

Digitale Mikrofluidiksysteme zur Charakterisierung von Immobilisationsvorgängen von Biomolekülen mittels elektrochemischer Impedanzspektroskopie

Von der Fakultät für Elektrotechnik und Informationstechnik der
Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen zur Erlangung
des akademischen Grades eines Doktors der Ingenieurwissenschaften
genehmigte Dissertation

vorgelegt von

Tom Kremers, M.Sc
aus Mönchengladbach

Berichter: apl. Professor Dr.-Ing. Uwe Schnakenberg
Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Joachim Knoch

Tag der mündlichen Prüfung: 21.05.2021

Diese Dissertation ist auf den Internetseiten der Universitätsbibliothek online verfügbar.

Danksagung

Zunächst möchte ich mich herzlich bei meinem Doktorvater apl. Prof. Uwe Schnakenberg für die intensive und fachlich sowie persönlich sehr lehrreiche Zeit bedanken. Vielen Dank für die Möglichkeit, das spannende Thema der digitalen Mikrofluidik bearbeiten zu dürfen und für die zahlreichen fachlichen sowie persönlichen Gespräche.

Mein Dank gilt auch dem langjährigen Institutsleiter Prof. Wilfried Mokwa für die Möglichkeit, am IWE1 große Teile meiner akademischen Ausbildung genießen zu dürfen. In diesem Zuge möchte ich mich sehr herzlich bei meinen Betreuern Dr. Alexander Rockenbach und Dr. Akram El Hasni bedanken, die mir während meiner Bachelor- und Masterarbeit immer mit Rat und Tat zur Seite standen und mir schon während meines Studiums die Grundlagen wissenschaftlichen Arbeitens näher brachten.

Die Erstellung meiner Arbeit wäre ohne die zahlreichen Kolleginnen und Kollegen, die ich im Laufe der langen Zeit am IWE1 kennenlernen dürfte, nicht möglich gewesen. Bedanken möchte ich mich bei allen Festangestellten in der Verwaltung und im Labor, den zahlreichen Studentinnen und Studenten und meinen Mitstreitern auf dem Weg zur Doktorarbeit. Besonders zu erwähnen sind dabei Sebastian Bette, Daniela Brocke, Dr. Andreas Buchenauer, Yuan Cao, Dr. Roland Fischer, Andrea Kauth, Dr. Jaroslav Lazar, Stefan Lück, Dr. Jutta Müntjes, Dr. Hoa Nguyen, Georg Sprenger und Prof. Jan Watzlaw. Mein Dank gilt zudem Prof. Sven Ingebrandt und Dr. Vivek Pachauri für viele zielführende wissenschaftliche Diskussionen.

Einen gesonderten Dank möchte ich Dagmar Marcantonio aussprechen, die mir in allen organisatorischen Fragestellungen immer mit Rat und Tat zur Seite stand. Die persönlichen Gespräche mit ihr haben meinen Arbeitsalltag sehr bereichert. Mein ganz besonderer Dank gilt Jochen Heiss für seinen unermüdlichen Einsatz, seine zielführenden und pragmatischen Lösungsvorschläge und sein offenes Ohr. Ohne sein herausragendes Engagement für das Institut und seine Kollegen wären große Teile dieser Arbeit nicht möglich gewesen. Meinem Bürokollegen Marcel Tintelott möchte ich sehr danken für die angenehme Zeit im gemeinsamen Büro und die wissenschaftlichen Diskussionen (und die Fußballfachgespräche bei einer leckeren Tasse Kaffee).

Für den Einsatz der Studentinnen und Studenten, die mich im Rahmen der Betreuung der Lehre unterstützt haben und mir somit mehr Zeit für die Forschung verschafft

haben, möchte ich mich an dieser Stelle ebenfalls bedanken.

Von Robert Bosch ist das Zitat überliefert: *„Jede Arbeit ist wichtig, auch die kleinste. Es soll sich keiner einbilden, seine Arbeit sei über die seines Mitarbeiters erhaben. Jeder soll mitwirken zum Wohle des Ganzen.“*

Ganz herzlich möchte ich mich bei den zahlreichen Studentinnen und Studenten bedanken, die mich als studentische Hilfskraft, in ihrem Forschungspraktikum oder während ihrer Seminar-, Bachelor- bzw. Masterarbeit unterstützt haben: Isabel Austrup, Nils Bosbach, Alina Bürger, Fabian Freitag, Lea Hansmann, Sören Husarek, Turgay Kaya, Michael Kosubek, Nora Menzel, Anabel Mernitz, Suthan Pulenthiran, Benjamin Schick, Alexander Stramma, Sarah Thelen und Peter Waldek. Es hat mir jederzeit viel Freude bereitet, mit Euch fachlich aber vor allem persönlich zusammen arbeiten zu dürfen. Ohne Euch wäre die erfolgreiche Fertigstellung der Arbeit nicht möglich gewesen. Vielen herzlichen Dank!

