können. Dabei wurden die Kanäle wie folgt aufgebaut:

1. Mikrokanal-Kombination:

1. PET Trägerfolie
2. Kanalwand aus Isolierpaste SD 2462 NB
3. Deckelung mit Office discount Klebeband

2. Mikrokanal-Kombination:

1. PET Trägerfolie
2. Kanalwand aus Isolierpaste DuPont 5036
3. Deckelung mit Office discount Klebeband

Zunächst wurde mit einer Kendall Monoject 10 ml Einmalspritze Blut manuell über die Kanäle gezogen. Dabei wurde die Kanüle 0,52 x 42 mm Neodent 25G fest und luftdicht mit

dem Ende des Mikrokanals mit dem UV-Kleber Loctite 4306 und der UV-Station Blue Wave 50 verklebt, siehe *Abbildung 12*, linkes Bild. Danach wurde Blut auf den Kanaleinlass dispensiert. Die Einmalspritze wurde durch den Kanal mit Blut befüllt. Das abgesaugt Blut wurde zentrifugiert, das so gewonnene Plasma auf eine Veränderung des freien Hämoglobins gemessen. Da eine große Abweichung der Messwerte zu den Referenzwerten festgestellt wurde, die Materialien für sich aber keine Hämolyse zeigten, wurde die scharfkantige Kanüle als Ursache für das Aufplatzen der Erythrozyten vermutet. Deshalb wurde die 2. Mikrokanal-Kombination nicht getestet, sondern die Methode der Absaugung verändert. Statt der Kanüle wurde der Schlauch Tygon® S-50-HL in den Kanal gelegt und mit UV-Kleber luftdicht verschlossen. Der Schlauch weist Biokompatibilität nach ISO 10993 auf und ist speziell für den Kontakt mit Blut geeignet (keine Hämolyse). Dazu wurde die Peristaltikpumpe MPP 102 mit 30 $\mu\text{l}/\text{min}$ im Saugbetrieb an den Schlauch angeschlossen. Durch diese Anwendung wurde die Hämolyse deutlich reduziert und die vermutete Induktion der Hämolyse durch die scharfkantige Kanüle konnte bestätigt werden. Die Ergebnisse der Überprüfungen sind in Kapitel 3.2 *Ergebnisse* in *Tabelle 6* dargestellt.

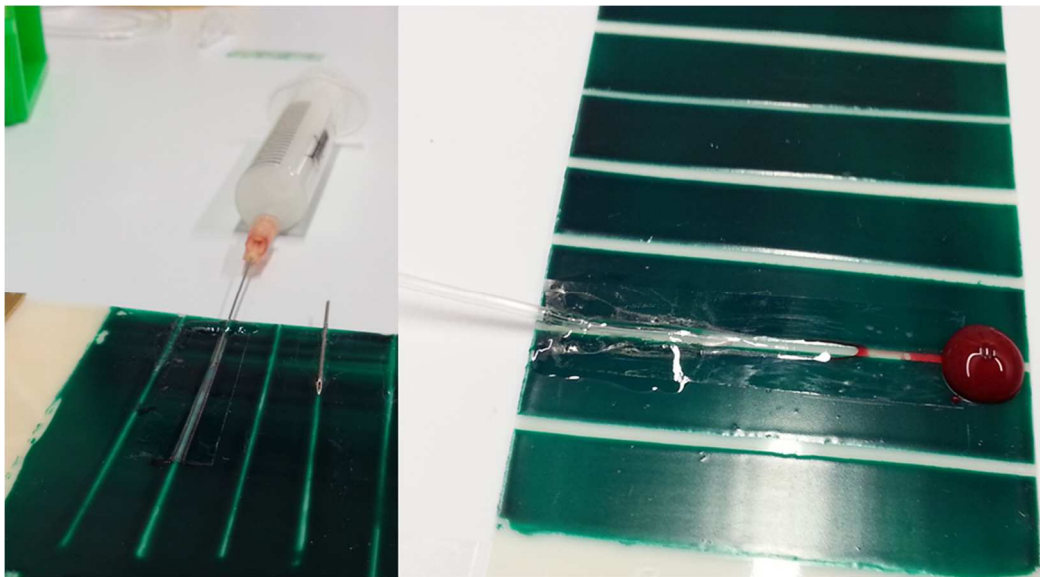


Abbildung 12: Überprüfung der Kanalkombinationen auf Hämokompatibilität. Links im Bild die 1. Mikrokanalkombination mit der 10 ml Einmalspritze und der Kanüle zur Beförderung und Absaugung des Blutes durch den Kanal. Rechts im Bild: Absaugung ohne scharfkantige Kanüle, ebenso auf der 1. Mikrokanalkombination, mit dem biokompatiblen Schlauch Tygon® S-50-HL und der Pumpe MPP 102, mit 10 $\mu\text{l}/\text{min}$.

2.4 Mikrofilter in der Anwendung zur Plasmaseparation

Da eine Plasmareinheit von ~100% als primäre Forderung zu sehen ist, können viele der in Kapitel 1.1.2 *Plasmaseparation* beschriebenen Trennmethode gestrichen werden. Als Separationsmethoden wurden eine passive Trennmethode und auch ein passiver „fluidischer Transport“ gewählt. Eine passive Trennmethode erfordert einen wesentlich geringeren technischen Aufwand, ist demnach weniger anfällig auf technisches Gebrechen, zudem platzsparender und vor allem kostengünstiger hinsichtlich anderen gängigen Plasmaseparationsmethoden. Außerdem ersetzt die Kapillarwirkung bei geeigneter Auslegung eine aktive Pumpe. Als Separationsmethode wurde aus diesen Gründen, eine der einfachsten, aber gerade für die POC-Diagnostik, eine wesentliche Mikrofiltrationsmethode, wie in Kapitel 1.1.2.3 *Mikrofiltration im Dead-End-Betrieb* erläutert, ausgewählt. Dazu mussten passende Filter mit den Eigenschaften, wie in Kapitel 1.1.2.2 *Plasmaseparationsmembran* angeführt, über eine Produktsuche ausfindig gemacht und bestellt werden.

2.4.1 Produktsuche für Plasmaseparationsmembranen (Mikrofilter)

Bei der Produktsuche für Mikrofilter in der Anwendung als Plasmaseparationsmembrane wurde das Hauptaugenmerk, auf speziell für die Anwendung der Erythrozytenabtrennung hergestellten Filter, gelegt. Nachdem der Markt für diesen Bereich sehr überschaubar ist, wurde dieser auch auf Mikrofilter, welche nicht unbedingt vom Hersteller als Blut/Plasma-Filter ausgeschrieben war, erweitert. Auswahlkriterien hierbei waren primär die Porengröße und das Material, aus welchem die Mikrofilter aufgebaut sind. So wurden Porengrößen zwischen 0,5 und 3 µm präferiert. Bei der Materialwahl war ein möglichst breit gefächertes Ensemble gefragt. Unterschiedliche Materialien geben Aufschluss auf Anwendbarkeit und Verträglichkeit in Zusammenhang mit menschlichem Blut. So können für weitere Forschungen wichtige Informationen gesammelt werden. Die bei der Produktsuche ausfindig gemachten Mikrofilter sind in *Tabelle 1* aufgelistet.

2.4.2 Mikrofilterauswahlkriterien nach Produktsuche

Die Verwendbarkeit der Mikrofilter von diversen Herstellern wurde nach einer Ja/Nein-Matrix durch Eintreffen bzw. Ausbleiben der Auswahlkriterien wie in nachfolgender *Abbildung 17* abgearbeitet:

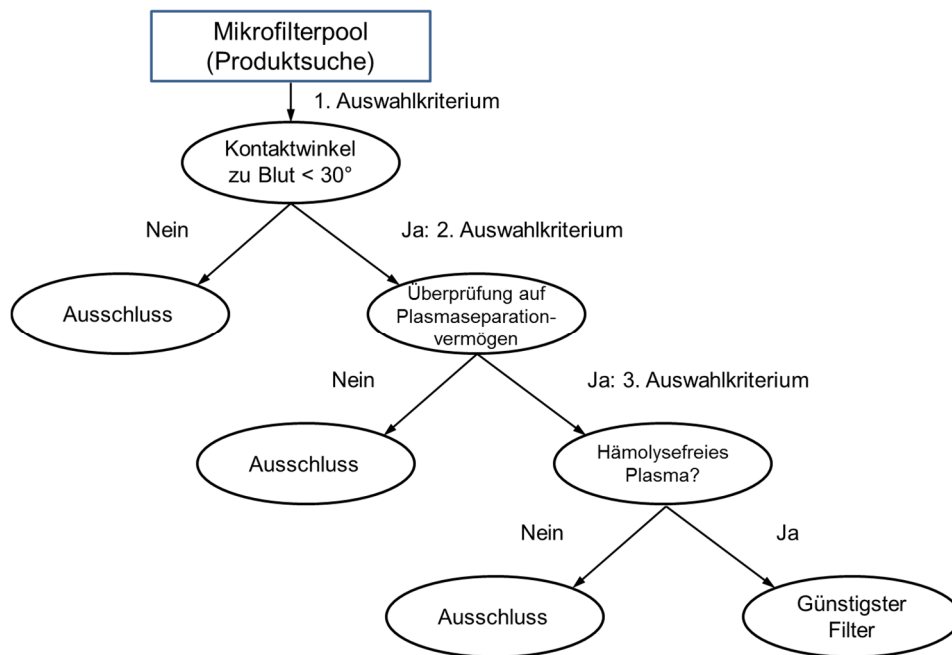


Abbildung 13 zeigt die Auswahlkriterien, nach welchen die Mikrofilter, welche nach einer Produktsuche bestellt wurden, selektiert wurden. Das erste Auswahlkriterium ist ein Kontaktwinkel $<30^\circ$ zu Blut. Das zweite ist das Vermögen des Mikrofilters auf ein Separieren von Plasma. Das dritte ist ein möglichst hämolysefreies Plasma. Sollten danach noch mehrere Mikrofilter zur Verfügung stehen, wird der günstigste gewählt.

2.4.3 Mikrofilterauswahl durch Kontaktwinkelmessung

Verwendete Geräte:

- Diverse Mikrofilter
 - Merckmillipore RNWP02500
 - Sartorius
 - PP3 50502
 - Sartoclean 56004E
 - Sefar Medifab 07-5/1
 - Membrane Solutions SPGFD810270N, SPGFD810160N
 - Cobetter filtration HD1.2B, HD1.8B
 - GE (General Electric)
 - Whatman Cyclopore PC
 - Whatman Nucleopore
 - Whatman ME 27 Membrane Filters
 - Whatman Membrane Circles
 - Whatman Nylone Membrane Filters
 - Pall Vvid GR
- Venöses menschliches Frischblut

- Digitalkamera Sony Nexus 5R [Sony Corporation, (Tokyo, J)]
- PC mit AutoCAD 2010 [Autodesk, (Mill Vally, USA)]

Die Überprüfung der Mikrofilter auf deren Kontaktwinkel wurde, durch Dispensieren eines 10 µl großen Tropfens Blut, durchgeführt. Sie wurde ebenso nach der Methode 2.2 *Prüfmethoden zur Kontaktwinkelmessung und Benetzbarkeit von Materialien* realisiert. Das Kriterium zu weiteren Überprüfungen wurde hier auf unter 30° Kontaktwinkel gesetzt, damit fallen die hydrophoben Mikrofilter bzw. jene mit schlechter Benetzbarkeit weg. Nur jene mit guter hydrophiler Benetzbarkeit, werden weiter untersucht. Die Ergebnisse der Kontaktwinkelmessungen sind in Kapitel 3.1 *Ergebnisse der Prüfmethoden zur Kontaktwinkelmessung* in *Tabelle 4* zu finden.

Filter, welche auf Grund der Kontaktwinkelmessung und des zutreffenden Auswahlkriteriums zur weiteren Überprüfung auf deren Plasmaseparationseigenschaften getestet wurden, sind in *Tabelle 1* grün markiert. Jene, die nicht weiter untersucht wurden, sind rot markiert.

Tabelle 1: Kontaktwinkel und Auswahlkriterien der Mikrofilter. Jene Mikrofilter, welche zur weiteren Überprüfung auf deren Plasmaseparationsvermögen ausschieden, sind rot markiert, da deren Kontaktwinkel > 30° war. Die grün markierten Mikrofilter wurden weiter auf deren Filtereigenschaften überprüft, da ihr Kontaktwinkel < 30° war.

Hersteller	Hersteller Bezeichnung	Material	Porengröße µm	Kontaktwinkel Blut [°]
Merckmillipore	RNWP02500	Nylon	1,2	17
Sartorius	PP3 50502	Polypropylen	3,0	119
	Sartoclean 56004E	Celluloseacetat	0,8	0
Sefar	Medifab 07-5/1	PET	5,0	89
Membrane Solutions	SPGFD810270N	Glasfaser	2,7	0
	SPGFD810160N		1,6	0
Cobetter filtration	HD1.8B	Polyethersulfon	1,8	0
	HD1.2B		1,2	0
GE (General Electric)	Whatman Cyclopore PC	Polykarbonat	3,0	89
			5,0	59
			2,0	58
			0,4	59
	Whatman Nucleopore		0,8	44
	Whatman ME 27 Membrane Filters	Mixed cellulose ester	0,8	32
	Whatman Membrane Circles	Cellulosenitrat	0,8	26
Whatman Nylone Membrane Filters	Nylon	0,8	10	
Pall	Vivid GR	Polysulfon	Asymmetrisch	0

2.4.4 Überprüfung der Mikrofilter auf Plasmaseparationsvermögen

Verwendete Geräte:

- Diverse Mikrofilter (siehe *Tabelle 1* grün markiert)
- Venöses menschliches Frischblut
- Lochstanze (10 mm)
- Peristaltikpumpe MPP 102 [Joanneum Research Forschungsg. mbH (Graz, A)]
- Plasmaseparationschip [Microfluidic ChipShop GmbH (Jena, D)]
- Schlauch Tygon® S-50-HL [Saint-Gobain (Paris, F)]
- Zentrifugenröhrchen (0,5 ml)
- Präzisionswaage EPB-103 Milligram Scale [Sartorius group Acculab (Bradford, USA)]

Jene Mikrofilter, welche durch das Kontaktwinkelkriterium (siehe obiges Kapitel) für eine weitere Untersuchung in Frage kamen, wurden zunächst mit einer Lochstanze auf einen Durchmesser von 10 mm gestanzt und in die Plasmaseparationschips eingepresst. Die Deckelung und Verschließung des Chips erfolgte mit einem speziellen Adhäsionsband, das nur bei aufgebrachtem Druck an den Kontaktstellen kleben bleibt. Da die Befüllung der Füllkammer, welche konstruktiv tangential über den Füllkanal geschieht und die Kammer somit von der Seite befüllt wird, ein Unterlaufen des Filters mit Vollblut zur Folge hatte, wurde die Deckelung durch das Adhäsionsband weggelassen und das Blut direkt auf den Filter dispensiert. Dabei wurde bezogen auf die Filterfläche, nach Angabe des Herstellers Pall [Pall Corporation (Port Washington, USA)], für alle Filter die gleiche empfohlene Blutmenge eingehalten.

Pall empfiehlt eine Blutmenge von 40-50 μl pro Quadratzentimeter. Nachfolgender Tabelle 2 kann so, für verschiedene Durchmesser, die Menge an Plasma für eine Recovery Rate von 80%, welche von Pall für den Mikrofilter Vivid GR angegeben wird, abgelesen werden. Die Berechnung erfolgte dabei mit einem Hämatokritwert von 45%.

Tabelle 2: Plasmarecovery aus verschiedenen Filterdurchmessern, wobei die Vorgabe des Herstellers Pall mit 40-50 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$ berücksichtigt wurde.

Durchmesser	[mm]	4	5	6	10	20
Filterdicke	[mm]	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33
Fläche	[mm ²]	12,57	19,63	28,27	78,54	314,16
Volumen	[mm ³]	4,15	6,48	9,33	25,92	103,67
Menge laut Empfehlung OG	[μl]	6,28	9,82	14,14	39,27	157,08
Menge laut Empfehlung UG	[μl]	5,03	7,85	11,31	31,42	125,66
Plasma im Blut	[%]	55	55	55	55	55
Plasma über Filter OG	[μl]	3,46	5,40	7,78	21,60	86,39
Plasma über Filter UG	[μl]	2,76	4,32	6,22	17,28	69,12
Recovery Rate (RR)	[%]	80	80	80	80	80
Plasma nach RR OG	[μl]	2,76	4,32	6,22	17,28	69,12
Plasma nach RR UG	[μl]	2,21	3,46	4,98	13,82	55,29

Für den Durchmesser von 10 mm wurde deshalb eine Blutmenge von 30 μl auf die Mikrofilter dispensiert und mit einer über die Peristaltikpumpe MPP 102 eingestellten Flussrate von 30 $\mu\text{l}/\text{min}$ abgesaugt. Das nach dem Plasmaseparationschip im Sammelschlauch Tygon® S-50-HL extrahierte Plasma wurde in einem Zentrifugenröhrchen aufgefangen und mit der Präzisionswaage EPB-103 Milligram Scale gewogen.

2.4.5 Überprüfung der Mikrofilter auf Hämolyse

Verwendete Geräte:

- HemoCue Plasma / LowHb [HemoCue AB (Ängelholm, S)]
- 20 μl Eppendorf Research Plus Pipettierer [Eppendorf AG (Hamburg, D)]

Von jenen Mikrofiltern, bei denen ein Extrahieren von Plasma wie in Kapitel 2.4.4 *Überprüfung der Mikrofilter auf Plasmaseparationsvermögen* beschrieben, möglich war, wurde dieses auf seinen Hämolysegrad untersucht. Dazu wurde das separierte Plasma zum Teil gepoolt (zwei Proben wurden zu einer kombiniert, da die benötigte Menge Plasma von 20 μl für das Hämoglobin Messgerät mit einer Probe nicht erreicht wurde) und mit dem Messgerät Plasma/LowHb auf Hämolyse untersucht.

Die Ergebnisse sind im Punkt 3.3.2 *Ergebnisse der Überprüfung der Mikrofilter auf Hämolyse* zu finden.

2.5 Kanalwände aus Isolierpasten

Die Isolierpasten wurden durch verschiedene Methoden überprüft und auf deren Verwendbarkeit als Kanalwände untersucht:

1. Überprüfung der Isolierpasten auf deren Kontaktwinkel (siehe Kapitel 2.2 *Prüfmethoden zur Kontaktwinkelmessung und Benetzbarkeit von Materialien*)
2. Überprüfung auf Hämokompatibilität (siehe Kapitel 2.3 *Prüfmethoden zur Hämokompatibilität der Materialien für den Kanalaufbau*)
3. Überprüfung der Aushärtezeit der Isolierpasten (siehe Kapitel 2.5.1 *Prüfmethoden zur Bestimmung der Aushärtezeiten der Isolierpasten*)
4. Überprüfung der Schichtdicke der auf die Mylar® Elektroisolierfolie aufgetragenen Isolierpasten (siehe Kapitel 2.5.2 *Prüfmethoden zur Schichtdickenmessung*)
5. Überprüfung des Schrumpfes der Isolierpasten (siehe Kapitel 2.5.4 *Prüfmethoden zur Schrumpfmessung der Isolierpasten*)

Zur Auswahl für einen Aufbau der Kanalwände standen zwei Isolierpasten, mit denen Kanalhöhen von 50 – 100 µm angestrebt wurden:

1. SD 2462 NB [Lackwerke Peters GmbH & Co. KG (Kempten, D)]
2. 5036 [E.I. Du Pont de Nemours and Company, kurz DuPont (Wilmington, USA)]

Die grüne Isolierpaste SD 2462 NB weist eine hohe Viskosität mit einem Wert von 40000 ± 5000 mPas bei 20°C auf. Die Paste wird aus den Einzelkomponenten A und B geliefert und im Massenverhältnis 3:1 zusammengestellt, wobei die Komponente A der grüne Lötstopplack ist und die Komponente B ein braunes Harz. Erst durch Vermischung der beiden kommt es, entweder durch UV-Bestrahlung oder durch thermische Behandlung (Datenblatt im Anhang), zu einer Aushärtung der Paste. Für sie ist eine Temperatur von 120°C bei 45 min zum Aushärten vorgesehen.

Die Isolierpaste 5036 ist eine durchsichtige Paste mit Viskositätswerten zwischen 25 und 45 Pas bei einer Temperatur bei 25°C. Sie ist deutlich flüssiger als die SD 2462 NB und härtet bei 120°C in 5 min aus.

2.5.1 Prüfmethoden zur Bestimmung der Aushärtezeiten der Isolierpasten

Verwendete Geräte und Materialien:

- Mylar® Elektroisolierfolie [Dr. Dietrich Müller GmbH (Alhorn, D)]
- 8-Schichtrakel [BYK-Chemie GmbH (Wesel, D)]

- Isolierpaste 5036 [E.I. Du Pont de Nemours and Company, kurz DuPont (Wilmington, USA)]
- Isolierpaste SD 2462 NB [Lackwerke Peters GmbH & Co. KG (Kempten, D)]
- Präzisionswaage EPB-103 Milligram Scale [Sartorius group Acculab (Bradford, USA)]
- Trockenschrank FD 53 [Binder GmbH, (Tuttlingen, D)]

Die Aushärtezeit und -temperatur der Siebdruckpasten wurden als Parameter ausgewählt, da sie nicht nur die mechanische Festigkeit des Kanals gewährleisten, sondern auch möglichst kurz bzw. niedrig zu halten sind, um die thermische Stabilität des sensorischen Elements (ISE-Membran) gewährleisten zu können. Die Aushärtezeiten beider Isolierpasten (SD 2462 NB und 5036) wurden über die Gewichtsänderung über die Zeit beurteilt. Dazu wurden definierte Höhen der Isolierpasten mit dem 8-Schicht rakel auf die Mylar® Elektroisolierfolie aufgebracht und im Trockenschrank FD 53 bei unterschiedlichen Temperaturen und Zeiten ausgesetzt. Die Sheets wurden nach definierten Zeiten aus dem Trockenschrank geholt und die Gewichtsmessung bis zur Gewichtskonstanz durchgeführt. Da Teile der Sensorchemie bei den gegebenen Aushärtetemperaturen des Herstellers (5036: 5 min 120°C, SD 2462 NB: 45 min bei 120°C) instabil werden, musste die Aushärtung bei 90°C untersucht werden. Sowohl eine niedrige Trockentemperatur als auch Aushärtezeit erhöht die Lebensdauer der Sensor-Chemikalien, da enthaltene Weichmacher nicht so schnell verdampfen können.

Die Ergebnisse sind im Kapitel *3.4.1 Ergebnisse zu Prüfmethoden zur Bestimmung der Aushärtezeiten der Isolierpasten* zu finden.

2.5.2 Prüfmethoden zur Schichtdickenmessung

Verwendete Geräte und Materialien:

- Isolierpaste 5036 [E.I. Du Pont de Nemours and Company, kurz DuPont (Wilmington, USA)]
- Isolierpaste SD 2462 NB [Lackwerke Peters GmbH & Co. KG (Kempten, D)]
- digitales Mikroskop VHX-5000 [Keyence (Osaka, Japan)]

Die Schichtdickenmessungen wurden mit dem digitalen Mikroskop VHX bei einer 100-fachen Vergrößerung durchgeführt. Dabei wurden vor allem die Schichtdicken der Isolierpasten untersucht. Einerseits wurden diese für einen möglichen Kanalaufbau (siehe Kapitel 2.1.2 *Kanalwände*) untersucht und andererseits ist die Isolierpaste 5036 in den Sensormembranen der Arbeits- und Referenzelektrode enthalten. Da sich diese im Mikrokanal befinden, musste

deren Höhe und der damit verbundene Strömungseinfluss auf das zu separierende Plasma untersucht werden. Ragen die ISE-Membranen zu weit in den Mikrokanal, gelangt das Plasma zur ersten Elektrode, jedoch möglicherweise nicht zur zweiten. Da die Elektroden nach einander angeordnet sind, könnte die erste Elektrode den Plasmafluss zur zweiten Elektrode versperren. Deshalb wurden sowohl die händisch dispensierten, als auch die siebgedruckten ISE-Membranen auf deren Höhe untersucht.

Bestandteile des digitalen Mikroskops VHX-5000 des Herstellers Keyence (Nummerierung in *Abbildung 14*):

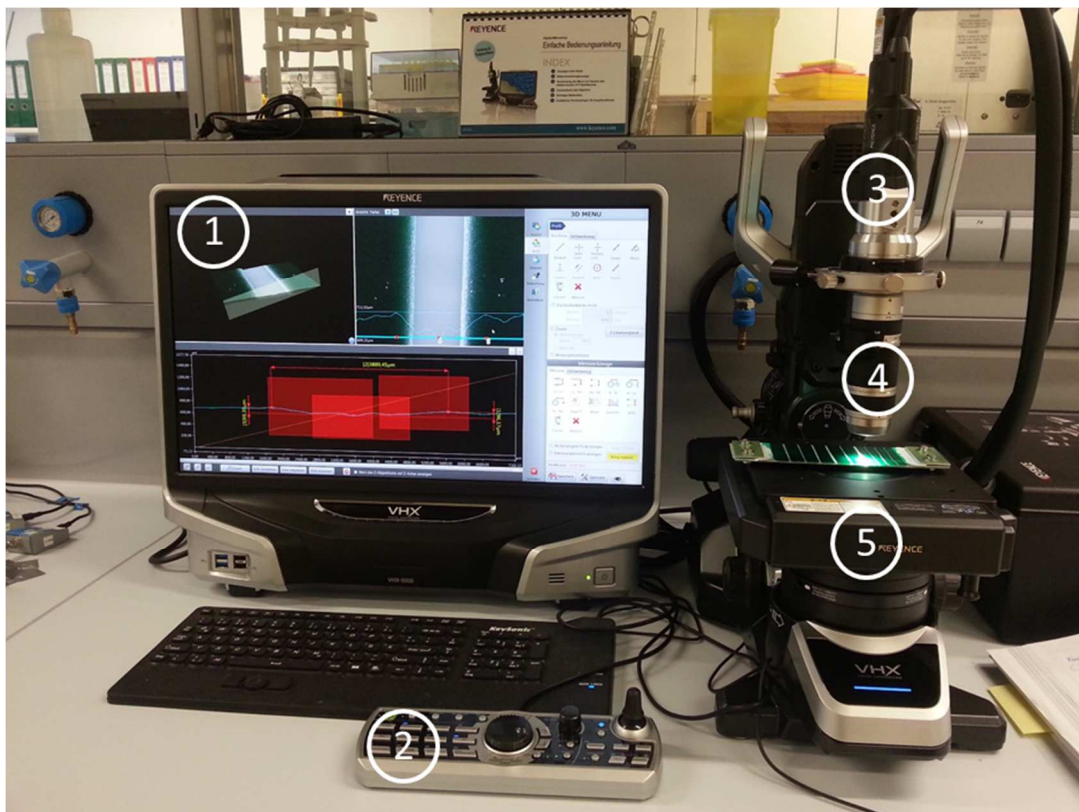


Abbildung 14: Dieses Bild zeigt das digitale Mikroskop VHX der Firma Keyence, mit den Bestandteilen wie über der Abbildung beschrieben, bei der Messung eines mit Hand abgezogenen Mikrokanals. Die Bezeichnungen der in der Abbildung nummerierten Geräte sind folgende: 1: Steuergerät VHX-5000, 2: Konsole VHX-A50 (OP-87841), 3: Kamera VHX-5100 Multiscan, 4: RZ-Objektiv: VH-Z20T Ultrakleines leistungsstarkes Zoomobjektive (20-200x), 5: Stativ: VHX-S550E Rundum-Betrachtungssystem mit digital motorisierten XY-Objektisch, Z-Achse händisch verstellbar

Die Messungen der Schichtdicken wurden zwischen dem Minimum der Referenzschicht und dem Maximum der Isolierpaste ermittelt. Dabei ist es mit der Software des digitalen Mikroskops VHX möglich, über das erzeugte 3D Bild eine Profillinie zu erstellen, bei der dann eine zweidimensionale Messung durchgeführt werden kann. Außerdem wurden die zu vermessenden Objekte an mehreren verschiedenen Stellen auf deren Höhe untersucht und

der Mittelwert samt Standardabweichung ausgewertet, um eine statistisch genauere Aussagekraft der Schichtdicken zu erlangen.

Nachfolgende *Abbildung 15* zeigt die Vermessung eines mit der Isolierpaste SD 2462 NB erstellten Kanals. Zunächst wurde ein 3D-Bild aufgenommen (linkes oberes Bild), daraufhin über eine Profillinie am 3D bzw. 2D-Bild (rechtes oberes Bild) der Abschnitt des Kanals gewählt und die Auswertung (unteres Bild) durchgeführt. Konkret wurden hier mit der Minimum Funktion der tiefste Punkt des Kanals ermittelt und die höchsten Punkte links und rechts über die Maximum Funktion. Zwei weitere Punkte für die Vermessung der Breite bei circa 1 mm wurden auf der Profillinie aufgetragen und der Messwert (im unteren Bild mit [3] markiert) in Mikrometer aufgetragen. Die gedachte gedeckelte Fläche des Kanals würde so eine Fläche von $0,059 \text{ mm}^2$ aufweisen und hätte bei einer Länge von 10 mm ein theoretisches Volumen von $0,59 \text{ mm}^3$.

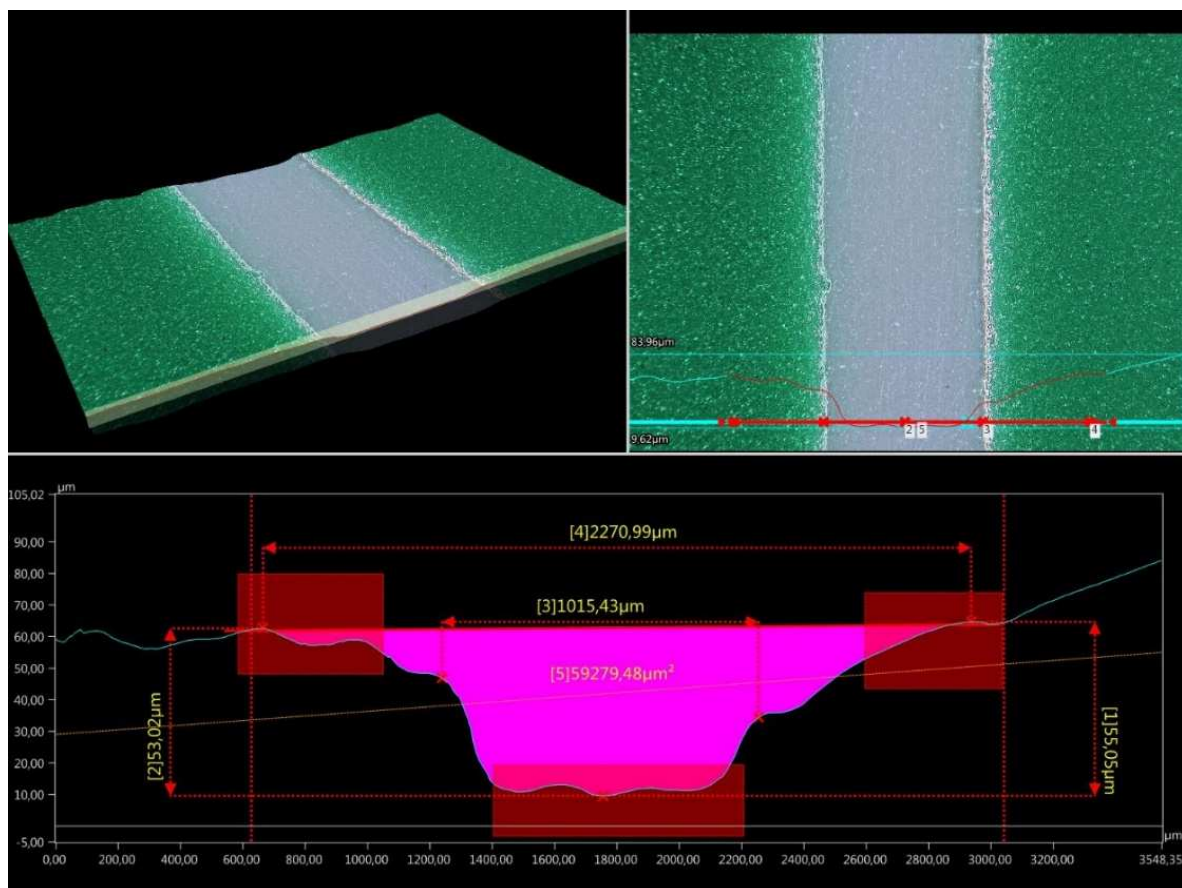


Abbildung 15: Vermessung der Schichtdicke, der Kanalbreite und der gedachten gedeckelten Fläche eines Kanals, hergestellt auf der PET-Trägerfolie mit 1 mm dickem abgezogenem Klebeband, welches den Kanal, nach Auftragen der Isolierpaste SD 2462 NB der Firma Peters, bildet. Die linke und rechte Kanalhöhe ist mit $53,02 \mu\text{m}$ bzw. $55,05 \mu\text{m}$ in etwa gleich hoch.

2.5.3 Optimierung der Oberflächenbeschaffenheit der Isolierpaste SD 2462 NB

Verwendete Geräte und Materialien:

- Mylar® Elektroisierfolie [Dr. Dietrich Müller GmbH (Alhorn, D)]
- Isolierpaste SD 2462 NB [Lackwerke Peters GmbH & Co. KG (Kempten, D)]
- Papiertuch
- digitales Mikroskop VHX [Keyence (Osaka, Japan)]

Durch die Oberflächenmodifikation (Abschleifen der ausgehärteten Isolierpaste SD 2462 NB mit einem Papiertuch) kann die Oberflächenbeschaffenheit (Rauheit) von durchschnittlich $(5,50 \pm 1,09) \mu\text{m}$ auf $(2,88 \pm 0,53) \mu\text{m}$ reduziert werden, wie in *Abbildung 16* ersichtlich. Gemessen wurde hier der Abstand zwischen Minimum und Maximum einer Profillinie. Die gemessenen Ergebnisse sind in Kapitel 3.4.3 *Ergebnisse der Optimierung der Oberflächenbeschaffenheit der Isolierpaste SD 2462 NB* zu finden.

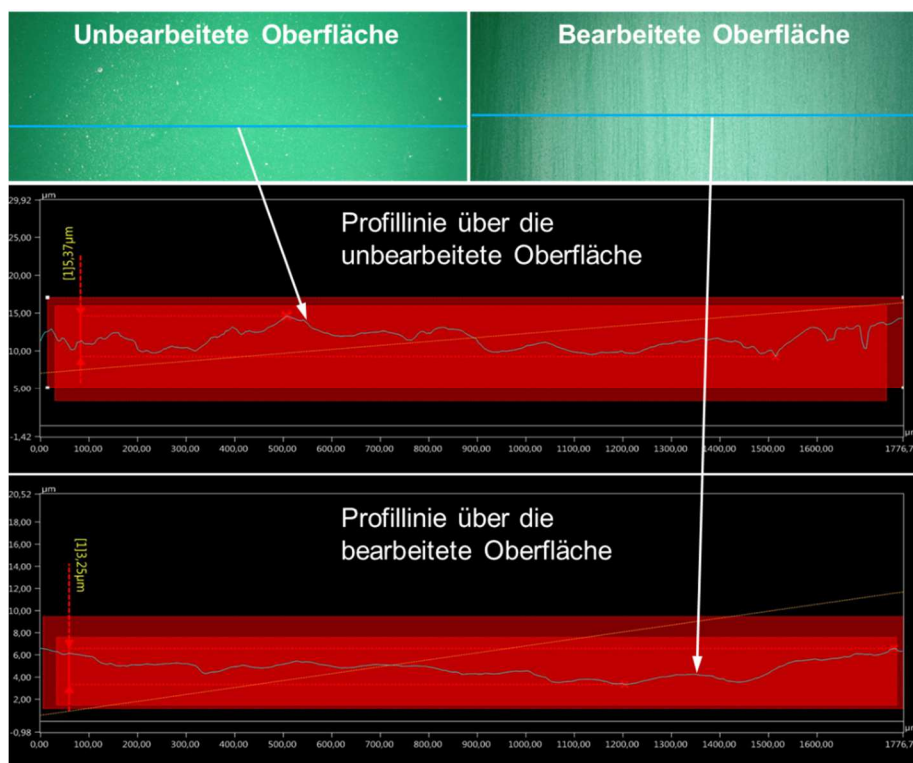


Abbildung 16: Oberflächenveränderung der Isolierpaste SD 2462 NB durch Abschleifen mit einem Papiertuch, aufgenommen mit dem Digitalmikroskop VHX. Links oben im Bild ist die unbearbeitete Oberfläche, rechts oben die bearbeitete. Mittig dazu ist eine Profillinie über die unbearbeitete Oberfläche gelegt. Die höchste Abweichung von Minimum zu Maximum beträgt hier $5,37 \mu\text{m}$. Im Mittel sind diese Werte $(5,50 \pm 1,09) \mu\text{m}$, ausgewertet aus 12 Messpunkten und zu finden im Kapitel 3.4.3 *Ergebnisse der Optimierung der Oberflächenbeschaffenheit der Isolierpaste SD 2462 NB*. Die bearbeitete Oberfläche, die Profillinie dazu ist im unteren Bild gezeigt, weist bei gleich vielen Messpunkten einen mittleren Höhenunterschied von $(2,88 \pm 0,53) \mu\text{m}$ auf.

2.5.4 Prüfmethode zur Schrumpfmessung der Isolierpasten

Verwendete Geräte und Materialien:

- Mylar® Elektroisierfolie [Dr. Dietrich Müller GmbH (Alhorn, D)]
- Isolierpaste 5036 [E.I. Du Pont de Nemours and Company, kurz DuPont (Wilmington, USA)]
- Isolierpaste SD 2462 NB [Lackwerke Peters GmbH & Co. KG (Kempten, D)]
- Trockenschrank FD 53 [Binder GmbH, (Tuttlingen, D)]
- digitales Mikroskop VHX [Keyence (Osaka, Japan)]

Die Schrumpfmessung wurde ähnlich der Schichtdickenmessung mit dem digitalen Mikroskop VHX durchgeführt. Lediglich wurden hierbei die Isolierpasten vor und nach dem Aushärten auf deren Schichtdicke an zwölf verschiedenen Stellen gemessen. Daraus lässt sich die durch Aushärtung im Trockenschrank verringerte Schichtdicke als Schrumpf ableiten, siehe Kapitel 3.4.4 *Ergebnisse der Prüfmethode zur Schrumpfmessung der Isolierpasten*. Der Schrumpf der Isolierpasten gibt Aufschluss darüber, ob ein Aufbau mit den Isolierpasten als Mikrokanalwände grundsätzlich möglich ist, oder nicht. Die Aushärtetemperaturen respektive Aushärtezeiten wurden dabei, wie vom Hersteller der Isolierpasten angegeben, gewählt.

2.6 Prüfmethoden zu den Kanalsaugeigenschaften

Verwendete Geräte und Materialien:

- Mylar® Elektroisierfolie [Dr. Dietrich Müller GmbH (Alhorn, D)]
- Isolierpaste 5036 [E.I. Du Pont de Nemours and Company, kurz DuPont (Wilmington, USA)]
- Isolierpaste SD 2462 NB [Lackwerke Peters GmbH & Co. KG (Kempten, D)]

Die Kanalsaugeigenschaften wurden auf Materialien, welche für den Kanalaufbau in Frage kamen, sowie auf dem aktuellen Sensordesign erprobt. Das Probevolumen war dabei grundsätzlich ein 10 µl großer Tropfen Blut. Die Mikrokanäle wurden nach Punkt 2.1 *Herstellungstechniken von Mikrokanälen* hergestellt. Sie wurden mit Klebebändern gedeckelt und auf deren Saugwirkung überprüft. Eine Deckelung mit hydrophilen Klebebändern, siehe 3.1 *Ergebnisse der Prüfmethoden* zur Kontaktwinkelmessung, wurde hier angestrebt um ein Einsaugen des Plasmas in den Kanal zu erleichtern.

Da die Isolierpaste SD 2462 NB gute Kontakteigenschaften für Blut aufweist und keine der Isolierpasten eine zusätzliche Hämolyse induziert, sind grundsätzlich beide Isolierpasten als Materialien für den Kanalaufbau geeignet. Allerdings konnte aufgrund der großen Schrumpfung der Isolierpaste 5036 von DuPont, zu finden in 3.4.4.1 *Ergebnisse der Schrumpfmessung der Isolierpaste 5036*, diese als Kanalwand ausgeschlossen werden. Die Isolierpaste SD 2462 NB hat einen deutlich niedrigeren Schrumpf und ist deshalb als Kanalwand gut geeignet. Nachdem sich eine Deckelung allerdings als schwierig erwies, wurde diese Fertigung als endgültige Lösung verworfen.

Somit wurden hauptsächlich die Kanalsaugeigenschaften mit dem Tesa Spacer Tape als Kanalwände betrieben. Mit einer konstanten Kanalhöhe ist eine immer gleiche Fertigung der Kanäle möglich, lediglich die Kanalbreite kann variieren.

2.6.1 Kanalsaugwirkung mit verschieden kombinierten Materialien als Mikrokanäle

Folgende Materialkombinationen wurden auf deren Saugwirkung überprüft und sind in *Abbildung 17* dargestellt:

1. Saugwirkung von 10 µl Blut über 5 cm lange, 1 mm breite und 50 µm hohe Kanäle, mit unterschiedlichen Untergründen (Substrat) getestet - siehe 3.5.1 *Ergebnisse mit Vollblut auf unterschiedlichen Substrat*.

2. Saugwirkung von Plasma aus einem 10 μ l großen Tropfen Blut über Kanäle, extrahiert mit der Pall Vivid GR Membran. Dabei wurde nur die Deckelung der Kanäle verändert. Zur Auswahl standen hier das relativ hydrophile (im Vergleich zu den anderen Klebebändern) office discount Klebeband (Kontaktwinkel von 67°) und die Hydrophilic Folie von Tesa (Kontaktwinkel von \sim 22°).
3. Kanalsaugwirkung der Kanalwandkombination wie in Punkt 2.1.4 *Aufbau der Mikrokanäle aus Kombination der Isolierpaste SD 2462 NB und des Tesa Spacer Tapes* beschrieben.
4. Extrahieren von Plasma über Kanäle, auf der Isolierpaste SD 2462 NB, ohne Bearbeitung und mit Oberflächenbearbeitung. Die Bearbeitung der Oberfläche beinhaltet ein in Längsrichtung zum Kanal „Abschleifen“ der Isolierpaste mit einem Papiertuch. Durch die doch sehr raue Oberfläche des Papiertuches werden hier auf Mikroebene „Kanäle“ in die Oberfläche geschliffen, was eine deutliche Verbesserung der Saugwirkung zur Folge hat.
5. Kanalsaugwirkung am alten Sensordesign und am aktuellen Sensordesign mit aufgerauter Isolierpaste, wie in Punkt 4 beschrieben. Die Plasmaseparationsmembran wurde mit einem hydrophoben Klebeband (Scotch Magic 3M) fixiert.

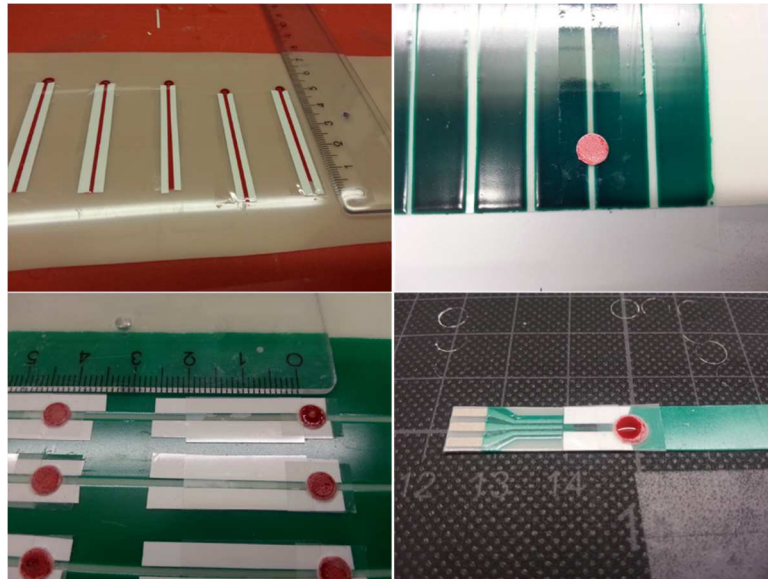


Abbildung 17: Im linken oberen Bild sind die mit Vollblut gefüllten Kanäle, wie sie im ersten Punkt der Materialkombination beschrieben, dargestellt. Im rechten oberen Bild ist ein Kanal mit Plasmaseparationsmembran, wie in Punkt 2 erklärt, aufgebaut. Im linken unteren Bild ist ein Aufbau von Kanalkombinationen, wie in Punkt 3 beschrieben, abgebildet. Im rechten unteren Bild ist ein Sensor mit dem ersten Siebdruckdesign und einem darauf aufgebauten Mikrokanal mit Plasmaseparationsmembran zu sehen.