Ein großer Dank gilt auch meinen Kooperationspartnern Prof. Lothar Elling, Dr. Dominic Laaf und Viktoria Heine aus der Biotechnologie. Ich schätze die vielen interdisziplinären konstruktiven Diskussionen sehr.

Herzlich danken möchte ich zudem Prof. Joachim Knoch für die Übernahme des Zweitgutachtens und dem damit verbundenen Interesse an meiner Arbeit. Mein Dank gilt auch Prof. Egbert Figgemeier und Dr. Mathias Wien für das Mitwirken in meiner Promotionskommission.

Tiefe Dankbarkeit empfinde ich gegenüber meinen Freunden, meiner Familie und der Familie meiner Freundin, die mich in guten und schwierigen Zeiten unterstützt haben. Meinen Eltern möchte ich herzlich für alles danken, was sie mir auf den Lebensweg mitgegeben haben. Ohne den erfahrenen Rückhalt wären weite Teile meiner Ausbildung schwieriger geworden.

Sehr herzlich bedanken möchte ich mich bei meiner Freundin Johanna, die mich mit ihrer Liebe, ihrem Verständnis und ihrer uneingeschränkten Unterstützung durch die aufreibende Zeit der Promotion begleitet hat. Mit Dir durfte ich Freude und Erfolge teilen aber auch schwierige Abschnitte meiner Promotion zusammen bestreiten. Vielen Dank für alles!

Abkürzungsverzeichnis

AAL	<i>Aleuria aurantia</i> -Lektin
AC	Wechselstrom bzw. -spannung
AD	Analog Digital
AE	Arbeitselektrode
AFM	Rasterkraftmikroskop (engl.: <i>Atomic force microscope</i>)
Ag/AgCl	Silber-/Silberchlorid
ÄHE	Äußere Helmholtz-Ebene
ALD	<i>Atomic layer deposition</i>
AVT	Aufbau- und Verbindungstechnik
BSA	Rinderserumalbumin (engl.: <i>Bovine serum albumin</i>)
BST	Barium-Strontium-Titanat
CA	<i>Chronoamperometry</i>
CMOS	<i>Complementary metal-oxide-semiconductor</i>
CPE	Element konstanter Phase (engl.: <i>Constant phase element</i>)
CSI	<i>Camera serial interface</i>
CV	Cyclovoltammetrie (engl.: <i>Cyclic voltammetry</i>)
DC	Gleichstrom bzw. -spannung
DEP	Dielektrophorese
DI	deionisiert
DIN	Deutsche Industrienorm
DMF	Digitale Mikrofluidik
DNA	Desoxyribonukleinsäure (engl.: <i>Deoxyribonucleic acid</i>)
DPV	<i>Differential pulse voltammetry</i>
EDL	Elektrochemische Doppelschicht
EIS	Elektrochemische Impedanzspektroskopie
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
ESB	Ersatzschaltbild
EWOD	<i>Electrowetting on dielectric</i>

FUC	Fukose
FucT	Fukosyltransferase
GDP	Guanosindiphosphat
GE	Gegenelektrode
GO	Graphenoxid
GPIB	<i>General purpose interface bus</i>
GPIO	<i>General purpose input output</i>
GUI	<i>Graphical user interface</i>
HDMI	<i>High definition multimedia interface</i>
HRP	Meerrettichperoxidase (engl.: <i>Horseradish peroxidase</i>)
I²C	<i>Inter integrated circuit</i>
IDE	Interdigitalelektroden
IHE	Innere Helmholtz-Ebene
I/O	<i>Input/Output</i>
ISO	Internationale Organisation für Normung
ITO	Indium-Zinn-Oxid (engl.: <i>Indium tin oxide</i>)
LAMP	<i>Loop-mediated isothermal amplification</i>
LAN	<i>Local area network</i>
LED	Leuchtdiode (engl.: <i>Light-emitting diode</i>)
LFA	<i>Lateral flow assay</i>
LOC	<i>Lab-on-a-chip</i>
LSPR	Lokale Oberflächenplasmonenresonanz (engl.: <i>Localized surface plasmon resonance</i>)
LSV	<i>Linear sweep voltammetry</i>
MA	<i>Multistep amperometry</i>
MOSFET	Metall-Oxid-Halbleiter-Feldeffekttransistor (engl.: <i>Metal-oxide-semiconductor field-effect transistor</i>)
MTP	Multititerplatte
NC	<i>Not connected</i>
NGP	Neo-Glykoprotein
NMR	Magnetische Kernresonanz (engl.: <i>Nuclear magnetic resonance</i>)