2.7 Finales Design des Einmalteststreifen in Autodesk AutoCAD (2D) und Inventor (3D)

Das Design des Einmalteststreifen wurde zunächst in AutoCAD gezeichnet (siehe *Abbildung 18*). Der Datenaustausch mit der Siebdruckfirma erforderte das Autodesk-Format DXF. Deshalb wurden die vier Siebvorlagen in AutoCAD 2010 gezeichnet. Der Kanalaufbau, die Deckelung und der Filter, sowie dessen Fixierung, wurden im Inventor in 3D abgebildet.

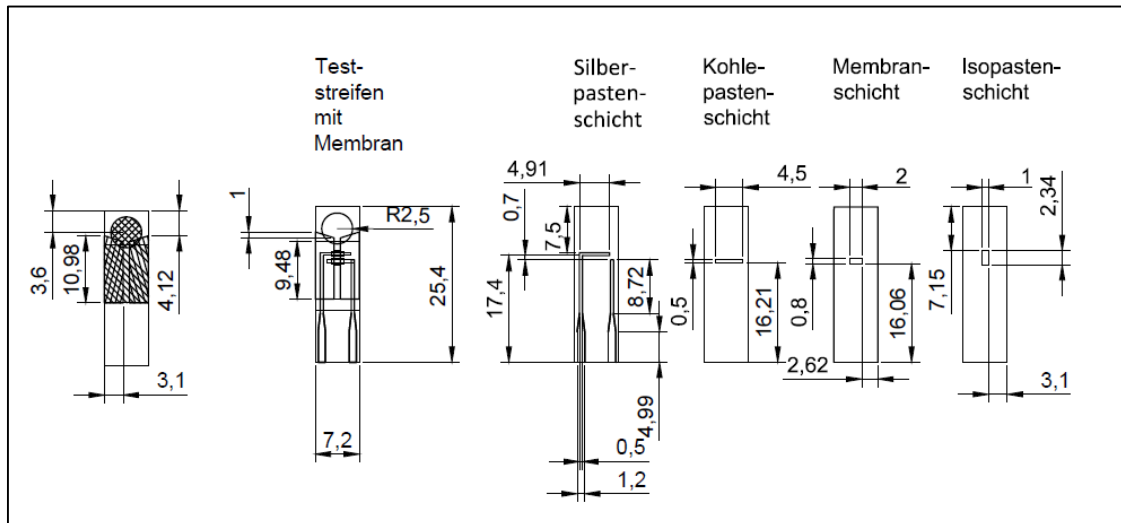


Abbildung 18 zeigt das in AutoCAD 2010 gezeichnete Design. Links ist der fertige Einmalteststreifen zu sehen, in der zweiten Ansicht von links, der Teststreifen mit der Membran. Rechts davon die vier Siebschichten, samt Bemaßung. Der Teststreifen hat eine Grundfläche von 25,4 mm x 7,2 mm.

Da eine Draufsicht den Sensoraufbau schwer vorstellbar macht, wurde in Autodesk Inventor der Sensor als 3D Skizze designt, siehe folgende *Abbildung 19*.

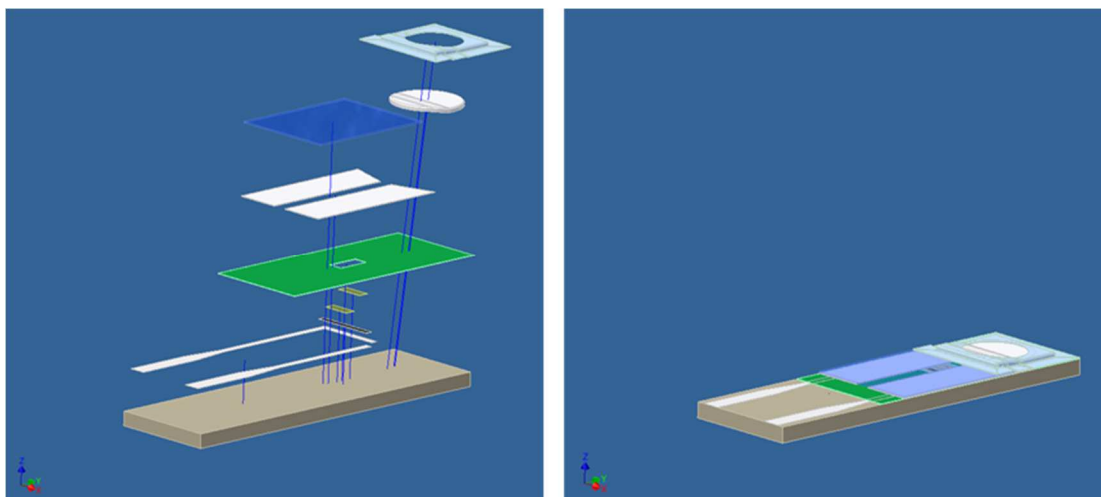


Abbildung 19: Im linken Bild ist die Explosionszeichnung des kompletten Einmalteststreifen dargestellt, rechts im Bild ist der zusammengebaute Einmalteststreifen zu sehen.

Nach Konstruktion der Siebe in AutoCAD und Freigabe durch den Projektleiter, wurden die Siebe bei Siebtronic in Auftrag gegeben. Sobald diese einlangt waren, wurde die Trägerfolie bedruckt, siehe *Abbildung 20*.

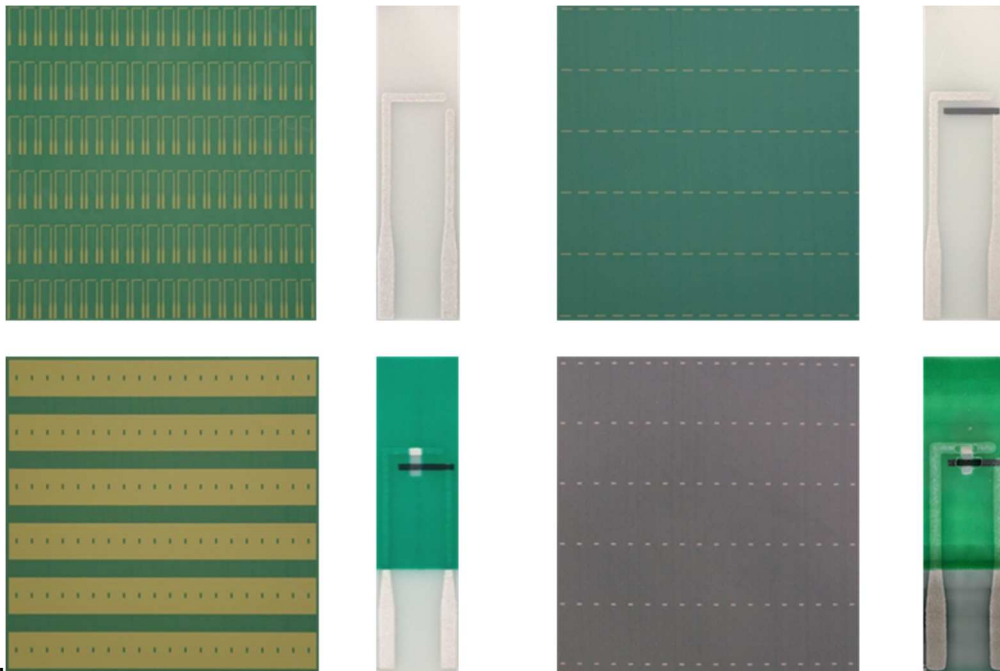


Abbildung 20: Links oben im Bild: Das Sieb für die Silberschicht und rechts daneben die gedruckte Schicht auf der PET-Trägerfolie. Rechts oben im Bild ist die zweite Schicht durch das Kohlesieb, rechts davon die gedruckte Paste auf dem Substrat. Links unten im Bild: Zu sehen ist das Sieb für die Isolierpaste, rechts davon die gedruckte Paste SD2462 NB als dritte Schicht. Rechts unten im Bild ist das Membransieb zu sehen, rechts davon ist eine Aufnahme mit dem digitalen Mikroskop zu sehen, da die Membranen der A.E. und R.E. des Sensors durchsichtig sind.

2.7.1 Finaler Aufbau des Einmalteststreifens

Für den finalen Aufbau des Einmalteststreifens wurden verschiedene Fertigungsmethoden für das gleichzeitige Aufbringen von 20 Mikrokanälen gesucht, da bei Einzelaufbringung der Kanalwände die Kanalgeometrie stark variieren kann und der Zeitaufwand deutlich höher ist.

- Stanzen durch die Firma Polehnia (Josef POLEHNIA & Co., Wien)
- Lasercutten an der TUGraz (Architektur)
- Wasserstrahlschneiden durch die Firma Hostra (HOSTRA Gummi und Kunststoffe GmbH, Graz)
- Schneidcutten an der TUGraz (Chemie)
- Schneidcutten durch die Firma Hostra (HOSTRA Gummi und Kunststoffe GmbH, Graz)

Lediglich das Schneidcutten mit dem Schneidplotter [Aristomat TL 1617-8 (Aristo Graphic Systeme GmbH & Co.KG.)] durch die Firma Hostra lieferte ein zufriedenstellendes Ergebnis,

welches im finalen Aufbau und der Überprüfung sehr gute Ergebnisse der Saugzeiten geliefert hat. Die Fertigungstoleranz von $\pm 10\%$ kann mit dem Schneidcutter (Toleranzen von $\pm 0,02$ mm) auch eingehalten werden.

Der Aufbau des Einmalteststreifens erfolgt nach dem Bedrucken der 5 Schichten durch den Siebdruck in folgenden Schritten:

1. Bekleben der 20 Sensoren mit dem doppelseitigem Klebeband
2. Deckelung der 20 Sensoren mit einem 9,5 mm breiten Streifen der hydrophilic Folie
3. Stanzen des Plasmaseparationsfilters mit ϕ 5 mm und setzen auf den Einlass des Mikrokanals
4. Fixieren der Plasmaseparationsmembran mit dem hydrophobem Klebeband Scotch Magic 3M
5. Überprüfung von 20 Einmalteststreifen auf Plasmaseparationsvermögen
6. Überprüfung der 20 Einmalteststreifen auf deren Saugzeit über die gesamte Länge des Mikrokanals (~10 mm)

Die Schritte 1-4 zum Aufbau der Einmalteststreifen sind in *Abbildung 21* dargestellt. Danach können die 20 Einmalteststreifen mit einer Schere ausgeschnitten werden, ohne Beeinträchtigung der geklebten Mikrokanäle respektive Plasmaseparationsmembranen.

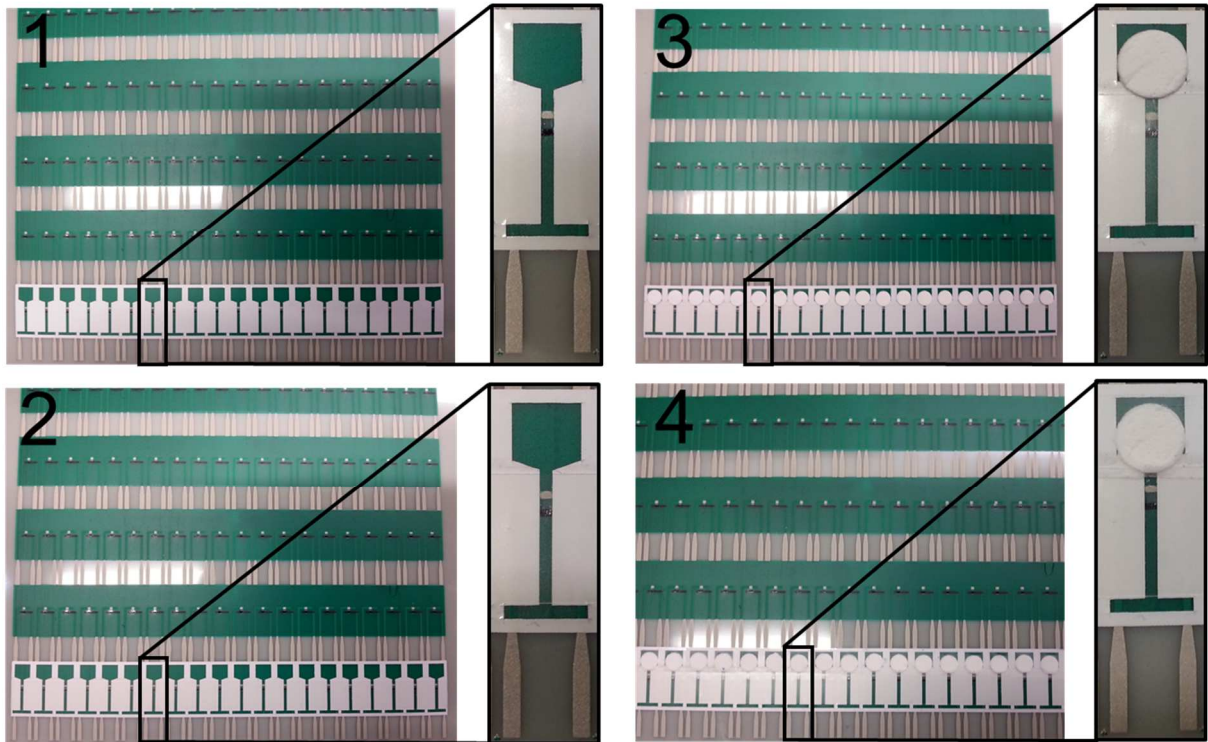


Abbildung 21: Aufbau von 20 Einmalteststreifen auf den siebgedruckten Kaliumsensoren. Links oben (Schritt 1) ist die Beklebung mit dem doppelseitigen Klebeband Tesa Spacer Tape zu sehen. Links unten (Schritt 2) ist die 9,5 mm breite Deckelung mit der durchsichtigen Tesa Hydrophilic Folie über alle 20 Einmalteststreifen erkennbar. Rechts oben (Schritt 3) sieht man die Platzierung der Plasmaseparationsmembranen Pall Vivid GR. Die Fixierung der Plasmaseparationsmembran ist rechts unten (Schritt 4) dargestellt.

2.7.2 Überprüfung der Saugwirkung des finalen Aufbaus des Einmalteststreifens

Verwendete Geräte und Materialien:

- 20 Einmalteststreifen (Aufbau siehe obiges Kapitel)
- 20 μl Eppendorf Research Plus Pipette [Eppendorf AG (Hamburg, D)]
- Einmallanzette (Stechen der Fingerbeere)

Die Überprüfung der 20 Einmalteststreifen wurde mit kapillarem Frischblut aus der Fingerbeere durchgeführt. Auf jeden Einmalteststreifen wurde dabei ein 10 μl Tropfen kapillaren Frischblutes, welcher durch Stechen mit den Einmallanzetten in die Fingerbeere und aufsaugen mit dem 20 μl Eppendorf Pipettierer erfolgte, auf die Plasmaseparationsmembran des Einmalteststreifens dispensiert. Danach wurde die Zeit, für das Auffüllen des ~10 mm langen Einmalteststreifens gemessen. Die Ergebnisse dazu sind in Kapitel 3.6 *Ergebnisse der Saugwirkung des finalen Aufbaus des Einmalteststreifens* zu finden.

3 Ergebnisse

Im Zuge dieser Diplomarbeit wurde ein mikrofluidisches System zur Separation und zum Transport von Plasma entwickelt. Der Mikrokanal ist Teil eines Teststreifens zur Quantifizierung von Kalium aus kapillaren Blutproben, entnommen aus der Fingerbeere. Die Entwicklung des Mikrokanals erfolgte in 3 Schritten:

1. Auswahl der Materialien für die Fertigung des Kanals
 - a. PET-Trägerfolie als Substrat
 - b. Isolierpaste SD 2462 NB als Kanalwände
 - c. Isolierpaste DuPont 5036 als Kanalwände
 - d. Diverse Klebebänder als Kanalwände, Deckelung des Kanals und Fixierung des Mikrofilters
2. Techniken zur Fertigung des Mikrokanals
3. Auswahl der Plasmaseparationsmembran für die Blutfiltration

Techniken zur Beurteilung der Materialeigenschaften waren:

1. Kontaktwinkelmessungen
2. Hämolyse induziert durch die Materialien
3. Aushärtezeiten der Isolierpasten
4. Schichtdickenmessung
5. Schrumpfmessung
6. Kanalsaugwirkung bzw. Kanalsaugzeit

Die Auswahlkriterien für die Plasmaseparationsmembranen nach einer Produktsuche waren:

1. Kontaktwinkelmessung bzw. Benetzbarkeit
2. Plasmaseparationsvermögen
3. Hämolyse induziert durch die Plasmaseparationsmembranen

3.1 Ergebnisse der Prüfmethode zur Kontaktwinkelmessung und Benetzbarkeit von Materialien

Die Messung des Kontaktwinkels wurde nach der Methode, beschrieben im Kapitel 2.2 *Prüfmethode zur Kontaktwinkelmessung und Benetzbarkeit von Materialien*, bestimmt. Für das Trägermaterial des Einmalteststreifens wurde Polyethylenterephthalat (PET) gewählt. Es

ergab sich ein Kontaktwinkel mit $n=1$ für destilliertes Wasser von 70° und 69° für Blut. In *Abbildung 22* sind die Ergebnisse der Messung dargestellt.

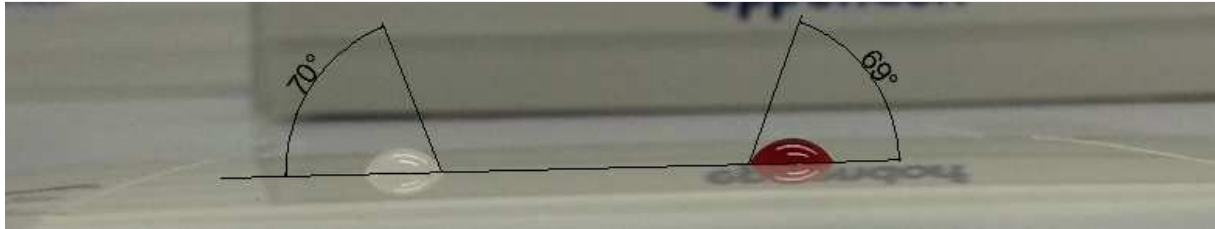


Abbildung 22: Kontaktwinkelmessung der PET-Trägerfolie mit einem Winkel von 70° für Wasser (links) und 69° für Blut (rechts).

Für die Isolierpaste SD 2462 NB wurde ein Kontaktwinkel mit $n=5$ von $(70,0 \pm 2,2)^\circ$ zu Wasser und $(63,8 \pm 3,5)^\circ$ zu Blut gemessen. In *Abbildung 23* ist eines der 5 Ergebnisse ersichtlich.

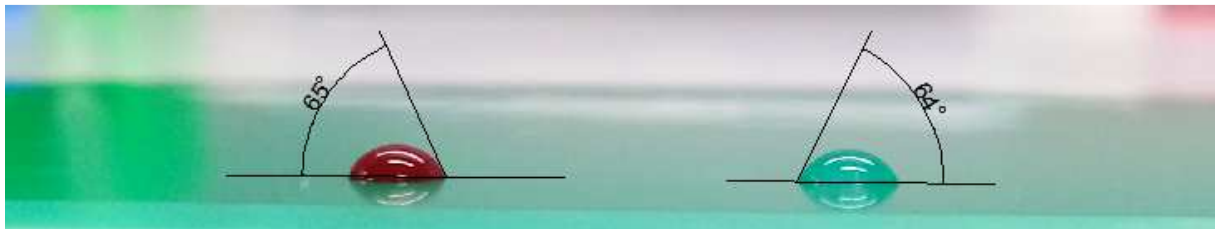


Abbildung 23: Kontaktwinkel von Blut (li.) mit 65° und Wasser (re.) mit 64° zur Isolierpaste SD 2462 NB.

Bei der Isolierpaste 5036 wurde ein Kontaktwinkel von 63° zu Wasser und 81° zu Blut gemessen, zu sehen in *Abbildung 24*.

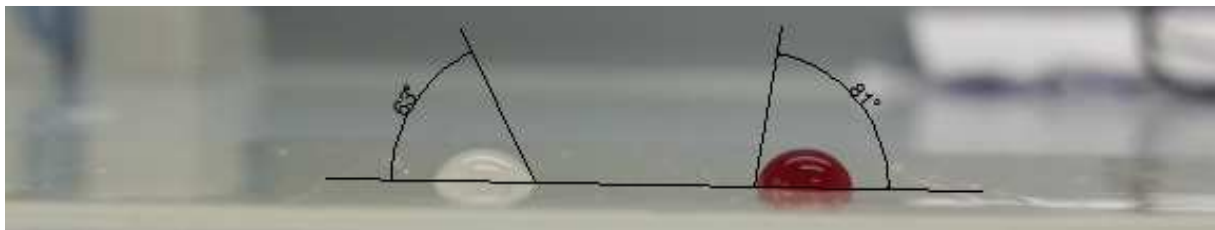


Abbildung 24: Kontaktwinkel der Isolierpaste DuPont 5036 mit 63° zu destilliertem Wasser links und 81° zu Blut, rechts im Bild.

Kontaktwinkelmessungen verschiedener Klebebänder, zur Deckelung des Mikrokanals:

Hierbei wurde die Kontaktwinkelmessung auf der Klebeseite der Bänder durchgeführt, da diese die Oberseite der Kanäle bilden, mit den Kanalwänden einen luftdichten Kontakt haben und somit die Benetzbarkeit des Blutes bzw. Plasmas, welches über den Kanal gezogen wird, maßgeblich beeinflussen.

Office discount Klebefilm 10 m x 12 mm in *Abbildung 25*:

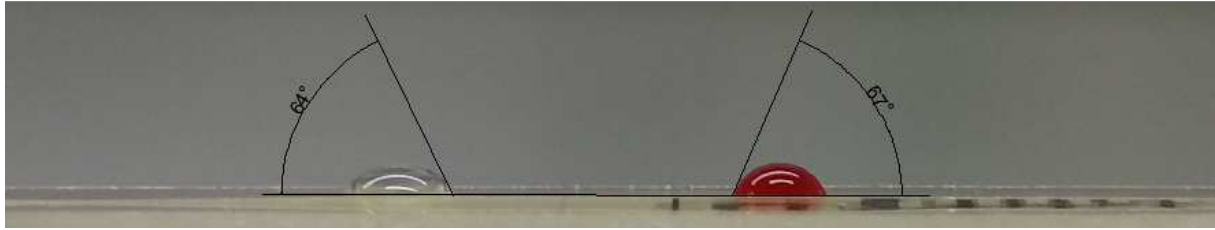


Abbildung 25: Kontaktwinkel des Office discount Klebefilms für Wasser links 64° und Blut 67° rechts auf der Klebeseite des Bandes.

Scotch Magic Tape 33m x 19 mm der Firma 3M (Abbildung 26):

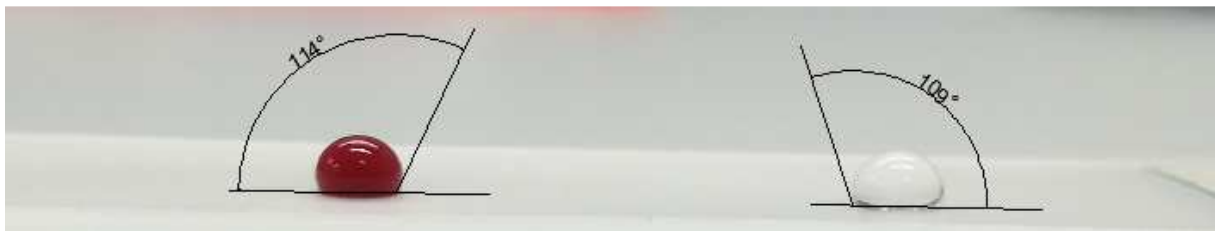


Abbildung 26: Kontaktwinkelbestimmung des Klebebandes Scotch Magic Tape der Firma 3M. Für Blut wurde hierbei ein Winkel von 114° (li.) und Wasser 109° (re.) gemessen.

Kontaktwinkelmessungen der von der Firma Tesa als Muster zur Verfügung gestellten Klebebänder zu destilliertem Wasser und Blut:

Tabelle 3: Ergebnisse der Kontaktwinkelmessungen der Klebebänder, welche von der Firma Tesa zur Verfügung gestellt wurden.

Bezeichnung des Klebebandes laut Hersteller	Kontaktwinkel dest. Wasser	Kontaktwinkel Blut
	[°]	[°]
Tesa 04024 PP Packband transparent, 50 mm x 66 m	88	92
Tesa 04287 PP-Träger Kautschukmasse transparent 50 mm x 66 m	86	93
Tesa 51134 PE Surface Protection, Acrylat farblos, 75 mm x 100 m	85	72
Tesa 04104 PVC-Träger, Naturkautschuk, transparent, 19 mm x 66 m	74	67
Tesa 04967 doppelseitiges Klebeband, farblos 19 mm x 50 m, rote Deckfolie	73	92
Tesa 04972 doppelseitiges Klebeband, Polyesterfolie, mod. Acrylat, transparent, gelbe Deckfolie	65	91

Die Hydrophilic Folie der Firma Tesa zeigte bei n=5 Messungen einen Kontaktwinkel zu Blut von $(22,3 \pm 1,7)^\circ$. Eine Kontaktwinkelauswertung mit Blut ist in *Abbildung 27* zu sehen. Für destilliertes Wasser wurde ein Kontaktwinkel von $(21,0 \pm 2,5)^\circ$ bestimmt.

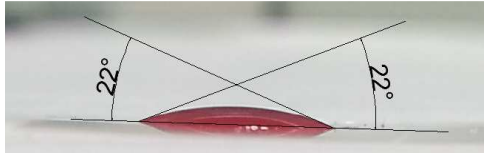


Abbildung 27: Ergebnis einer der Kontaktwinkelmessung der Hydrophilic Folie mit 22° zu Blut.

Die Ergebnisse der Kontaktwinkelmessungen der Mikrofilter, welche nach einer Produktsuche (2.4.1 Produktsuche für Plasmaseparationsmembranen (Mikrofilter)) angefordert wurden, sind in *Tabelle 4* zu sehen.

Tabelle 4: Ergebnisse der Kontaktwinkelmessungen der Mikrofilter von unterschiedlichen Herstellern. Ein Kontaktwinkel von 0° bedeutet ein vollständiges Einsaugen der Flüssigkeit in die Membran.

Hersteller	Hersteller-bezeichnung	Material	Porengröße µm	Kontaktwinkel Blut [°]
Merckmillipore	RNWP02500	Nylon	1,2	17
Sartorius	PP3 50502	Polypropylen	3,0	119
	Sartoclean 56004E	Celluloseacetat	0,8	0
Sefar	Medifab 07-5/1	PET	5,0	89
Membrane Solutions	SPGFD810270N	Glasfaser	2,7	0
	SPGFD810160N		1,6	0
Cobetter filtration	HD1.8B	Polyethersulfon	1,8	0
	HD1.2B		1,2	0
GE (General Electric)	Whatman Cyclopore PC	Polykarbonat	3,0	89
			5,0	59
			2,0	58
			0,4	59
	Whatman Nucleopore		0,8	4
	Whatman ME 27 Membrane Filters	Mixed cellulose ester	0,8	32
	Whatman Membrane Circles	Cellulosenitrat	0,8	26
Whatman Nylone Membrane Filters	Nylon	0,8	10	
Pall	Vivid GR	Polysulfon	Asymmetrisch	0

3.2 Ergebnisse Prüfmethode zur Hämokompatibilität der Materialien für den Kanalaufbau

In der angeführten *Tabelle 5* befinden sich die Ergebnisse der Hämolysemessungen der für den Teststreifen in Frage kommenden Materialien. Durchgeführt wurden die Messung nach der Methode, beschrieben in 2.3 *Prüfmethode zur Hämokompatibilität der Materialien*. Die Kontaktzeiten mit 20 Sekunden bzw. 2 Minuten sind eine Vorgaben und definieren die minimale und maximal erlaubte Kontaktzeit des Blutes mit den Materialien.

Tabelle 5: Ergebnisse der Hämolysemessungen für die in Frage kommenden Materialien für den Aufbau des Einmalteststreifens.

	Referenzwert [g/dl]	Nach 20 Sekunden Kontakt [g/dl]	Nach 2 Minuten Kontakt [g/dl]
1.Referenzwert, aus abgesetzter Blutprobe	0,05	-	-
2.Referenzwert, nach 2 min zentrifugieren	0,05	-	-
Office discount Klebeband	0,05	0,05	0,05
PET Trägerfolie	0,05	0,05	0,04
Isolierpaste 5036 (Fa. DuPont)	0,11	0,11	0,12
Isolierpaste SD 2462 NB (Fa. Peters) ausgehärtet bei 120°C und 45 min	0,05	0,06	0,05
Isolierpaste SD 2462 NB (Fa. Peters) ausgehärtet bei 90°C und 30 min	0,05	-	0,06
Isolierpaste SD 2462 NB (Fa. Peters) ausgehärtet bei 90°C und 30 min	0,07	0,07	-

3.2.1 Ergebnisse der Überprüfungen der Kanalkombinationen auf Hämolyse

Weiters wurde aus den Materialien 2 Mikrokanalkombinationen aufgebaut und diese auf Hämolyse der roten Blutkörperchen überprüft. Der Aufbau dieser Kanäle ist im Methodenkapitel 2.3.1 *Überprüfung der Kanalkombinationen auf Hämolyse* beschrieben. Die *Tabelle 6* zeigt die Ergebnisse dieser Kombinationen. Die Methodik wurde nach der Überprüfung des 1. Mikrokanals auf Hämolyse, bei dem manuell mit einer Spritzenpumpe das Blut über den Kanal gezogen wurde, verändert. Die Peristaltikpumpe MPP 102 wurde anstatt der Spritze zum Absaugen des Blutes verwendet, die Kanüle ersetzt durch einen Schlauch und die beiden Kanalkombinationen getestet.

Tabelle 6: Ergebnisse der Überprüfung der Kanalkombinationen auf Hämolyse. Die 1. Kanalkombination, bei der Blut manuell über den Kanal gezogen wurde, zeigt eine Erhöhung um 0,08 g/dl freiem Hämoglobin im Plasma. Anpassung der Methode mit 1. und 2. Mikrokanal-Kombinationen, wobei Blut mittels der Mikro-Perfusionspumpe MPP 102 über den Kanal gezogen wurde. Hier ist eine Veränderung von 0,01 und 0,02 g/dl für die erste und zweite Kanalkombination ersichtlich.

	Referenzwert [g/dl]	Messwert [g/dl]
1. Mikrokanal, manuell mit Spritze gezogen	0,10	0,18
1. Mikrokanal mit MPP 102	0,15	0,16
2. Mikrokanal mit MPP 102	0,05	0,07

3.3 Ergebnisse der Mikrofilter in der Anwendung zur Plasmaseparation

3.3.1 Ergebnisse der Überprüfung der Mikrofilter auf Plasmaseparationsvermögen

Die Überprüfung der Mikrofilter auf Plasmaseparationsvermögen wurde, nach Wegfall der Filter, wie in Kapitel 2.4.3 Mikrofilterauswahl durch Kontaktwinkelmessung erläutert, durch Verwendung des microfluidic ChipShop Chips durchgeführt. Die zugrunde liegende Methodik ist in Kapitel 2.4.4 *Überprüfung der Mikrofilter auf Plasmaseparationsvermögen* näher beschrieben. Nach Ausschluss der Mikrofilter mit einem Kontaktwinkel von $> 30^\circ$ (siehe Kapitel 3.1 *Ergebnisse der Prüfmethode zur Kontaktwinkelmessung und Benetzbarkeit von Materialien in Tabelle 4*) haben lediglich 5 der Mikrofilter (jeweils 2 davon sind vom gleichen Hersteller, haben jedoch unterschiedliche Porengrößen) eine Separation von Plasma aus Vollblut gezeigt. In *Tabelle 7* sind die Mikrofilter, deren Herstellungsmaterial und Porengröße, sowie der Kontaktwinkel und das Plasmaseparationsvermögen, dargestellt.

Tabelle 7 zeigt die Mikrofilter die auf Plasmaseparationsvermögen überprüft wurden. Diese wurden mit Hilfe der Chips, die beim microfluidic ChipShop speziell für die Anwendung zur Plasmaseparation hergestellt werden, geprüft.

Hersteller	Herstellerbezeichnung	Material	Porengröße µm	Kontaktwinkel Blut [°]	Plasmaseparationsvermögen -
Merckmillipore	RNWP02500	Nylon	1,2	17	Nein
Sartorius	Sartoclean 56004E	Celluloseacetat	0,8	0	Nein
Membrane Solutions	SPGFD810270N	Glasfaser	2,7	0	Ja
	SPGFD810160N		1,6	0	Ja
Cobetter filtration	HD1.8B	Polyethersulfon	1,8	0	Ja
	HD1.2B		1,2	0	Ja
GE (General Electric)	Whatman Membrane Circles	Cellulosenitrat	0,8	26	Nein
	Whatman Nylone Membrane Filters	Nylon	0,8	10	Nein
Pall	Vivid GR	Polysulfon	Asymmetrisch	0	Ja

3.3.2 Ergebnisse der Überprüfung der Mikrofilter auf Hämolyse

Das Plasma, das nach der Plasmaseparation, wie im obigen Kapitel erklärt, durch den Plasmaseparationschip extrahiert worden war, wurde auf dessen Hämolysegrad untersucht. Dabei wurde wie in Kapitel 2.4.5 *Überprüfung der Mikrofilter auf Hämolyse* vorgegangen.

Mikrofilter Pall Vivid GR:

In *Tabelle 8* sind die Ergebnisse der Hämolysemessung für die Plasmaseparationsmembran Vivid GR.

Tabelle 8 zeigt die Ergebnisse der Überprüfung der Plasmaseparationsmembran Pall Vivid GR auf Hämolyse. Die Filtermembran wurde dabei in den Plasmaseparationschip vom Micofludic ChipShop eingebaut und unter Anwendung einer Peristaltikpumpe menschliches Vollblut durch den Filter gezogen. Die Messergebnisse sind dabei alle gleich den Referenzwerten, lediglich bei Messung 10+11 ist der Messwert um 0,01g/dl kleiner als der Referenzwert. Dies resultiert aus dem bereits beschriebenen Problem des Rundens in der dritten Nachkommastelle des Hämoglobin Messgerätes. Die Messungen 2 – 13 wurden gepoolt, da für das Hämoglobin Messgerät ca. 20 ml Plasma benötigt wird, durch die Filtration aber pro Messung zu wenig Plasma extrahiert wurde.

Messung	Referenzwert [g/dl]	Messwert [g/dl]	Uhrzeit	Plasmamenge g
1	0,01	0,01	08:00	-
2+3 gepoolt	0,03	0,03	08:30	-
4+5 gepoolt	0,03	0,03	09:30	8,0 + 7,3
6+7 gepoolt	0,04	0,04	10:30	9,5 + 9,4
8+9 gepoolt	0,04	0,04	11:00	8,6 + 9,1
10+11 gepoolt	0,06	0,05	13:00	8,3 + 10,8
12+13 gepoolt	0,07	0,07	15:00	10,5 + 8,5

Für die Plasmarecovery wurde so aus 30 µl Blut bei n=10 Messungen eine durchschnittliche Menge von (9,0 ± 1,1) g erreicht. Dies entspricht einer Plasmarecoveryrate von ~55% bei einem Hämatokrit von 45%. Pall verspricht eine Recoveryrate von > 80%.

Mikrofilter Cobetter filtration HD1.2B:

Mit dem Mikrofilter HD1.2B wurde zwar Plasma extrahiert, jedoch war es deutlich rotgefärbt. Die Messung für n=4 Filter ergab nach Poolen aller vier Proben, einen Messwert außerhalb des Detektionsbereiches des Hämoglobin Messgerätes.

Mikrofilter Membran Solutions SPGFD810160N:

Mit dem Glasfaserfilter mit einem Porendurchmesser von 1,6 µm war ein Extrahieren von Plasma möglich, jedoch war auch hier eine deutliche Rotfärbung erkennbar. Nach der Plasmaseparation mit n=4 Mikrofilter war ein gepoolter freier Hämoglobinwert von 1,83 g/dl zu einem Referenzwert von 0,05 g/dl das Ergebnis.

3.4 Ergebnisse der Kanalwände aus Isolierpaste

3.4.1 Ergebnisse zu Prüfmethode zur Bestimmung der Aushärtezeiten der Isolierpasten

Die Aushärtezeiten wurden nach der Methode 2.5.1 *Prüfmethode zur Bestimmung der Aushärtezeiten der Isolierpasten* bestimmt. Dabei wurden die zu überprüfenden Sheets mit den Pasten beschichtet, bei der zu untersuchenden Temperatur ausgehärtet und nach festgelegten Intervallen auf deren Gewichtsverlust untersucht.

3.4.1.1 Ergebnisse der Isolierpaste 5036 der Firma DuPont bei 120°C

Im Mittel hat die Isolierpaste nach 4 Minuten ($9,60 \pm 1,81$) % verloren, nach 8 Minuten hat sich der Wert bezogen auf den 4 minütigen um ($0,09 \pm 0,06$) % geändert und nach 12 Minuten bezogen auf den 8 minütigen um ($0,06 \pm 0,04$) %.

In *Abbildung 28* sind die Ergebnisse der prozentuellen Gewichtsänderung, wie in *Tabelle 9*, als Diagramm dargestellt.

Tabelle 9: Ergebnisse der Wägung der mit der Isolierpaste 5036 (Firma DuPont) abgezogenen Sheets nach jeweils 4 Minuten Aushärtezeit. Die Aushärtetemperatur war hier 120°C.

Sheet	Gewicht über die Zeit			
	[%] nach 0 min	[%] nach 4 min	[%] nach 8 min	[%] nach 12 min
1	100,00	92,26	92,24	92,26
2	100,00	91,50	91,42	91,39
3	100,00	91,30	91,22	91,17
4	100,00	88,49	88,34	88,23
5	100,00	91,80	91,73	91,67
6	100,00	88,27	88,27	88,18
7	100,00	93,09	93,04	93,01
8	100,00	89,50	89,37	89,27
9	100,00	88,07	87,86	87,77
10	100,00	89,69	89,56	89,51

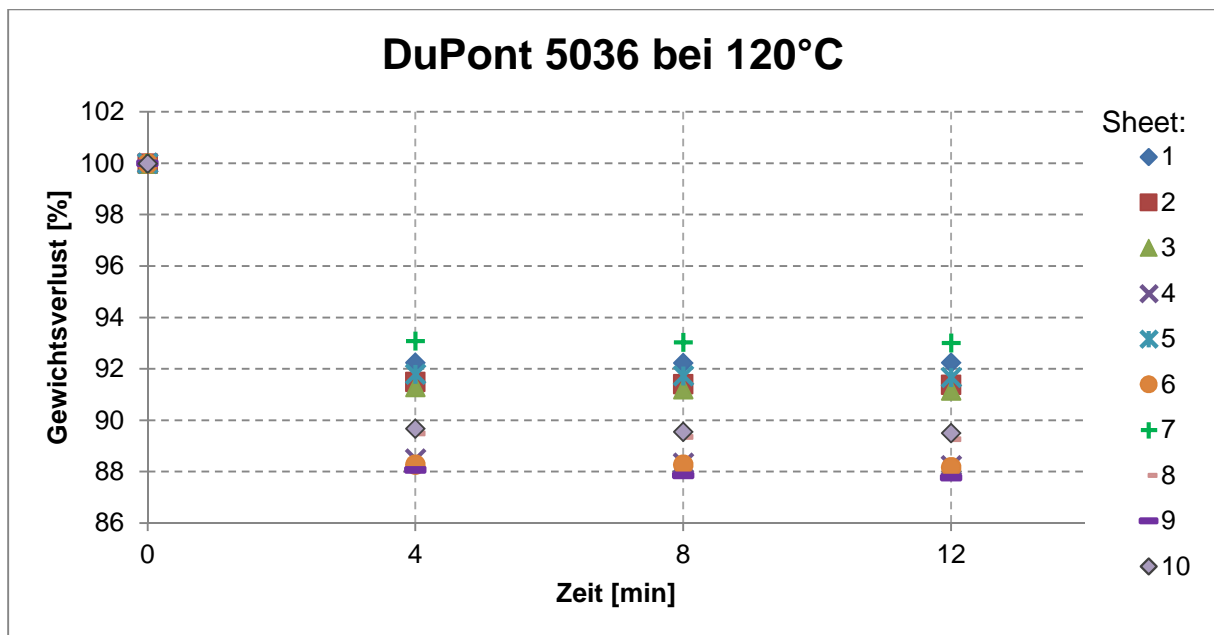


Abbildung 28: Prozentueller Gewichtsverlust der Isolierpaste 5036 von DuPont bei 120°C Aushärtetemperatur nach 4, 8 und 12 Minuten. Nach 4 minütiger Aushärtung ist praktisch keine Gewichtsänderung mehr ersichtlich.

3.4.1.2 Ergebnisse der Isolierpaste 5036 der Firma DuPont bei 90°C

Die nachfolgende *Tabelle 10* zeigt die Ergebnisse der Aushärtezeit der Isolierpaste 5036 bei 90°C. Die Methodik zur Erlangung dieser Ergebnisse ist in Kapitel 2.5.1 *Prüfmethoden zur Bestimmung der Aushärtezeiten der Isolierpasten* detailliert beschrieben.

Tabelle 10: Ergebnisse der Wägung der mit der Isolierpaste 5036 (Firma DuPont) abgezogenen Sheets nach jeweils 5 Minuten Aushärtezeit. Die Aushärtetemperatur war hier 90°C. Sheets 1-5 wurden mit 125 µm Erhöhung abgezogen. Sheets 6-10 wurden mit der doppelten Höhe (250 µm) abgezogen. Ab 5 Minuten ist keine große Veränderung des Gewichts mehr ersichtlich.

Sheet	Gewicht über die Zeit				
	[%] nach 0 min	[%] nach 5 min	[%] nach 10 min	[%] nach 15 min	[%] nach 20 min
1. 125 µm	100,00	94,73	94,68	94,79	94,81
2. 125 µm	100,00	94,63	94,57	94,49	94,46
3. 125 µm	100,00	94,86	94,78	94,82	94,82
4. 125 µm	100,00	91,89	91,30	91,26	91,30
5. 125 µm	100,00	93,93	93,77	93,78	93,78
6. 250 µm	100,00	90,00	89,72	89,92	89,89
7. 250 µm	100,00	89,64	89,42	89,18	89,59
8. 250 µm	100,00	90,60	90,24	90,14	90,19
9. 250 µm	100,00	90,47	89,98	89,86	89,81
10. 250 µm	100,00	90,43	90,02	89,89	89,91

Der prozentuelle Gewichtsunterschied der mit 125 µm abgezogenen Sheets getrocknet bei 90°C, beträgt nach 5 Minuten ($5,99 \pm 1,24$) %. Bei dem 250 µm abgezogenen Sheets ergibt sich eine Gewichtsreduktion von ($9,77 \pm 0,40$) % nach 5 Minuten im Mittel. Nach einer Trockenzeit von 10 Minuten ändert sich der Mittelwert der 125 µm Sheets im Vergleich zur 5 minütigen Gewichtsmessung um ($0,19 \pm 0,23$) % und bei den 250 µm Sheets um ($0,35 \pm 0,11$) %. Nach weiteren 5 bzw. 10 Minuten Trocknungszeit ist kaum mehr eine Veränderung im Gewicht der Sheets erkennbar. Die 125 µm Schicht ändert sich um ($-0,01 \pm 0,07$)% nach 15 Minuten, bezogen auf die 10 minütige Messung und um ($-0,01 \pm 0,02$)% nach 20 Minuten, bezogen auf die 15 minütige Messung. Der negative Mittelwert resultiert aus einer Erhöhung des Gewichts, induziert durch die Messungenauigkeit der Waage.

Bei den 250 µm abgezogenen Sheets sind die Mittelwerte bei 15 und 20 Minuten ($0,07 \pm 0,074$)% und ($0,08 \pm 0,19$)% bezogen auf die jeweiligen vorigen Messungen.

Die nachfolgende *Abbildung 29* beinhaltet den prozentuellen Gewichtsverlust der Isolierpaste 5036 der Firma DuPont bei 90°C Aushärtetemperatur. Die Werte dafür können in *Tabelle 10* betrachtet werden.

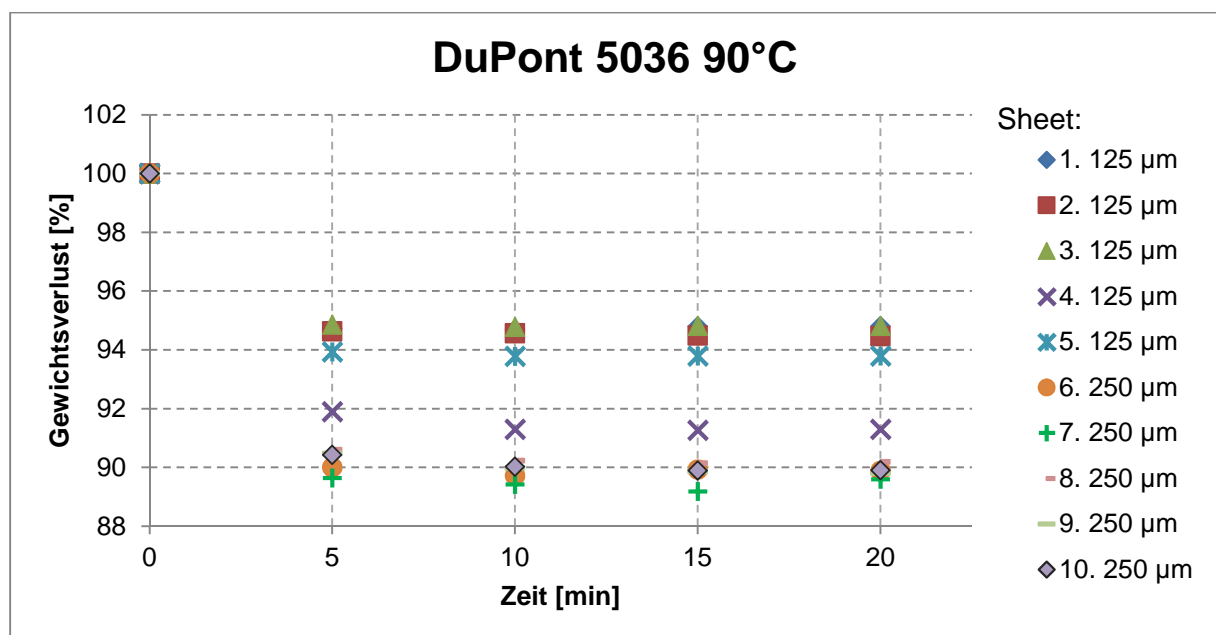


Abbildung 29: Gewichtsverlust der DuPont Isolierpaste 5036 in Prozent bezogen auf den Anfangswert, nach 5, 10, 15 und 20 Minuten für die Sheets 1-5 mit 125 µm Abziehhöhe und Sheets 6-10 für 250 µm. Beim Sheet 4 handelt es sich um einen Ausreißer bei dem ein zu großes Sheet verwendet wurde und resultierend daraus zu viel Isolierpaste aufgetragen wurde.

3.4.1.3 Ergebnisse der Isolierpaste SD 2462 NB der Firma Peters bei 90°C

Die Isolierpaste SD 2462 NB, wurde nur bei 90°C untersucht. Da diese nur als Isolierschicht verwendet wird, und grundsätzlich geplant war, diese beim Siebdrucken nach den Membranen zu drucken, musste die Paste bei der Temperatur untersucht werden, bei der auch die Sensorchemie der Membranen thermisch stabil bleiben. In *Tabelle 11* sind die Ergebnisse dieser Untersuchung tabellarisch dargestellt und in *Abbildung 30* sind diese als Diagramm zu sehen.

Tabelle 11: Änderung des Gewichts der Isolierpaste SD 2462 NB der Firma Peters bei einer Aushärtetemperatur von 90°. Die Isolierpaste wurde auf den PET-Trägerfolien (Sheets) mit einer 125 µm Höhenbegrenzung abgezogen und alle 10 Minuten gewogen. nach 30 Minuten Aushärtezeit ist praktisch keine Gewichtsänderung mehr sichtbar.

Sheet	Gewicht über die Zeit					
	[%] nach 0 min	[%] nach 10 min	[%] nach 20 min	[%] nach 30 min	[%] nach 40 min	[%] nach 50 min
1	100,00	97,73	97,57	97,53	97,49	97,47
2	100,00	97,79	97,64	97,59	97,57	97,55
3	100,00	97,82	97,68	97,63	97,59	97,58
4	100,00	97,71	97,59	97,52	97,48	97,47
5	100,00	97,82	97,67	97,62	97,60	97,59
6	100,00	97,74	97,63	97,56	97,53	97,53
7	100,00	97,21	97,07	96,99	96,97	96,96
8	100,00	97,80	97,66	97,60	97,58	97,58
9	100,00	97,76	97,64	97,57	97,56	97,55
10	100,00	97,84	97,71	97,63	97,63	97,60

Die Mittelwerte der relativen Gewichtsänderung betragen $(2,22 \pm 0,05)$ % nach 10 Minuten, $(0,14 \pm 0,01)$ % nach 20 Minuten, $(0,06 \pm 0,01)$ % nach 30 Minuten, $(0,026 \pm 0,01)$ % nach 40 Minuten und $(0,01 \pm 0,01)$ % nach 50 Minuten.

In der *Abbildung 30* sind die Ergebnisse der Wägungen (in Prozent) nach wiederholter 10-minütiger Messung als Diagramm dargestellt.

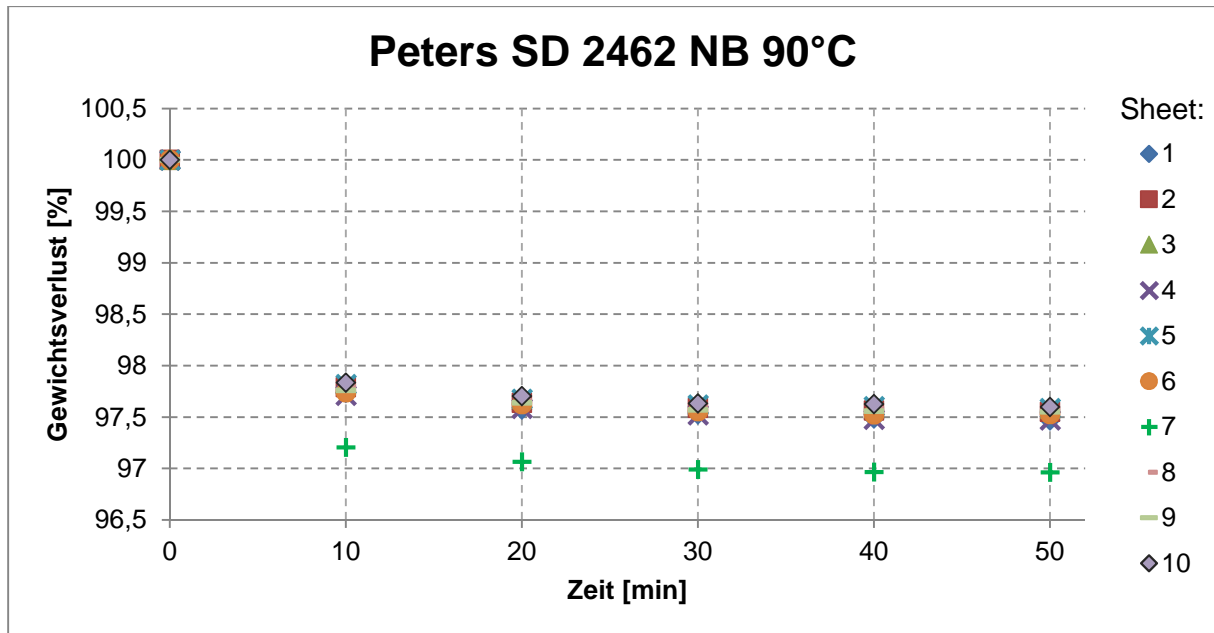


Abbildung 30: Prozentueller Gewichtsverlust der Isolierpaste SD 2462 NB der Firma Peters bei 90°C Aushärtetemperatur mit (n=9) Sheets. Die Wägung wurde vor der Aushärtung und danach alle 10 Minuten durchgeführt. Ab 30 Minuten ist kaum noch eine Gewichtsänderung sichtbar. Beim 7. Sheet ist der Gewichtsverlust etwas höher als bei den anderen Sheets. Ein größeres Sheet mit etwas mehr aufgetragener Isolierpaste lässt auf den größeren Gewichtsverlust schließen.

3.4.2 Ergebnisse der Prüfmethode zur Schichtdickenmessung

Die Schichtdickenmessung dient der Überprüfung der Kanalwandhöhe. Mit ihr wurde überprüft, ob eine Kanalwand mit den Isolierpasten aufgebaut werden kann und ob deren Höhe ausreicht, um ausreichend Plasma für die Kaliumdetektion in den Kanal zu ziehen. Weiters wurde mit der Schichtdickenmessung die Höhe der ISE-Membran überprüft und aufgrund dieser Ergebnisse die minimale Kanalhöhe, für ein vollständiges Benetzen respektive ein komplettes Auffüllen des Mikrokanals mit Plasma, definiert. Die Messung der Schichtdicke wurden nach der Methodik, beschrieben in Kapitel 2.5.2 *Prüfmethode zur Schichtdickenmessung*, durchgeführt. Sie war speziell für die Verwendung der Isolierpaste als Kanalwände, beschrieben in 2.1.2 *Kanalwände*, von Bedeutung.

- **Ergebnisse der Schichtdickenmessungen der Isolierpaste SD 2462 NB**

Die Schichtdickenmessung der Isolierpaste SD 2462 NB wurde mit (n=13) auf der PET-Trägerfolie durchgeführt. Die Isolierpaste wurde mit einer Höhenbegrenzung von einer Papierdicke $\approx 125 \mu\text{m}$ abgezogen. Die Kanäle wurden dabei wie im Kapitel 2.1 *Herstellungstechniken von Mikrokanälen* gefertigt. Mit einem Gesamtmittelwert von $(107,08 \pm 18,56) \mu\text{m}$ ergibt sich ein Veränderung zur Ausgangshöhe von circa 14,4%. Da die nass aufgetragene Isolierpaste nicht auf deren Schichtdicke überprüft wurde, wurde durch die Schrumpfmessung die nasse und trockene Paste durch Überprüfung auf deren Schichtdicke

zur Erlangung genauerer Ergebnisse untersucht. Der Wert ist um ~3,7% höher als jener, welcher bei der Schrumpfmessung ermittelt wurde. Dies kann von Ungenauigkeiten, wie z.B. Druckverteilung, beim Abziehen der Isolierpaste kommen.

- **Ergebnisse der Schichtdickenmessungen der Isolierpaste 5036**

Die Schichtdickenmessung der Kanalhöhen der Isolierpaste 5036 (n=6) haben gezeigt, dass sich die theoretische Schichtdicke von 125 µm durch thermisches Aushärten auf eine mittlere Schichtdicke von $(48,66 \pm 13,52)$ µm geändert hat. Die Isolierpaste ist um 61 % geschrumpft. Dieses Ergebnis war ausschlaggebend für die Durchführung von Schrumpfmessungen (siehe Kapitel 2.5.4 *Prüfmethoden zur Schrumpfmessung der Isolierpasten*) der Isolierpasten. Bei diesen Schrumpfmessungen wurde eine Veränderung von ~9% in Bezug auf die oben angeführte Schrumpfmessung gemessen.

- **Ergebnisse der Schichtdickenmessung der händisch dispensierten Referenzelektrodenmembran am Basissensordesign**

Die Bestimmung der Schichtdicke der ISE-Membranen war aufgrund des Einflusses durch ein mögliches Absperren des Mikrokanals durch deren Höhe relevant für diese Arbeit (siehe Kapitel 2.5.2 *Prüfmethoden zur Schichtdickenmessung*). Die ISE-Membran muss eine gewisse Schichtdicke (Höhe) aufweisen, um ein möglichst hohes kaliumselektives Signal wiedergeben zu können. So wurden sowohl die händisch dispensierten als auch die siebgedruckten Membranen auf deren Schichtdicke untersucht.

Die Schichtdickenmessung (n=11 Sensoren mit jeweils 3 Messpunkten) der händisch dispensierten Referenzelektrodenmembran des Basissensors ergab eine mittlere Dicke von $(123,72 \pm 58,83)$ µm. Im Zuge dieser Messung wurde die Schichtdicke der Kohlepaste ($(15,63 \pm 7,37)$ µm) mitgemessen und ausgewertet. Die Auswertung der Membranhöhe respektive der Höhe der Kohleschicht gibt Aufschluss darüber, in wie weit die Kanäle zum Benetzen der Elektroden überstehen müssen.

- **Ergebnisse der Schichtdickenmessung der siebgedruckten Referenzelektrodenmembran am Basissensordesign**

Die Ergebnisse der Schichtdickenmessung (n=4 Sensoren mit jeweils 3 Messpunkten) der mit der DuPont 5036 siegedruckten Referenzelektroden-Membran ergab im Mittel eine Dicke von $(37,26 \pm 13,20)$ µm, wobei die Leiterbahnen mit der Isolierpaste SD 2462 NB beschichtet wurden. Die Kohleschichten wurden hierbei mit $(11,23 \pm 3,46)$ µm mitgemessen. Mit dem Siebdruck lässt sich die Membranhöhe um das 3-fache im Vergleich zu mit der Hand dispensierten Membrandicke verringern. Die Membranhöhe steht einer Kanalhöhe von z.B.

100 µm (SD 2462 NB) nicht im Weg, würde einen dünneren Kanal mit einer Schichtdicke von ~ 50 µm aber zum Teil verschließen.

Weiter Messungen der Schichtdicken am Basissensor (n=4 Sensoren mit jeweils 3 Messpunkten) der siebgedruckten durchsichtigen Isolierpaste 5036 ISE-Membran ergaben im Mittel eine Höhe von $(44,36 \pm 6,13)$ µm und für die Kohlepasten eine Durchschnittsdicke von $(14,80 \pm 4,19)$ µm.

- **Ergebnisse der Schichtdicke der Kanalkombination aus Isolierpaste SD 2462 NB und Tesa Spacer Tape**

Die Kanalkombination wurde, wie in Kapitel 2.1.4 *Aufbau der Mikrokanäle aus Kombination der Isolierpaste SD 2462 NB und des Tesa Spacer Tapes* beschrieben, angefertigt. Damit konnte eine durchschnittliche Mikrokanalhöhe von $(122,03 \pm 9,85)$ µm erreicht werden. Die Ergebnisse dazu sind in *Tabelle 12* angeführt.

Tabelle 12: Schichtdickenmessung der Kanalkombination wie in Punkt 2.1.4 *Aufbau der Mikrokanäle aus Kombination der Isolierpaste SD 2462 NB und des Tesa Spacer Tapes* beschrieben aufgebaut. Eine mittlere Schichtdicke von $(122,03 \pm 9,85)$ µm ist dabei das Ergebnis. Die Ergebnisse der Saugeigenschaften der kombinierten Kanalwände sind in Punkt 3.5.4 *Ergebnisse der Mikrokanalkombination aus SD 2462 NB und Tesa Spacer Tape mit der PET-Trägerfolie* angeführt.

Messpunkt	Kanalhöhe [µm]	Messpunkt	Kanalhöhe [µm]	Messpunkt	Kanalhöhe [µm]
1	114,93	14	126,08	27	129,19
2	117,78	15	131,94	28	143,43
3	113,50	16	122,17	29	115,25
4	124,34	17	115,39	30	129,69
5	132,44	18	127,55	31	130,86
6	136,29	19	119,75	32	120,63
7	128,16	20	134,51	33	130,03
8	138,31	21	135,18	34	124,02
9	105,11	22	117,46	35	126,77
10	118,96	23	116,53	36	119,24
11	101,15	24	128,40	37	107,50
12	108,33	25	121,50	38	114,66
13	112,21	26	110,67	39	109,39

3.4.3 Ergebnisse der Optimierung der Oberflächenbeschaffenheit der Isolierpaste SD 2462 NB

Die Oberflächenrauheit wurde nach der Methode beschrieben in Kapitel 2.5.3 *Optimierung der Oberflächenbeschaffenheit der Isolierpaste SD 2462 NB*, bearbeitet. Eine deutliche Veränderung der Oberflächenbeschaffenheit ist zu erkennen. So ist bei der nicht abgeschliffenen Oberfläche eine mittlere Höhe bei n=12 Messpunkten von $(5,50 \pm 1,09)$ μm und eine knapp um die Hälfte verringerte mittlere Höhe bei ebenso n=12 Messpunkten von $(2,88 \pm 0,53)$ μm durch die bearbeitete, abgeschliffene Oberfläche die Folge.

3.4.4 Ergebnisse der Prüfmethode zur Schrumpfmessung der Isolierpasten

Die Schrumpfmessung wurde durchgeführt, um die Kanalhöhe durch die Isolierpasten bestimmen zu können. Hierbei wurde vor und nach dem Aushärten im Trockenschrank die auf das Substrat aufgebrachte Isolierpaste auf deren Höhe gemessen. Beschrieben ist diese Methode detaillierter in Kapitel 2.5.4 *Prüfmethode zur Schrumpfmessung der Isolierpasten*.

3.4.4.1 Ergebnisse der Schrumpfmessung der Isolierpaste 5036

Die Schichtdicke der feuchten, noch nicht ausgehärteten Isolierpaste 5036 von DuPont, beträgt im Mittel $(231,81 \pm 34,78)$ μm . Nach 5 minütiger Aushärtung bei 120°C ist sie auf $(70,55 \pm 16,59)$ μm geschrumpft. Dies entspricht einer mittleren prozentuellen Änderung von $(69,29 \pm 6,22)$ %. Die Werte dieser Ergebnisse sind in *Tabelle 13* mit n=12 Messpunkten abgebildet.

Tabelle 13: Ergebnisse der Schrumpfmessung der Isolierpaste 5036 von DuPont nach einer Trocknungszeit von 5 Minuten bei 120°C. Eine mittlere Änderung der Schichtdicke von (69,57 ± 6,22) % ist das Resultat.

Messpunkt	Schichtdicke		Änderung [%]
	vor Aushärtung [µm]	nach Aushärtung [µm]	
1	220,96	55,64	74,82
2	252,88	62,05	75,46
3	252,11	61,03	75,79
4	254,75	66,16	74,03
5	269,70	70,92	73,70
6	231,00	74,76	67,64
7	219,01	74,88	65,81
8	283,23	119,52	57,80
9	202,47	58,44	71,14
10	195,47	69,64	64,37
11	159,07	64,31	59,57
12	241,10	69,23	71,29

3.4.4.2 Ergebnisse der Schrumpfmessung der Isolierpaste SD 2462 NB

Bei der Isolierpaste SD 2462 NB wurden für die feucht aufgetragene Paste ein Mittelwert von (102,45 ± 9,92) µm gemessen. Nach 45 minütiger Trocknung bei 130°C ändert sich die mittlere Schichtdicke auf (91,45 ± 8,41) µm. Die mittlere relative Schichtdickenänderung beträgt somit (10,64 ± 3,42) %. Nachstehende *Tabelle 14* zeigt die Ergebnisse für n=12 Messpunkte.

Tabelle 14: Darstellung der Ergebnisse der Messung des Schrumpfes beim Aushärten bei 130°C und 45 Minuten Trocknungszeit der Isolierpaste SD 2462 NB der Firma Peters. Eine mittlere Änderung der Schichtdicke von (10,74 ± 3,42) % ist das Resultat.

Messpunkt	Schichtdicke		Änderung [%]
	vor Aushärtung [µm]	nach Aushärtung [µm]	
1	94,91	90,79	4,34
2	112,10	94,88	15,36
3	110,28	95,86	13,08
4	81,13	72,87	10,18
5	107,71	95,58	11,26
6	117,23	104,97	10,46
7	102,06	87,43	14,33
8	96,38	84,64	12,18
9	100,32	86,23	14,05
10	97,62	90,51	7,28
11	111,71	102,01	8,68
12	98,00	91,65	6,48

3.5 Ergebnisse der Prüfmethode zu den Kanalsaugeigenschaften

Die Kanalsaugwirkung wurde, wie in Kapitel 2.6 *Prüfmethode zu den Kanalsaugeigenschaften* erklärt, durchgeführt. Da eine Vielzahl von Substraten, Kanalwänden und Deckelungsmöglichkeiten zur Auswahl standen, wurden zunächst die Substrate mit Blut auf deren Saugwirkung überprüft. Hier wurde die Zeit gemessen, die das Blut für eine vorgegebene Mikrokanallänge benötigte hat.

3.5.1 Ergebnisse mit Vollblut auf unterschiedlichen Substraten

In der nachstehenden *Tabelle 15*, sind die Ergebnisse der Saugzeiten über die Mikrokanäle zu sehen. Dabei wurde der Mikrokanal bis auf das Substrat, welches hier untersucht wurde, jeweils gleich aufgebaut. Die Kanalwände wurden mit dem Tesa Spacer Tape aufgebaut, die Deckelung erfolgte mit der Tesa Hydrophilic Folie. Unterschieden wird hier nur Boden des Mikrokanals. So wurde die PET-Trägerfolie, die Isolierpaste SD 2462 NB ungeschliffen und die Isolierpaste SD 2462 NB abgeschliffen, als Substratvariante untersucht.

Tabelle 15: Ergebnisse der Kanalsaugeigenschaften mit n=5 Kanälen, pro Prüfreihe und Blut als Prüffluid (10 µl) – Bei den Kanälen wurde lediglich das Substrat verändert, die Kanalgeometrie und der weitere Aufbau war jeweils derselbe. Als Kanalwände wurde das Spacer Tape und als Deckelung die Hydrophilic Folie von Tesa verwendet. Die Kanalgeometrie war: L = 50 mm, B = 1 mm, H = 50 µm. Die PET-Trägerfolie zeigt eine mittlere Saugzeit über die Länge von 50mm von (52,20 ± 3,63) s, die Isolierpaste SD 2462 NB (83,60 ± 20,43) s und die abgeschliffene Isolierpaste SD 2462 NB (32,80 ± 1,92) s. Hier ist durch Veränderung der Oberflächeneigenschaften der Isolierpaste SD 2462 NB eine deutliche Verbesserung der Sauggeschwindigkeit erkennbar (~+50s).

Kanal	PET-Trägerfolie	SD 2462 NB	abgeschliffene SD 2462 NB
	Zeit [s]	Zeit [s]	Zeit [s]
1	51	72	30
2	53	75	33
3	57	77	32
4	53	74	34
5	47	120	35
Mittelwert	52,20	83,60	32,80
Standardabweichung	3,63	20,43	1,92

3.5.2 Ergebnisse der Mikrokanäle mit unterschiedlicher Deckelung und PET-Trägerfolie als Substrat

Bei der Untersuchung auf der PET-Trägerfolie als Substrat wurden die Deckelungen variiert, um daraus entstehende Unterschiede überprüfen zu können. Als Kanalwand wurde das Tesa Spacer Tape herangezogen. Der Mikrokanal wurde bereits mit der

Plasmaseparationsmembran Pall Vivid GR getestet und zeigte, dass extrahiertes Plasma in den Mikrokanal binnen kürzester Zeit gezogen wurde.

Die Ergebnisse mit der Deckelung mit dem Office Discount Klebeband sind in nachstehender *Tabelle 16* zu finden:

Tabelle 16 zeigt die Kanalsaugzeiten der Mikrokanäle, welche mit dem Klebeband Office discount gedeckelt und die PET-Trägerfolie als Substrat hatten. Die Kanalgeometrie war hier folgende: L = 50 mm, B = 1 mm, H = 50 µm. Für die Filterung des Plasmas wurde die Membran GR von Pall Vivid mit einem Durchmesser von 5 mm verwendet. Für die Messung des ersten Kanals wurde keine Zeitmessung genommen, jedoch hat der Kanals in kürzester Zeit (<30s) Plasma extrahiert. Die Zeit bis Plasma gezogen wird beträgt hier im Mittel (37,75 ± 32,77) s, wobei der Mittelwert und die Standardabweichung beeinflusst durch das sehr späte Ansaugen des zweiten Kanals mit 86 s deutlich erhöht sind. Die 5 getesteten Kanäle haben über eine mittlere Länge von (13,00 ± 2,74) mm in der Zeit von (28,80 ± 5,22) s Plasma gezogen. Addiert man die Zeit bis Plasma in den Kanal gezogen wird mit der Zeit wie lange dieses über den Kanal braucht, ist man deutlich unter der geforderten Extraktionszeit von <2 Minuten.

Kanal	Zeit, bis Plasma gezogen wird	Plasma- saugweite	Zeit für benötigte Saugweite
	[s]	[mm]	[s]
1	-	15	20
2	86	15	34
3	20	15	30
4	15	10	30
5	30	10	30
Mittelwert	37,75	13,00	28,80
Standardabweichung	32,77	2,74	5,22

Die Ergebnisse mit der Deckelung des Mikrokanals mit der Tesa Hydrophilic Folie sind in *Tabelle 17* zu sehen:

Tabelle 17: Ergebnisse der Kanalsaugzeiten über die Länge des Kanals mit der PET-Trägerfolie als Substrat. Kanalgeometrie: L = 20 mm, B = 1 mm, H = 50 µm. Die Deckelung des Kanals wurde hierbei mit der Tesa Hydrophilic Folie durchgeführt. Die Zeit, bis Plasma aus dem Filter (Pall Vivid GR mit einem Durchmesser von 5 mm, welcher mit hydrophobem Klebeband mit einem Loch von 4 mm möglichst Luftdicht) extrahiert wurde, war hier im Schnitt (21,25 ± 8,54) s und nach 60s wurde so eine mittlere Länge von (13,75 ± 2,50) mm des Kanals gefüllt.

Kanal	Zeit, bis Plasma gezogen wird	Plasma- saugweite	Zeit für benötigte Saugweite
	[s]	[mm]	[s]
1	10	15	~60
2	20	10	~60
3	30	15	~60
4	25	15	~60
Mittelwert	21,25	13,75	60,00
Standardabweichung	8,54	2,50	0,00

3.5.3 Ergebnisse der Mikrokanäle mit der Isolierpaste SD 2462 NB als Substrat

Die Isolierpaste SD 2462 NB ist Bestandteil des Sensors und wurde demnach als Kanalboden, wie in Kapitel 2.6.1 *Kanalsaugwirkung mit verschiedenen kombinierten Materialien* erklärt, herangezogen und getestet. Die Ergebnisse dazu sind in *Tabelle 18* dargestellt.

Tabelle 18: Kanalsaugeigenschaften bei einem Kanal mit der Geometrie L = 20 mm, B = 1 mm, H = 50 µm. 80 % der Kanäle haben Plasma nach einer Zeit von (19,38 ± 18,05) s gezogen. Kanal 6 & 7 haben kein Plasma aus dem Filter extrahiert. Über eine Länge von 10 mm haben die Kanäle im Schnitt (39,50 ± 18,05) s zum Füllen des Kanals benötigt.

Kanal	Zeit, bis Plasma gezogen wird [s]	Plasma-saugweite [mm]	Zeit für max. Kanallänge [s]
1	17	10	22
2	11	10	20
3	60	10	120
4	13	10	25
5	30	10	90
6	x	10	x
7	x	10	x
8	7	10	15
9	6	10	14
10	11	10	10
Mittelwert	19,38	10,00	39,50
Standardabweichung	18,05	0,00	41,49

3.5.4 Ergebnisse der Mikrokanalkombination aus SD 2462 NB und Tesa Spacer Tape mit der PET-Trägerfolie als Substrat

Die Kanalkombination wurde, wie in Kapitel 2.1.4 *Aufbau der Mikrokanäle aus Kombination der Isolierpaste SD 2462 NB und des Tesa Spacer Tapes* beschrieben, gefertigt. Mit einer 50 %igen Saugwirkung lieferte die Kanalkombination keine zufriedenstellenden Ergebnisse und wurde somit nicht weiter untersucht. In *Tabelle 19* sind die Ergebnisse der Kanalkombination zu finden.

Tabelle 19 zeigt die Saugeigenschaften der Kanalwandkombination aus SD 2462 NB und des Tesa Spacer Tapes. 50% der Kanäle haben nach einem zeitlichen Mittelwert von (27,00 ± 27,16) s Plasma extrahiert, und über eine Länge von (9,30 ± 3,06) mm in der Zeit von (42,00 ± 23,60) s weit dieses gezogen. Die Kanalgeometrie war dabei 20 mm x 1 mm x (122,03 ± 9,85) µm im Schnitt. Nur 50% der Kanäle haben bei dieser Kanalgeometrie Plasma extrahiert.

Kanal	Zeit, bis Plasma gezogen wird	Plasma- saugweite	Zeit für max. Kanallänge
	[s]	[mm]	[s]
1	x	x	x
2	10	14	60
3	9	10	30
4	12	7	30
5	10	8	30
6	x	x	x
7	x	x	x
8	x	x	x
9	x	x	x
10	14	7	30
11	18	5	30
12	48	11	90
13	x	x	x
14	32	14	60
15	21	10	30
16	96	7	30
17	x	x	x
18	x	x	x
19	x	x	x
20	x	x	x
Mittelwert	27,00	9,30	42,00
Standardabweichung	27,16	3,06	23,60

3.5.5 Ergebnisse der Mikrokanäle mit optimierter Oberflächenbeschaffenheit der Isolierpaste SD 2462 NB

Wie in Kapitel 2.5.3 *Optimierung der Oberflächenbeschaffenheit der Isolierpaste SD 2462 NB* erklärt, wurden Mikrokanäle mit der modifizierten Oberfläche aufgebaut und getestet. Die Mikrokanäle haben dabei eine Saugwirkung des aus der Plasmaseparationsmembran extrahierten Plasmas von innerhalb (15,25 ± 3,40)s gezeigt (siehe *Tabelle 20*).

Tabelle 20: Kanalgeometrie: 10 mm x 1 mm x 50 µm – Die vier Testkanäle haben alle innerhalb von 20 Sekunden Plasma aus dem Mikrofilter extrahiert und den 10 mm langen Kanal voll gezogen. Alle Kanäle haben in (15,25 ± 3,40) s Plasma gezogen.

Kanal	Zeit, bis Plasma gezogen wird [s]
1	15
2	20
3	14
4	12
Mittelwert	15,25
Standardabweichung	3,40

Weitere 4 Kanäle wurden auf deren Kanalsaugwirkung überprüft, wobei die Zeit, bei der die 10 mm langen Mikrokanäle komplett mit Plasma aufgefüllt worden waren, gemessen wurde. Die Zeit bis Plasma gezogen wird betrug hier (14,25 ± 4,03) s und im Mittel wurde der 10 mm lange Kanal nach (49,00 ± 28,35) s gefüllt, siehe *Tabelle 21*.

Tabelle 21: Kanalgeometrie: 10 mm x 1 mm x 50 µm. Alle Kanäle (n=4) haben innerhalb von (14,25 ± 4,03) s Plasma extrahiert und in von (49,00 ± 28,35) s den 10 mm langen Mikrokanal mit Plasma vollgefüllt.

Kanal	Zeit, bis Plasma gezogen wird [s]	Plasma-saugweite [mm]	Zeit für max. Kanallänge [s]
1	11	10	90
2	20	10	30
3	12	10	30
4	14	10	46
Mittelwert	14,25	10,00	49,00
Standardabweichung	4,03	0,00	28,35

- **Ergebnisse des Basis Sensor Design mit abgeschliffener Isolierpaste SD 2462 NB**

Da die Saugwirkung durch die Veränderung der Oberflächenrauheit verbessert werden konnte, wurden diese auf dem Basissensordesign angewandt und auf deren Kompatibilität in Bezug auf den Sensor (ISE-Membrane) getestet. Hier zeigten sich noch bessere Ergebnisse als zuvor. Innerhalb von (10,80 ± 4,57) s hatten die Kanäle Plasma gezogen und nach (25,70 ± 13,65) s waren diese komplett mit Plasma gefüllt (10 mm langer Kanal), siehe *Tabelle 22*.

Tabelle 22: Saugeigenschaften des Basis Sensor Designs mit abgeschliffener Isolierpaste. Kanalgeometrie: 10 mm x 1 mm x 50 µm auf dem Basis Sensor Design. Geprüfte Basisteststreifen mit n=8, 100% der Kanäle haben im Mittel nach (10,80 ± 4,57) s Plasma gezogen. Über eine Länge von 10 mm wurden die Kanäle in (25,70 ± 13,65) s mit Plasma gefüllt.

Kanal	Zeit, bis Plasma gezogen wird	Kanal- länge	Zeit für max. Kanallänge
	[s]	[mm]	[s]
1	5	10	40
2	18	10	23
3	7	10	14
4	10	10	17
5	6	10	13
6	12	10	55
7	17	10	33
8	9	10	16
Mittelwert	10,80	10,00	25,70
Standardabweichung	4,57	0,00	13,65

3.6 Ergebnisse der Saugwirkung des finalen Aufbaus des Einmalteststreifens

Der finale Einmalteststreifen wurde wie in Kapitel 2.7 *Finales Design des Einmalteststreifens in Autodesk AutoCAD (2D) und Inventor (3D)* beschrieben, designet. Weiters wurde der finale Einmalteststreifen wie in Kapitel 2.7.1 *Finaler Aufbau des Einmalteststreifens* aufgebaut und schließlich auf dessen Plasmaseparationsvermögen bzw. Saugwirkung überprüft. Die Ergebnisse von 20 Einmalteststreifen sind in dazu in *Tabelle 23* dargestellt.

Tabelle 23: Einmalteststreifen mit Mikrokanalgeometrie von 10 mm x 1 mm x 50 µm auf dem finalen Sensor Design mit n=20. Bei einem 10 µl großem kapillarem Blutstropfen aus der Fingerbeere haben 100% der Einmalteststreifen Plasma extrahiert und für die Zeit ab dem Dispensieren bis zum kompletten Vollfüllen des Mikrokanals, also die volle Kanallänge von 10 mm in (15,82 ± 2,69) s benötigt.

Einmalteststreifen	Saugzeit [s]	Einmalteststreifen	Saugzeit [s]
1	18,17	11	16,08
2	19,34	12	17,05
3	14,75	13	17,74
4	15,13	14	12,08
5	18,16	15	11,24
6	18,51	16	13,18
7	12,95	17	14,22
8	15,3	18	18,37
9	13,19	19	12,97
10	20,55	20	17,47
Mittelwert		15,82	
Standardabweichung		2,69	

Alle Einmalteststreifen (n=20) haben Plasma separiert. Die Zeit ab dem Dispensieren des 10 µl großen kapillaren Blutstropfen bis zum kompletten Auffüllen des Kanals wurde mit (15,82 ± 2,69) s im Mittel gemessen. In *Abbildung 31* ist einer der 20 Einmalteststreifen zu sehen.

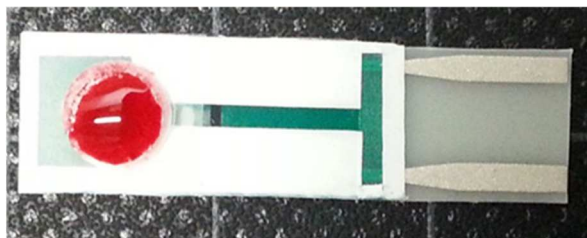


Abbildung 31 zeigt einen der 20 Einmalteststreifen mit dem Retentat (hauptsächlich Blutzellen) auf der Plasmaseparationsmembran und den mit Plasma gefüllten Mikrokanal.

4 Diskussion

4.1 Kontaktwinkelmessung und Benetzbarkeit von Materialien

Die Kontaktwinkelmessungen haben gezeigt, dass einige der untersuchten Materialien nicht für die Anwendung eines mikrofluidischen Kanals mit dem Fluid Blut (Plasma) geeignet sind. Ist der Kontaktwinkel im Bereich von 90° und darüber, also hydrophob, so ist schlechtes Benetzen der Oberflächen gegeben. Damit ist die Kapillarwirkung (Saugwirkung) des mikrofluidischen Kanals aufgrund von zu geringen Adhäsionskräften zwischen Festkörper und Flüssigkeit zu schwach und ein Einsaugen des Blutes in den Mikrokanal nicht möglich.

Der Kontaktwinkel von Wassers zur PET-Trägerfolie (70°) passt gut mit den in der Literatur gefunden Werten zusammen. Hierbei wurde bei PET ein Winkel von 71° angegeben [52][53]. Für Blut wurde kein Kontaktwinkel in der Literatur gefunden.

Der Kontaktwinkel der Isolierpaste SD 2462 NB weist mit $n=5$ Messwerten von $(70,0 \pm 2,2)^\circ$ zu Wasser und $(63,8 \pm 3,5)^\circ$ zu Blut eine gute Benetzbarkeit auf.

Sowohl die PET-Trägerfolie als auch die Isolierpaste SD 2462 NB sind gut als Substrat für den Mikrokanal geeignet.

Die Isolierpaste 5036 weist mit einem Kontaktwinkel von 63° zu Wasser eine gute Benetzbarkeit auf, hat jedoch in Bezug auf Blut einen eher schlechten Kontaktwinkel von 81° .

Bis auf 3 der gemessenen Klebebänder, haben alle anderen einen zu hohen Kontaktwinkel, sind somit hydrophob und weisen eine schlechte Benetzbarkeit auf. Das Klebeband office discount hat mit einem Kontaktwinkel von 67° zu Blut und 64° zu Wasser gute Kontakteigenschaften, und wurde deshalb auch für die Deckelung von Mikrokanälen verwendet. Das Tesa 51134 PE Surface Protection ist mit einem Winkel von 85° gerade noch im hydrophilen Bereich, weist jedoch mit einem Winkel von 72° zu Blut eine deutlich bessere Benetzbarkeit mit diesem Fluid auf. Das Tesa 04104 PVC-Träger hat mit 74° zu Wasser und 67° zu Blut eine gute Benetzbarkeit.

Jedoch keines der Klebebänder kann mit der Benetzbarkeit der Hydrophilic Folie von Tesa mithalten. Bei dieser wurde ein Kontaktwinkel von $(22,3 \pm 1,7)^\circ$ bei 5 Messungen zu Blut und $(21,0 \pm 2,5)^\circ$, für dieselbe Menge an Messungen zu Wasser, festgestellt (Der Hersteller verspricht einen Kontaktwinkel $< 30^\circ$). Der Vorteil der Folie ist jedoch nicht nur die gute

Benetzbarkeit und die daraus resultierende gute Kapillarwirkung, sondern auch die Tatsache, dass die Folie keinen Klebefilm aufweist (sie wird durch das doppelseitige Klebeband Tesa Spacer Tape fixiert) und somit bei der Deckelung des Mikrokanals diesen durch ein mögliches Einwölben der Folie in den Kanal, diesen nicht verschließen kann.

Die Messergebnisse der Kontaktwinkel des Scotch Magic 3M von 114° zu Blut und 109° zu Wasser erlauben die Verwendung dieses Klebebandes zur Fixierung der Plasmaseparationsmembran auf den Einmalteststreifen. Aufgrund der hydrophoben Eigenschaften des Klebebandes ist ein Verteilen des Blutes seitlich entlang Klebestelle zwischen Mikrofilter und Klebeband durch die Kapillarwirkung unmöglich. Fixierungen mit hydrophilen Klebebändern (z.B. office discount Klebefilm) haben gezeigt, dass das Blut in jede noch so kleine Ritze zwischen Klebeband, Mikrofilter und Einmalteststreifen eingezogen wurde und ein Unterlaufen bzw. Einziehen von Blut in den Mikrokanal somit möglich gemacht haben.

4.2 Hämokompatibilität der Materialien für den Kanalaufbau

Bei der Untersuchung der Hämokompatibilität der verwendeten Materialien hat, bis auf die Isolierpaste SD 2462 NB (45 min bei 120°C) (von 0,05 g/dl auf 0,06 g/dl), keines der Materialien nach 20 sekündiger Verweildauer des Blutes auf dem Prüfmaterial eine Erhöhung des Hämolysegrades in Bezug auf den Referenzwert zur Folge gehabt. Nach 2 minütiger Verweildauer ist der Hämolysegrad der Isolierpaste SD 2462 NB allerdings wieder auf 0,05 g/dl gesunken. Auch bei der PET-Trägerfolie ist eine Verringerung des Hämolysegrades nach 2 Minuten der Fall. Die Isolierpaste 5036 steigt in der zweiten Nachkommastelle um einen Wert, von 0,11 g/dl auf 0,12 g/dl. Ebenso steigt der Hämolysegrad der Isolierpaste SD 2462 NB (30 min bei 90°C) von 0,05 g/dl auf 0,06 g/dl nach 2 Minuten Kontaktdauer. Eine Veränderung des Serum-Hämoglobins von 1,5 g/dl würde bereits eine Hyperkaliämie hervorrufen [38], eine Veränderung von 0,01 g/dl verändert den Plasmakaliumwert lediglich um $\sim 0,03$ mmol/L, siehe Berechnung im Anhang (Kapitel 6.1 *Berechnung zur Hämolyse induzierten Kaliumerhöhung durch die Hämoglobinkonzentration im Plasma*).

Nach Rücksprache mit dem Hersteller des Hämoglobin Messgerätes, kann bedingt durch die Rundung des gemessenen Wertes, welcher zwar bis zur dritten Nachkommastelle ausgewertet wird, aber nicht am Display angezeigt wird, eine Veränderung in der zweiten Nachkommastelle entstehen. Somit können alle untersuchten Materialien für die Kontaktdauer von unter 2 Minuten als hämokompatibel eingestuft werden.

Die Ergebnisse der Überprüfungen der Kanalkombinationen auf Hämolyse haben gezeigt, dass bei Verwendung einer metallenen Kanüle und durch manuelles Ziehen des Blutes über den getesteten Mikrokanal, einige der Erythrozyten im Blut zerstört werden. Der Hämolysegrad hat sich hier von einem Referenzwert von 0,10 g/dl auf beinahe den doppelte Wert (0,18 g/dl) erhöht. Aufgrund dieser Erhöhung wurde der zweite Mikrokanal untersucht, sondern unter Zuhilfenahme einer Peristaltikpumpe und anstatt einer Kanüle, durch Verwendung eines hämokompatiblen Schlauches durch Einbinden (Kleben) in den Mikrokanal, die Methode angepasst. Hier wurde eine Veränderung von 0,01 g/dl für den 1.Mikrokanal und 0,02 g/dl für den 2.Mikrokanal gemessen. Diese Werte sind deutlich niedriger als der zuvor gemessene Wert, würden allerdings den zu messenden Kaliumwert dennoch verfälschen. Da für die Einzelkomponenten keine Beeinflussung auf den Hämolysegrad gemessen wurde, kann davon ausgegangen werden, dass die Veränderung des Hämolysegrades durch das aktive Pumpen durch den Kanal entstanden ist. Hierbei erfahren die Erythrozyten aufgrund von höherer Strömungsgeschwindigkeiten im Kanal höhere Scherkräfte, wodurch sie zerstört werden. Da der Mikrokanal passiv, also rein mit Kapillarkräften das Plasma vom Filter in Kanal zieht, kann davon ausgegangen werden, dass die Strömungsgeschwindigkeiten deutlich niedriger sind, als jene, welche durch aktives Pumpen erzeugt wurden. Außerdem ist in der finalen Lösung des Einmalteststreifens eine 100% Separation der Erythrozyten durch die Plasmaseparationsmembran gegeben, somit gelangen keine Erythrozyten in den Mikrokanal, und das Problem einer möglichen Hämolyse durch den Mikrokanal ist zu vernachlässigen. Weiters entspricht der Kanalaufbau nicht der finalen Konfiguration, d.h. die Kanalwände und die Deckelung sind durch andere Materialien ersetzt worden (siehe Kapitel 2.7.1 *Finaler Aufbau des Einmalteststreifens*).

4.3 Mikrofilter in der Anwendung als Plasmaseparationsmembranen

Nach einer Internetrecherche wurden von diversen Herstellern Mikrofilter als Muster angefordert. Einige davon kommen in der Dialyse zum Einsatz (z.B. Sartorius Sartoclean 56004E) oder werden vom Hersteller bereits als Plasmaseparationsmembran bezeichnet (Cobetter Filtration, Pall). Da eine Plasmareinheit von 100% angestrebt wurde und eine forcierte Hämolyse durch den Mikrofilter ausgeschlossen werden musste, wurden die Mikrofilter nach definierten Auswahlkriterien getestet. Die Kontaktwinkelmessung (Auswahlkriterium: Kontaktwinkel $< 30^\circ$) hat dabei gezeigt, dass mehrere Mikrofilter sehr hydrophobe Oberflächeneigenschaften aufwiesen, somit ein passives Filtern des Plasmas unmöglich war. Von jenen Mikrofiltern, bei denen eine Separation von Plasma durchführbar war (3 Hersteller), zeigte lediglich die Plasmaseparationsmembran Pall Vivid GR ein nicht rötlich gefärbtes Plasma. Der Hersteller gibt dabei eine definierte Blutmenge für eine gewisse

Filterfläche vor, bei der keine Hämolyse durch den Mikrofilter induziert wird. Die Ergebnisse der Messungen des Hämolysegrades haben gezeigt, dass für diese definierten Mengen keine durch Mikrofilter induzierte Hämolyse, gemessen wurde.

Die Plasmaseparationsmembran erfüllt somit, in der richtigen Anwendung von Probevolumen/Flächenverhältnis, die Anforderung von 100% reinem Plasma. Lediglich die Plasmarecoveryrate ist mit ~55% weit unter dem vom Hersteller versprochenem Wert von >80%. Da das Mikrokanalvolumen mit den Maßen von 10 mm x 1mm x 50 µl jedoch maximal 0,5 µl Plasma fasst, spielt der verminderte Recoverywert (bei einem 10 µl Blutstropfen würden bei einer 5 mm Plasmaseparationsmembran-Disc bei ~55% Plasmarecovery trotzdem noch ~3 µl Plasma extrahierbar sein) in dieser Konfiguration keine Rolle.

4.4 Kanalwände aus Isolierpaste

Die primäre Idee des Aufbaues der Kanalwände des Mikrokanals, war die Verwendung der Isolierpasten als Kanalwände. Hier wurden Kanalhöhen von 50 - 100 µm angestrebt. Da die Pasten sehr zähflüssige Fließeigenschaften aufweisen, ist ein Kanalaufbau damit durchaus möglich. Eine Reihe von Methoden, die nachfolgend beschrieben sind, wurde dazu entwickelt, um den Aufbau mit den Isolierpasten voranzutreiben.

- **Aushärtezeiten der Isolierpasten**

Zunächst waren die aufgrund vom Isolierpasten-Hersteller vorgegebenen Aushärtezeiten bzw. Temperaturen zu überprüfen und ob diese Parameter herabgesetzt werden können, um die bereits siebgedruckte ISE-Membran thermisch nicht zu stark zu belasten.

Die Isolierpaste 5036 wurde nach Herstellerangabe bei 120°C 5 Minuten lang getrocknet, um eine Referenz für die Gewichtsveränderung zu erhalten. Zwischen den Messpunkten bei 4 und 8 Minuten ist keine Gewichtsveränderung mehr ersichtlich. So wurde für die Isolierpaste 5036 eine Aushärtezeit von 10 Minuten bei 90°C durch Überprüfung der Gewichtsveränderung der auf die PET-Trägerfolien aufgebrachten Paste eruiert. Die Ergebnisse zeigen sowohl für die 125 µm als auch die 250 µm dicke Schicht nach 10 minütiger Trocknung keine Veränderungen mehr. Bereits ab 5 Minuten ist eine prozentuelle Gewichtsänderung nur mehr in den nicht signifikanten Nachkommastellen ersichtlich. Diese Isolierpaste weist ein sehr leicht verdampfbares Lösungsmittel auf, weshalb es für den Aufbau und Siebdruck der ISE-Membran genutzt wird.

Die Isolierpaste SD 2462 NB hat nach Herstellerangaben eine Aushärtezeit von 45 Minuten bei 120°C. Nachdem die Aushärtezeit sehr lang ist, wurde hier keine Referenz für die 90°C

Trocknungstemperatur benötigt. Die Ergebnisse zeigen, dass sich die Gewichtsänderung der Isolierpaste bereits nach 10 Minuten nur mehr in der zweiten Nachkommastelle verändert. Nach 30 Minuten ist sie praktisch ausgehärtet. Für die ISE-Membranen ist eine Belastung bei 90°C und 30 Minuten nicht kritisch. Somit ist ein Kanalaufbau mit beiden Isolierpasten möglich.

- **Schichtdicken der Isolierpasten**

Die Auswertungen der ausgehärteten Schichtdicken der Isolierpasten haben bei der Isolierpaste SD 2462 NB in Bezug auf die aufgetragene Schichtdicke, kaum Veränderungen gezeigt. So wurde bei einer 125 µm Schicht nach Aushärtung eine durchschnittliche Schichtdicke von $(107,08 \pm 18,56)$ µm gemessen. Trotz Aufbringung einer 125 µm Schicht, ergab sich bei der 5036 Isolierpaste im Mittel nur eine Schichtdicke nach der Aushärtung von $(48,66 \pm 13,52)$ µm. Dies würde bedeuten, dass die Isolierpaste auf mehr als die Hälfte durch Trocknung geschrumpft sei. Aus diesem Grund wurden Schrumpfmessungen durchgeführt, bei denen im Speziellen auf die Messung und Veränderung vor und nach dem Aushärten im Trockenschrank Augenmerk gelegt wurde.

Die Isolierpaste 5036 kommt bei der Herstellung der Membranen für die Referenz- und Arbeitselektrode zum Einsatz, weshalb sowohl händisch als auch siebgedruckte Membranen auf deren maximale Schichtdicke untersucht wurden. Die händisch dispensierten Referenzelektroden wiesen dabei Dicken von $(123,72 \pm 58,83)$ µm im Mittel auf. Diese Dicken übersteigen die angestrebten Mikrokanalhöhen deutlich, wodurch die ISE-Membranen ein Verschließen des Mikrokanals verursachen würden. Bei den siebgedruckten ISE-Membranen ergab sich eine mittlere Membranhöhe von $(37,26 \pm 13,20)$ µm für n=4 Sensoren und für weitere vier eine mittlere Dicke von $(44,36 \pm 6,13)$ µm. Hier würde die Membran einen einmal-bedruckten Mikrokanal nicht ganz verschließen, jedoch eine deutliche Verengung im Kanal hervorrufen. Bei Kanalhöhen jenseits der 50 µm würde das keine Probleme machen.

Im Zuge der Überprüfung der ISE-Membran-Schichtdicken wurde die mit Kohlepaste siebgedruckte Schicht auf deren Höhe mituntersucht. Hier wurden Schichtdicken von $(15,63 \pm 7,37)$ µm, $(11,23 \pm 3,46)$ µm und $(14,80 \pm 4,19)$ µm für jeweils 12 Messpunkte gewonnen. Die Kohlepaste alleine beeinflusst durch ihre Höhe die Mikrokanalhöhe somit nur marginal.

- **Schrumpf der Isolierpasten**

Eine mittlere Veränderung der Schichtdicke um $(69,29 \pm 6,22)$ % bei 12 gemessenen Prüfmustern war das Resultat. Damit kann diese Isolierpaste zum Aufbau als Kanalwand ausgeschlossen werden. Bei einer Bedruckung von $50 \mu\text{m}$ würde hier eine Kanalhöhe von $\sim 15 \mu\text{m}$ resultieren. Damit würde der Kanal deutlich niedriger sein als die gedruckten ISE-Membranen.

Bei der Aufbringung der Isolierpaste mittels eines geeigneten Siebgewebes kann man gemäß Angabe der Firma Siebtronic (Siebhersteller) mit einer Bedruckung von einer $\sim 50 \mu\text{m}$ dicken Schicht der Isolierpaste ausgehen. Für Kanalhöhen mit größerer Schichtdicke ist somit eine Doppelbedruckung nötig. Dies setzt ein exaktes Positionieren des zweiten Druckes auf den Ersten voraus, ist mit der vorhandenen Siebdruckmaschine jedoch praktisch sehr schwer durchführbar. Außerdem würde die zweite Schicht in den Mikrokanal der zuvor aufgetragenen Schicht hineinrinnen. Des Weiteren würde hier eine doppelte thermische Belastung (durch den Aushärtungsvorgang der Isolierpaste) der ISE-Membranen erfolgen, falls diese vor der Isolierschicht gedruckt wird. Im Falle einer nachfolgenden Bedruckung der ISE-Membranen würde das Drucksieb aufgrund der Kanalhöhe keinen Kontakt zum Kanalboden schaffen und ein Bedrucken somit unmöglich machen.

Aufgrund dieser Vielzahl an Faktoren, aber vor allem weil die Deckelung der Mikrokanäle mit Klebebändern erfolgte (Kanäle teilweise vom Klebeband zugeklebt, somit keine Saugwirkung erzielt), wurde der alleinige Aufbau der Mikrokanalwände durch Isolierpasten nicht weiter verfolgt. Die Deckelung der Isolierpaste ist nur dann möglich, wenn ein speziell dafür hergestelltes Klebeband, welches über die Kanalbreite keine Klebeigenschaften aufweist, produziert wird. Laut der Firma Tesa werden erst ab einer Mindestabnahmemenge von mehreren 100.000 Stück sonderangefertigte Klebebänder hergestellt.

4.5 Mikrokanäle aus Kombination der Isolierpaste SD 2462 NB und des Tesa Spacer Tapes

Aus diesem Grund wurde die Kanalkombination aus der Isolierpaste SD 2462 NB, dem Tesa Spacer Tape und der Hydrophilic Folie auf deren Saugenschaften überprüft. Einerseits kann hier durch die Erhöhung mit dem Spacer Tapes eine Kanalhöhe von $(122,03 \pm 9,85) \mu\text{m}$ erreicht werden, andererseits ist ein Zukleben der Mikrokanäle nicht mehr möglich, da das Spacer Tape als doppelseitiges Klebeband die Fixierung auf der Isolierpaste und das Anhaften der Hydrophilic Folie übernimmt. Die Saugenschaften der Mikrokanäle aus den Materialkombinationen weisen jedoch unzureichende Ergebnisse auf. Lediglich 50% der

Kanäle haben aus der Plasmaseparationsmembran extrahiertes Plasma über den Mikrokanal gezogen. Der auf der Unterseite der Plasmaseparationsmembranen entstehende Plasmotropfen benetzt den Mikrokanal, aufgrund des zu großen Abstandes zwischen Mikrofilter und Kanalboden, in nur 50% der Fälle und kann somit nicht in den Mikrokanal gezogen werden.

Die Isolierpaste SD 2462 NB muss jedoch auf dem Kaliumsensor zur elektrischen Isolierung aufgebracht werden. Darum wurde sie als Option für den Boden (Substrat) des Mikrokanals untersucht.

4.6 Mikrokanäle mit dem doppelseitigem Klebeband Spacer Tape und der Hydrophilic Folie als Deckelung

- **Bestimmung des Substrates des Mikrokanals durch Optimierung der Oberflächenbeschaffenheit der Isolierpaste SD 2462 NB**

Eine Optimierung der Oberflächenbeschaffenheit der Isolierpaste SD 2462 NB wurde durch das Abschleifen der ausgehärteten Paste mit einem Papiertuch erreicht. Mit der Schichtdickenmessung wurde dabei eine Veränderung der durchschnittlichen Oberflächenrauheit von $(5,50 \pm 1,09) \mu\text{m}$ auf $(2,88 \pm 0,53) \mu\text{m}$, also beinahe die Hälfte, gemessen. Die Optimierung zeigte bei der Auswahl des Substrates für den Mikrokanal, dass die PET-Trägerfolie (mittlere Saugzeit über die Kanäle von $(52,20 \pm 3,63) \text{ s}$) im Vergleich zur unbearbeiteten Isolierpaste SD 2462 NB ($(83,60 \pm 20,43) \text{ s}$) zwar deutlich schneller den Kanal mit Blut füllte, allerdings waren die Ergebnisse der bearbeiteten Isolierpaste SD 2462 NB mit $(32,80 \pm 1,92) \text{ s}$ wesentlich besser. Außerdem zeigte die Optimierung am Basis Design des Einmalteststreifens eine Reduktion der Zeit, bis Plasma in den Mikrokanal gezogen wurde, von durchschnittlich $(14,25 \pm 4,03) \text{ s}$ auf $(10,80 \pm 4,57) \text{ s}$. Die Fließzeit des Plasmas über den Mikrokanal (Länge von 10 mm) konnte dabei von durchschnittlich $(49,00 \pm 28,35) \text{ s}$ auf $(25,70 \pm 13,65) \text{ s}$ reduziert werden. Die Optimierung der Oberflächenbeschaffenheit zeigt eindeutig, dass sowohl die Ansaugzeit, als auch die Fließgeschwindigkeit im Mikrokanal markant verbessert werden konnten. Bei der Strömungsgeschwindigkeit wurde sogar beinahe eine Halbierung der Füllzeit des Mikrokanals mit Plasma erreicht, was eine Verdopplung für die Fließgeschwindigkeit bedeutet. Aufgrund dieser Erkenntnisse wurde die Isolierpaste SD 2462 NB als Boden des Mikrokanals ausgewählt.

Mit dem doppelseitigen Klebebandes Spacer Tape, ist eine konstante Dicke des Mikrokanals von $50 \mu\text{m}$ gegeben. Es können somit durch doppeltes Bekleben auch Kanalhöhen von 100

μm aufgebaut werden. Außerdem kann das Klebeband mit unterschiedlichen Dicken bestellt werden (als Muster war nur das $50\ \mu\text{m}$ dicke Spacer Tape zu bekommen). Nachdem die Ergebnisse der Mikrokanalkombinationen gezeigt haben, dass bei Mikrokanalhöhen um die $100\ \mu\text{m}$, ein Einsaugen des Plasmas in den Filter nur in der Hälfte der Fälle funktionierte, wurde das finale Design des Einmalteststreifens auf $50\ \mu\text{m}$ reduziert.

4.7 Finales Design und Aufbau des Einmalteststreifens

Im finalen Design wurde, durch ein grundsätzliches Aufliegen der Plasmaseparationsmembran auf dem Kanalboden, d.h. der Mikrofilter hat Kontakt zum Mikrokanalboden, ein 100%iges Einsaugen in den Mikrokanal (siehe *Abbildung 32*), erzielt. Die Plasmaseparationsmembran hat dabei durch ihre Flexibilität einerseits Kontakt zum Substrat, kann andererseits aber auch über den Mikrokanal (Höhe durch Spacer Tape und Hydrophilic Folie $\sim 150 \mu\text{m}$) gelegt werden. Dadurch wird das Plasma in jedem Fall in den Mikrokanal befördert und Blut kann beim Dispensieren auf die Plasmaseparationsmembran nicht in den Mikrokanal gelangen. Außerdem ergeben sich daraus sehr kurze Saugzeiten. Das Plasma konnte, ab Dispensieren eines $10 \mu\text{l}$ großen Blutstropfens auf die Plasmaseparationsmembran, über die Mikrokanallänge von 10 mm in der Zeit von $(15,82 \pm 2,69) \text{ s}$ gezogen werden. Für den kompletten Trennprozess und das Auffüllen des Einmalteststreifens wird also in etwa die Zeit benötigt, die das beste der untersuchten Designs fürs Extrahieren des Plasma aus dem Mikrofilter benötigt hat. Dabei ist der Mikrokanal aber noch nicht mit Plasma gefüllt.

Die Vorgabe war die Abtrennung der Erythrozyten und ein Auffüllen des Mikrokanals mit Plasma innerhalb von 2 Minuten. Das finale Einmalteststreifendesign füllt sich in 15 % der geforderten Zeit. Berechnungen zum finalen Design nach den Formeln wie im Kapitel 1.1.1 *Mikrofluidik* angesprochen, sind im Anhang in Kapitel 6.2 *Berechnung zur Kanalsaugwirkung des finalen Designs mit Plasma* zu finden.

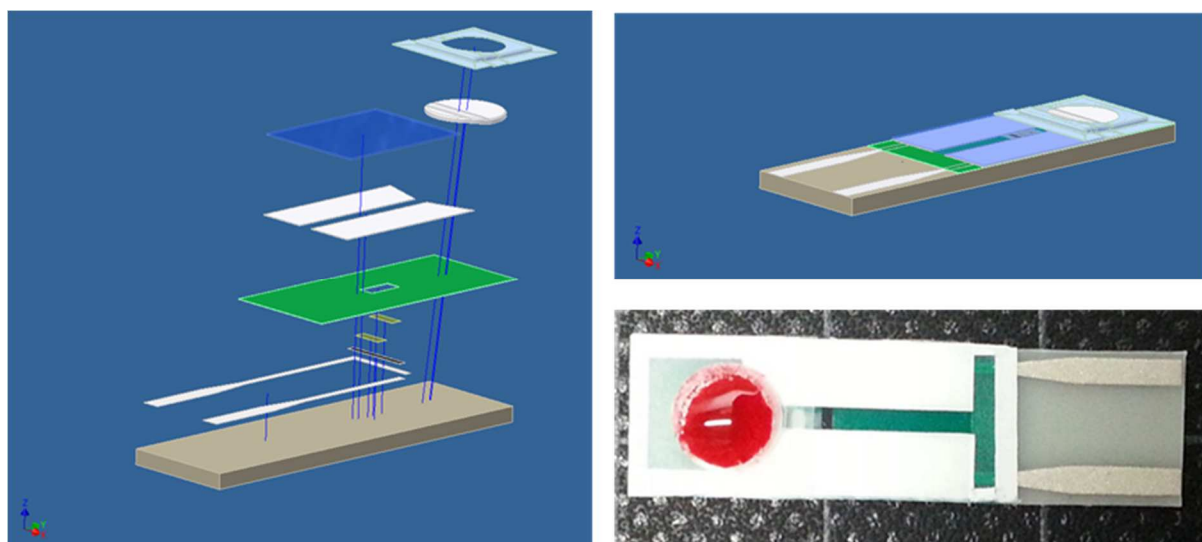


Abbildung 32: linkes Bild: Explosionszeichnung des finalen Designs (AutoCAD Inventor). Rechtes oberes Bild: Zusammengebautes finales Design (AutoCAD Inventor). Rechtes unteres Bild: Zusammengebauter Kaliueinmalteststreifen in Natura, mit dispensiertem Blut auf der Plasmaseparationsmembran und angesaugtem Plasma im Mikrokanal.

5 Literatur

- [1] Schiefthaler A. : Point of Care Diagnostik. (2012) [zitiert 2015 Dez 3].: Abgerufen von: [http://www.biomed-austria.at/fachartikel/Point of Care S.22-23.pdf](http://www.biomed-austria.at/fachartikel/Point%20of%20Care%20S.22-23.pdf)
- [2] LARA WINCKLER, FLORIAN FISCH, VALÉRIE LABONTÉ HZ. : Die Entdeckung der Schnelligkeit. *Laborjournal* 3: 40–49 (2012)
- [3] Nguyen N-T. : Mikrofluidik: Entwurf, Herstellung und Charakterisierung. Vieweg+Teubner Verlag; (2004).
- [4] Weber M. : Das Wachstum von Verwaltungsorganisationen: Formen, Ursachen und Grenzen. Springer-Verlag; (2013) [zitiert 2015 Dez 2].
- [5] Waldbaur, Ansgar. : Entwicklung eines maskenlosen Fotolithographiesystems zum Einsatz im Rapid Prototyping in der Mikrofluidik und zur gezielten Oberflaechenfunktionalisierung. KIT Scientific Publishing; (2013) [zitiert 2015 Dez 15].
- [6] Kramer C, Mühlbauer A. : Praxishandbuch Thermoprozess-Technik: Grundlagen - Verfahren. Essen: Vulkan-Verlag GmbH; (2002) [zitiert 2015 Dez 15].
- [7] Eberhardt P. : Entwicklung eines mikrofluidischen Systems zur Handhabung von Magnetpartikeln. Karlsruhe; (2008).
- [8] Wibel W. : Untersuchungen zu laminarer, transitioneller und turbulenter Strömung in rechteckigen Mikrokanälen. Karlsruhe;; (2009)
- [9] Giancoli DC. : Physik: Lehr- und Übungsbuch. Pearson Deutschland GmbH; (2010) [zitiert 2015 Dez 7].
- [10] Versuch 2.2. Filtration/Ultrafiltration. Abgerufen von: http://www.chemgeo.uni-jena.de/chemedia/Institute/ITUC/Praktikum+Versuche+/2_2Filtration.pdf
- [11] Yu ZTF, Yong KMA, u. a. : Microfluidic Blood Cell Preparation: Now and Beyond. *Small* 10: 1687–1703 (2015)
- [12] Sajeesh P, Sen AK. : Particle separation and sorting in microfluidic devices: a review. *Microfluid. Nanofluidics* 17: 1–52 (2013)
- [13] Kersaudy-Kerhoas M, Sollier E. : Micro-scale blood plasma separation: from acoustophoresis to egg-beaters. *Lab Chip* 13: 3323–3346 (2013)
- [14] Melin T, Rauternbach R. : Membranverfahren. Aachen: Springer Verlag; (2007).
- [15] Melin T, Rauternbach R. : Ultrafiltration und Mikrofiltration. *Membranverfahren* : 309–386 (2006)
- [16] Ohlrogge K, Ebert K. : Membranen: Grundlagen, Verfahren und Industrielle Anwendungen. John Wiley & Sons; (2012) [zitiert 2015 Dez 1].
- [17] Kraume M. : Transportvorgänge in der Verfahrenstechnik: Grundlagen und apparative Umsetzungen. Springer-Verlag; (2013) [zitiert 2015 Dez 3].
- [18] Homsy A, van der Wal PD, u. a. : Development and validation of a low cost blood filtration element separating plasma from undiluted whole blood. *Biomicrofluidics* 6: 1–9 (2012)
- [19] Mutschler E, Geisslinger G, u. a. : Mutschler Arzneimittelwirkungen: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie. 8. Aufl. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart; (2001) [zitiert 2015 Dez 15].

- [20] Zalpour C. : Anatomie Physiologie. München: Elsevier Urban & Fischer; (2002).
- [21] Bethe A, Bergmann G v., u. a. : Blut und Lymphe: Erster Teil Blut. Berlin: Springer-Verlag; (2013) [zitiert 2015 Dez 20].
- [22] Thomas L. : Blutentnahme und Probentransport. *Dtsch. Arztebl.* 40: (1991)
- [23] Preynat-Seauve O, Deom A, u. a. : TECHNISCHES DATENBLATT 31 Hämolysierte, lipämische, ikterische Proben. (2010).: Abgerufen von: http://www.cscq.ch/SiteCSCQ/FichierPDF_DE/haemolysierte-lipaemische-ikterische-proben.pdf
- [24] Kamke D, Walcher W. : Physik für Mediziner. Springer-Verlag; (2013) [zitiert 2015 Dez 2].
- [25] Baskurt OK, Meiselman HJ. : Blood Rheology and Hemodynamics. *Semin. Thromb. Hemost.* 29: 435–450 (2003)
- [26] Oertel HJ. : Bioströmungsmechanik: Grundlagen, Methoden Und Phänomene. (2011) [zitiert 2015 Nov 30].
- [27] Westerhof N, Stergiopoulos N, u. a. : Snapshots of Hemodynamics: An Aid for Clinical Research and Graduate Education. Springer Science & Business Media; (2010) [zitiert 2015 Nov 23].
- [28] Madea B. : Rechtsmedizin: Befunderhebung, Rekonstruktion, Begutachtung. Springer-Verlag; (2014) [zitiert 2015 Nov 30].
- [29] Hinghofer-Szalkay HG. : Physiologie: Funktion der Plasmaproteine. [zitiert 2015 Dez 1]. Abgerufen von: <http://user.medunigraz.at/helmut.hinghofer-szalkay/VII.8.htm>
- [30] Peschel O, Ramsthaler F, u. a. : Forensische Blutspurenmusteranalyse. Lehmanns Media; (2015) [zitiert 2015 Nov 30].
- [31] Wilhelm JG. : Chemische Nanotechnologie : Superhydrophobe und superhydrophile Oberflächen. : 1–29 (2011)
- [32] Kontaktwinkel - KRÜSS GmbH. (2015) [zitiert 2015 Nov 20]. Abgerufen von: <http://www.kruss.de/de/service/schulung-theorie/glossar/kontaktwinkel/>
- [33] Nürnberg E. SP. : Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis. 2. Aufl. Springer Verlag; (1991).
- [34] Morgenstern U, Kraft M. : Biomedizinische Technik – Faszination, Einführung, Überblick, Volume 1. De Gruyter; (2014) [zitiert 2015 Dez 1].
- [35] Wintermantel E, Ha S-W. : Medizintechnik Life Science Engineering. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; (2008) [zitiert 2015 Dez 1].
- [36] Biologische Beurteilung von Medizinprodukten - Teil 4: Auswahl von Prüfungen zur Wechselwirkung mit Blut (ISO 10993-4:2002, einschließlich Änderung 1:2006). (2009).
- [37] Schlieper CA. : Grundfragen der Ernährung. 20. Aufl. Hamburg: Dr. Felix Büchner - Handwerk und Technik; (2010).
- [38] Rastegar A. : Serum Potassium. Butterworths; (1990) [zitiert 2015 Nov 25].
- [39] Schwinger R, Antoni DH, u. a. : Simultaneous determination of magnesium and potassium in lymphocytes, erythrocytes and thrombocytes. *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.* 1: 89–98 (1987)
- [40] Hagemann P. : Präanalytische Fälle. Berlin/Boston: De Gruyter; (2014) [zitiert 2016 Jän 7].

- [41] Meyer S. : Fakten und Zahlen zum Thema herzinsuffizienz. [zitiert 2015 Nov 30].
Abgerufen von:
http://wwwp.medtronic.com/Newsroom/NewsReleaseDetails.do?itemId=1103530150236&lang=de_DE
- [42] Herzinsuffizienz – die neue medizinische Herausforderung unserer Zeit ›
gesund.co.at. [zitiert 2015 Nov 27]. Abgerufen von:
<http://gesund.co.at/herzinsuffizienz-11953/>
- [43] Lopez-Sendon J. : The heart failure epidemic. *Medicographia* 33: (2011)
- [44] Auer J. : Chronische Herzinsuffizienz. *Österreichisches Herzjournal* (2013)
- [45] Heinen-Kammerer T, Kiencke P, u. a. : Telemedizin in der Tertiärprävention: Wirtschaftlichkeitsanalyse des Telemedizin-Projektes Zertiva® bei Herzinsuffizienz-Patienten der Techniker Krankenkasse. Kirch, W.; Badura, B., Herausgeber. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag; (2006) [zitiert 2015 Nov 27].
- [46] Gesundheitsausgaben in Österreich laut System of Health Accounts (OECD) 1990-2013. (2013) [zitiert 2015 Nov 27]. Abgerufen von:
http://www.statistik.at/web_de/statistiken/menschen_und_gesellschaft/gesundheit/gesundheitsausgaben/019701.html
- [47] Gut leben mit Herzinsuffizienz - Springer Professional Media, Bereich Medizin. (2013) [zitiert 2015 Nov 27]. Abgerufen von: <http://www.springermedizin.at/artikel/33800-gut-leben-mit-herzinsuffizienz>
- [48] Siewert JR, Rothmund M, u. a. : Praxis der Viszeralchirurgie: Endokrine Chirurgie. Springer-Verlag; (2012) [zitiert 2015 Nov 26].
- [49] Prischl F. : Chronische Niereninsuffizienz. *Universum Inn.* 4: (2005)
- [50] Pohanka E. : Weltnierentag 2013: Über 2 Millionen Österreicher unterliegen dem Risiko einer chronischen Niereninsuffizienz | Welldone Werbeagentur GmbH, 13.03.2013 | APA-OTS. [zitiert 2015 Nov 26]. Abgerufen von:
http://www.ots.at/presseaussendung/OTS_20130313_OTS0178/weltnierentag-2013-ueber-2-millionen-oesterreicher-unterliegen-dem-risiko-einer-chronischen-niereninsuffizienz
- [51] TOPAS Cyclic Olefin Copolymer (COC). (2011).: 20 Abgerufen von:
[http://www.topas.com/sites/default/files/files/TOPAS_Brochure_E_2014_06\(1\).pdf](http://www.topas.com/sites/default/files/files/TOPAS_Brochure_E_2014_06(1).pdf)
- [52] Wittke R. : Darstellung und Untersuchung funktionalisierter Polymeroberflächen. : 93 (2005)
- [53] Hopmann C. : Plasmagestützte Hochbarrierebeschichtung. (2010)
- [54] Gersten T. : RBC indices: MedlinePlus Medical Encyclopedia. (2014) [zitiert 2016 Jän 22]. Abgerufen von: <https://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/003648.htm>

5.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Analytische und experimentelle Lösung eines Mikrokanals.....	7
Abbildung 2: Größe der abzutrennenden Komponenten und der dazu definierte	9
Abbildung 3 zeigt eine Membran in der Anwendung im Dead-End-Betrieb.....	14
Abbildung 4: Viskosität des Blutes μ in Abhängigkeit der Scherrate du/dz	20
Abbildung 5: Darstellung der Viskosität als Funktion des Hämatokritwertes	21
Abbildung 6: links: Wassertropfen auf einer hydrophilen Oberfläche	23
Abbildung 7: Kanäle auf PET-Trägerfolie geformt aus Isolierpaste	35
Abbildung 8: Modulare Auswahlmöglichkeiten des Tesa Spacer Tapes mit Schichtdicken	36
Abbildung 9: 50 μm hohe Kanalaufbauten mit dem Spacer Tape gedeckelt	36
Abbildung 10: Kanalkombination aus der Isolierpaste SD 2462 NB	37
Abbildung 11: Basis Sensor Design mit aufgebautem Mikrokanal.....	38
Abbildung 12: Überprüfung der Kanalkombinationen auf Hämokompatibilität.....	43
Abbildung 13 zeigt die Auswahlkriterien, nach welchen die Mikrofilter	45
Abbildung 14: Dieses Bild zeigt das digitale Mikroskop VHX der Firma Keyence.....	51
Abbildung 15: Vermessung der Schichtdicke, der Kanalbreite	52
Abbildung 16: Oberflächenveränderung der Isolierpaste SD 2462 NB.....	53
Abbildung 17: Im linken oberen Bild sind die mit Vollblut gefüllten Kanäle.....	56
Abbildung 18 zeigt das in AutoCAD 2010 gezeichnete Design.	57
Abbildung 19: Im linken Bild ist die Explosionszeichnung des kompletten Einmalteststreifens dargestellt, rechts im Bild ist der zusammengebaute Einmalteststreifen zu sehen.	57
Abbildung 20: Links oben im Bild: Das Sieb für die Silberschicht.....	58
Abbildung 21: Aufbau von 20 Einmalteststreifen auf den siebgedruckten Kaliumsensoren.....	60
Abbildung 22: Kontaktwinkelmessung der PET-Trägerfolie.....	62
Abbildung 23: Kontaktwinkel von Blut (li.) mit 65° und Wasser (re.) mit 64° zur Isolierpaste SD 2462 NB.	62
Abbildung 24: Kontaktwinkel der Isolierpaste DuPont 5036	62
Abbildung 25: Kontaktwinkel des Office discount Klebefilms.....	63
Abbildung 26: Kontaktwinkelbestimmung des Klebebandes Scotch Magic.....	63
Abbildung 27: Ergebnis einer der Kontaktwinkelmessung	64
Abbildung 28: Prozentueller Gewichtsverlust der Isolierpaste 5036	69
Abbildung 29: Gewichtsverlust der DuPont Isolierpaste 5036	70
Abbildung 30: Prozentueller Gewichtsverlust der Isolierpaste SD 2462 NB.....	72
Abbildung 31 zeigt einen der 20 Einmalteststreifen mit dem Retentat (hauptsächlich Blutzellen) auf der Plasmaseparationsmembran und den mit Plasma gefüllten Mikrokanal.	83
Abbildung 32: linkes Bild: Explosionszeichnung des finalen Designs (AutoCAD Inventor).	92
Abbildung 33: Kanalgeschwindigkeit über die Kanallänge des finalen Mikrokanals mit $l = 10 \text{ mm}$, $b = 1 \text{ mm}$ und $h = 0,05 \text{ mm}$	101

5.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Kontaktwinkel und Auswahlkriterien der Mikrofilter.....	46
Tabelle 2: Plasmarecovery aus verschiedenen Filterdurchmessern	48
Tabelle 3: Ergebnisse der Kontaktwinkelmessungen der Klebebänder.....	63
Tabelle 4: Ergebnisse der Kontaktwinkelmessungen der Mikrofilter	64
Tabelle 5: Ergebnisse der Hämolysemessungen.....	65
Tabelle 6: Ergebnisse der Überprüfung der Kanalkombinationen auf Hämolyse.	65
Tabelle 7 zeigt die Mikrofilter die auf Plasmaseparationsvermögen überprüft wurden.	66
Tabelle 8 zeigt die Ergebnisse der Überprüfung der Plasmaseparationsmembran Pall Vivid GR auf Hämolyse.....	67
Tabelle 9: Ergebnisse der Wägung der mit der Isolierpaste 5036 (Firma DuPont)	68
Tabelle 10: Ergebnisse der Wägung der mit der Isolierpaste 5036 (Firma DuPont) abgezogenen Sheets.....	69
Tabelle 11: Änderung des Gewichts der Isolierpaste SD 2462 NB	71
Tabelle 12: Schichtdickenmessung der Kanalkombination.....	74
Tabelle 13: Ergebnisse der Schrumpfmessung der Isolierpaste 5036	76
Tabelle 14: Darstellung der Ergebnisse der Messung des Schrumpfes beim Aushärten bei 130°C und 45 Minuten Trocknungszeit der Isolierpaste SD 2462 NB	76
Tabelle 15: Ergebnisse der Kanalsaugeigenschaften mit n=5 Kanälen, pro Prüfreihe und Blut als Prüffluid (10 µl)	77
Tabelle 16 zeigt die Kanalsaugzeiten der Mikrokanäle, welche mit dem Klebeband Office discount gedeckelt und die PET-Trägerfolie als Substrat hatten.....	78
Tabelle 17: Ergebnisse der Kanalsaugzeiten über die Länge des Kanals mit der PET-Trägerfolie als Substrat.	78
Tabelle 18: Kanalsaugeigenschaften bei einem Kanal mit der Geometrie L = 20 mm, B = 1 mm, H = 50 µm.....	79
Tabelle 19 zeigt die Saugeigenschaften der Kanalwandkombination aus SD 2462 NB und des Tesa Spacer Tapes.	80
Tabelle 20: Kanalgeometrie: 10 mm x 1 mm x 50 µm – Die vier Testkanäle haben alle innerhalb von 20 Sekunden Plasma aus dem Mikrofilter extrahiert und den 10 mm langen Kanal voll gezogen. Alle Kanäle haben in (15,25 ± 3,40) s Plasma gezogen.	81
Tabelle 21: Kanalgeometrie: 10 mm x 1 mm x 50 µm. Alle Kanäle (n=4) haben innerhalb von (14,25 ± 4,03) s Plasma extrahiert und in von (49,00 ± 28,35) s den 10 mm langen Mikrokanal mit Plasma vollgefüllt.....	81
Tabelle 22: Saugeigenschaften des Basis Sensor Designs mit abgeschliffener Isolierpaste.....	82
Tabelle 23: Einmalteststreifen mit Mikrokanalgeometrie von 10 mm x 1 mm x 50 µm auf dem finalen Sensor Design mit n=20.	83

6 Anhang

6.1 Berechnung zur Hämolyse induzierten Kaliumerhöhung durch die Hämoglobinkonzentration im Plasma

1 Erythrozyt hat im Mittel $\sim 2,9 * 10^{-11}$ g Hämoglobin [54]

eine Veränderung von 0,01 g/dl im freien Hämoglobin (gemessen mit Hemocue) wird durch Hämolyse von 3125 Erythrozyten pro μ l Blut verursacht.

$$0,01 \text{ g/dl} \triangleq 1 * 10^{-7} \text{ g} / \mu\text{l}$$

$$\frac{1 * 10^{-7} \text{ g} / \mu\text{l}}{2,9 * 10^{-11} \text{ g} / \text{Ery}} = 3448 \text{ Ery} / \mu\text{l}$$

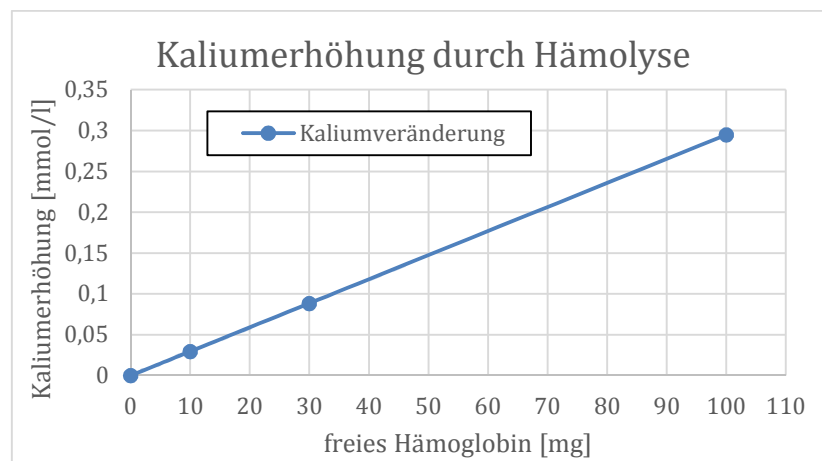
1 Erythrozyt hat im Mittel $\sim 8,55 \text{ fmol Kalium} / \text{Ery} \triangleq \sim 8,55 * 10^{-12} \text{ mmol} [K^+] / \text{Ery}$ [39]

$$[K^+] = 3448 \text{ Erys} / \mu\text{l} * 8,55 * 10^{-12} \text{ mmol} K^+ / \text{Ery} = 2,95 * 10^{-8} \text{ mmol} / \mu\text{l}$$

$$[K^+] = 0,0295 \text{ mmol} / \text{l}$$

Der Referenzbereich für das freie Hämoglobin im Blutplasma liegt bei < 20 mg/dl. Eine leichte Rotfärbung des Plasmas wird bei circa 30 mg/dl [23] sichtbar. Bei 50 mg/dl ist diese schon sehr stark ausgeprägt. Bei 100 mg/dl freiem Hämoglobin sind in etwa 0,7% der Erythrozyten (je nach Hämatokritwert) in der Probe zerstört.

Aufgrund der obigen Berechnungen kann ein linearer Zusammenhang zwischen der Hämoglobin Konzentration und der Erhöhung der Kaliumkonzentration im Plasma folgendermaßen dargestellt werden:



6.2 Berechnung zur Kanalsaugwirkung des finalen Designs mit Plasma

Berechnung der Reynoldszahl aufgrund der gemessenen Kanalzeiten über die Kanallänge:

Maximale Geschwindigkeit bei finalem Design mit ~16 s (wobei hier die Separationszeit inbegriffen ist) über 10 mm Kanallänge:

$$u = \frac{s}{t} = \frac{10}{16} = 0,63 \text{ mm/s}$$

Nach Formel (1) ergibt sich eine Reynoldszahl von:

$$Re = \frac{\rho * u * D_h}{\eta} = 0,041$$

wobei für ρ die Dichte von Plasma bei 37°C mit 1020 kg/m³ und η die dynamische Viskosität von Plasma bei 37°C mit 1,5 * 10⁻³ Pas eingesetzt wurden.

Der hydraulische Durchmesser bei einer Kanalbreite von b = 1 mm und einer Kanalhöhe von h = 0,05 mm ergibt sich nach Formel (3) zu:

$$D_h = \frac{2 * h * b}{(h + b)} = 0,095 \text{ mm}$$

Nach Formel (5) kann der fluidische Widerstand für einen rechteckigen Kanal berechnet werden, wobei hier $w \gg h$ gilt:

$$R_{fluid} = \frac{12 * \eta * L}{b * h^3} = 1,44 * 10^{12} \text{ Ns/m}^5$$

Fließt ein Tropfen von einem breiten in einen engen Kanal, so kann die Druckdifferenz am Übergang zwischen dem engen und dem breiten Abschnitt durch Formel (9) dargestellt und durch nachfolgende Formulierung berechnet werden [3]:

$$\Delta p = 2 \sigma_{lg} * \cos \theta * \left(\frac{1}{R_1} - \frac{1}{R_2} \right)$$

wobei hier die beiden Radien der Menisken bekannt sein müssen. Der Meniskus im Kanal ist durch die Breite des Kanals definiert, der Meniskus vor dem Kanal muss angenommen werden. Er muss jedoch größer sein als der im Kanal, sonst würde sich kein Druckunterschied ergeben. Für σ_{lg} wurde die Oberflächenspannung von Plasma bei 37°C mit 0,073 N/m und für $R_1 = 0,5$ mm die halbe Kanalbreite eingesetzt.

Nach der Formel

$$\Delta p = \lambda_l * \frac{l}{D_h} * \rho * \frac{u^2}{2}$$

mit $\lambda_l = \frac{c}{Re}$ als Druckverlustbeiwert für laminare Strömungen und c als Geometriefaktor für rechteckige Kanäle bei einem Seitenverhältnis a von 20 ($a = \frac{b}{h} = \frac{1mm}{0,05mm} = 20$) ergibt sich daraus ein Wert von 90 [7]. Der Druckverlust kann ebenso bestimmt werden und durch Umformen mit Formel (9) der Meniskus für R_2 bestimmt werden.

Für Δp ergibt sich eine Druckdifferenz von 47 Pa und für den zweiten Meniskus vor dem Kanal $R_2 = 0,65$ mm bei einem Kontaktwinkel von 46° . Dieser wurde gemittelt aus dem Kontaktwinkel von $\sim 70^\circ$ für den Boden des Kanals (Isolierpaste SD 2462 NB) und der Deckelung mit der hydrophilic Folie (Kontaktwinkel von $\sim 22^\circ$).

Der Volumenstrom nach Formel (6)

$$\Delta P = R_{fluid} * \dot{Q}_m$$

ergibt sich zu $\dot{Q}_m = 3,3 * 10^{-11} \text{ m}^3/\text{s}$, bei einer Fläche von

$$A = b * h = 5 * 10^{-8} \text{ m}^2$$

eine Geschwindigkeit nach Formel (7)

$$\dot{m} = \rho * u * A = \rho * \dot{Q}_m$$

Von $u = \frac{\dot{Q}_m}{A} = 3,3 * 10^{-11} / 5 * 10^{-8} = 6,5 * 10^{-4} \text{ m/s}$

Diese Geschwindigkeit von 0,65 mm/s stimmt gut mit der gemessenen Geschwindigkeit von 0,63 mm/s überein. Jedoch ist diese abhängig vom Druckverlust über den Kanal, welcher maßgeblich durch den Meniskus R_2 vor dem Kanal, beeinflusst wird. Dieser kann durchaus variabel und von folgenden Faktoren abhängig sein:

- Dispensiertes Probenvolumen
- Positionierung der Plasmaseparationsmembran auf dem Mikrokanal
- Tropfenbildung unterhalb der Plasmaseparationsmembran
- Kontaktwinkel der Oberflächen

Für R_2 sind Werte geometriebedingt von $> 0,5$ mm bis 2 mm möglich, weshalb der Druckunterschied zwischen > 0 Pa bis 152 Pa variieren kann. Daraus ergeben sich die verschiedenen Saugzeiten der unterschiedlich getesteten Kanäle.

Die Strömungsgeschwindigkeiten wurden ebenso nach der Formel (11)

$$\frac{d^2x}{dt^2} = -\frac{1}{x} \left(\frac{dx}{dt}\right)^2 - \frac{8\eta}{R^2} \frac{dx}{dt} + \frac{1}{x} \frac{\sigma_{lg} \cos \theta}{\rho R}$$

berechnet. Hierfür ergibt sich eine Meniskusgeschwindigkeit über die Kanallänge wie es in *Abbildung 33* zu sehen ist.

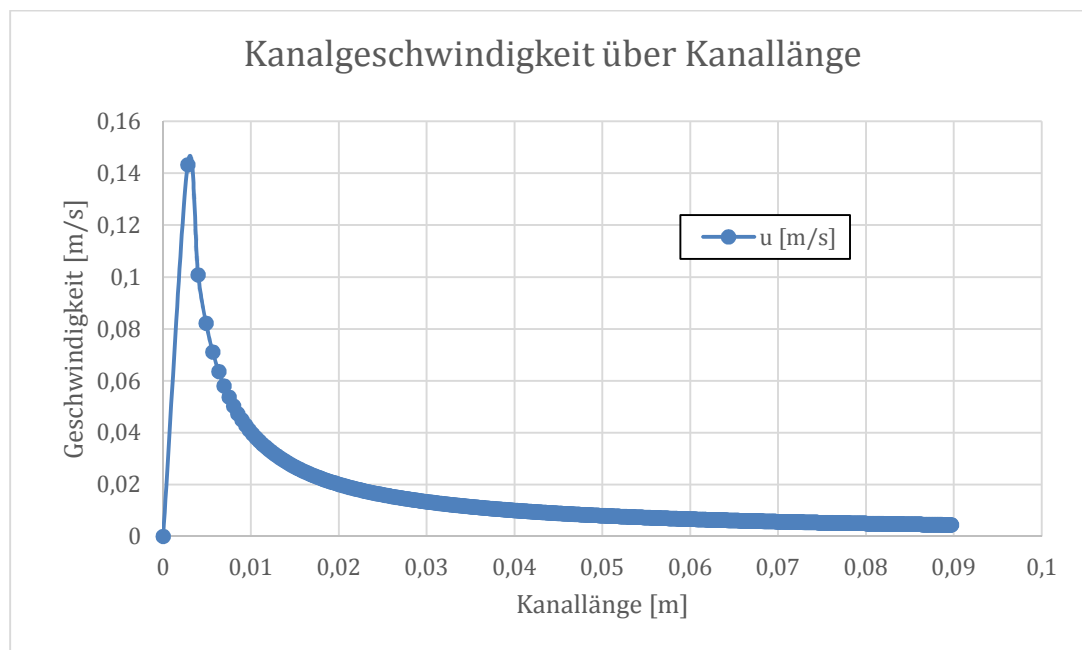


Abbildung 33: Kanalgeschwindigkeit über die Kanallänge des finalen Mikrokanals mit $l = 10$ mm, $b = 1$ mm und $h = 0,05$ mm.

Nach dieser Berechnung würde der 10 mm lange Mikrokanal innerhalb von 0,13 s gefüllt sein. Diese Saugzeit befindet sich jedoch weit unter der Saugzeiten von ~ 16 s, welche in dieser Arbeit für das finale Design gemessen wurden. In Kapitel 1.1.1.1 *Navier-Stokes Gleichung* in *Abbildung 1* decken sich die experimentellen Ergebnisse mit den berechneten, wobei die verwendete Kapillare zuerst mit Wasser benetzt wurde, bevor die experimentellen Untersuchungen durchgeführt wurden. Dadurch sind möglicherweise deutlich bessere Saugzeiten respektive Sauggeschwindigkeiten (Kanal ist z.B. von Schmutzpartikeln befreit) über die Mikrokanäle möglich. Nachdem der Kanal des Einmalteststreifens jedoch nicht im Vorhinein mit Flüssigkeit benetzt wird, sind die theoretisch berechneten Ergebnisse in der Praxis nicht umsetzbar.