NPV	<i>Normal pulse voltammetry</i>
OCP	<i>Open-circuit potential</i>
PB	Phosphatpuffer (engl.: <i>Phosphate buffer</i>)
PBS	Phosphat-gepufferte Salzlösung (engl.: <i>Phosphate buffered saline</i>)
PBVE	Poly(perfluorobutenylvinylether)
PCB	<i>Printed circuit board</i>
PCR	Polymerase-Kettenreaktion (engl.: <i>Polymerase chain reaction</i>)
PDA	<i>Personal digital assistant</i>
PEDOT	Poly-3,4-ethylenedioxythiophen
PEG	Polyethylenglycol
PET	Polyethylenterephthalat
pH	Potentia Hydrogenii
PID	Proportional-Integral-Differential
PMMA	Polymethylmethacrylat (Plexiglas)
PnP	<i>Plug-and-play</i>
PPy	Polypyrrol
PSS	Polystyrolsulfonat
PTFE	Polytetrafluorethylen
PWM	Pulsweitenmodulation
RE	Referenzelektrode
REM	Rasterelektronenmikroskop
RIE	Reaktives Ionenätzen (engl.: <i>Reactive ion etching</i>)
RMS	<i>Root mean square</i>
SAM	<i>Self-assembled monolayer</i>
SLIPS	<i>Slippery lubricant infused surfaces</i>
SPRi	Bildgebende Oberflächenplasmonenresonanz (engl.: <i>Surface plasmon resonance imaging</i>)
STR	Streptavidin
SWV	<i>Square wave voltammetry</i>
TMB	3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin

TTL	Transistor-Transistor-Logik
UART	<i>Universal asynchronous receiver transmitter</i>
USB	<i>Universal serial bus</i>
XRD	Röntgendiffraktometrie (engl.: <i>X-ray diffraction</i>)

Formelzeichen

A	Fläche
C	Kapazität
c	Konzentration
CPE	<i>Constant phase element</i>
D	<i>Duty cycle</i>
d	Schichtdicke, Abstand
e	Elementarladung [= 1,602 176 53·10 ⁻¹⁹ C]
E	Energie
ϵ_r	Relative Permittivität
ϵ_0	Permittivität des Vakuums
f	Frequenz
F	Kraft
G	Elektrischer Leitwert
I	Intensität
j	Imaginäre Einheit [= $\sqrt{-1}$]
k	Bindungskonstante
k_B	Boltzmann-Konstante [= 1,380 650 5·10 ⁻²³ J · K ⁻¹]
L	Induktivität
L	Länge
λ_D	Debye-Länge
λ	Wellenlänge
n	Exponent des CPEs
p	Druck
P	Leistung
ϕ	Potential
Q_0	Kapazität des CPEs
Q	Ladung
R	Elektrischer Widerstand

r^2	Determinationskoeffizienten
ρ	Spezifischer elektrischer Widerstand
s	Wegstrecke
σ	Elektrische Leitfähigkeit
σ	Oberflächenspannung
σ_{rel}	Relative Standardabweichung
σ_{st}	Standardabweichung
T	Periodendauer
T	Temperatur
T_{opt}	Optische Transparenz
t	Zeit
τ	Zeitkonstante
θ	Kontaktwinkel
U	Elektrische Spannung
v	Geschwindigkeit
V	Volumen
W	Arbeit
ω	Kreisfrequenz
Y	Elektrische Admittanz
Z	Elektrische Impedanz

Inhaltsverzeichnis

Danksagung	iii
Abkürzungsverzeichnis	v
Formelzeichen	ix
Inhaltsverzeichnis	xi
Zusammenfassung	1
Abstract	3
1 Einleitung	5
1.1 Motivation	5
1.2 Zielsetzung der Arbeit	6
2 Grundlagen und Stand der Technik	7
2.1 Digitale Mikrofluidik	7
2.1.1 Oberflächenspannung, Kontaktwinkel und Laplace-Druck	7
2.1.2 Electrowetting (on dielectric) Effekt	9
2.1.3 Digitale Mikrofluidikplattformen	11
2.1.4 Stand der Technik	12
2.1.4.1 Portable EWOD-Systeme	12
2.1.4.2 Anwendungsfelder EWOD	15
2.2 Elektrochemische Impedanzspektroskopie	17
2.2.1 Elektrode/Elektrolyt-Übergang	18
2.2.2 Modellierung durch Ersatzschaltbilder	20
2.3 Leitfähige Polymere	21
3 Entwicklung von EWOD-Plattformen	23
3.1 Herstellungsprozess der EWOD-Chips	23
3.1.1 Bodenchip	23
3.1.1.1 Dielektrikum	25
3.1.2 Deckelchip	26
3.1.2.1 Gegen- und Pseudo-Referenzelektroden	29
3.1.2.2 Interdigitalelektroden-Design	30
3.2 LabView- und relaisbasierte EWOD-Plattform	31

3.3	Portable EWOD-Plattform „PortaDrop“	34
3.3.1	Hardware	35
3.3.2	Software	42
3.3.3	Aufbau	44
4	Resultate und Diskussion	47
4.1	ITO-Sputterprozess	47
4.1.1	Depositionsrates und Schichtdicke	47
4.1.2	Kristallstruktur und elektrischer Widerstand	49
4.1.3	Transparenz	50
4.2	Mikroelektroden	52
4.2.1	Gegenelektrode	53
4.2.1.1	PPy:PSS-Abscheidung	53
4.2.1.2	Elektrische Charakterisierung	56
4.2.2	Pseudo-Referenzelektrode	61
4.2.3	Bedeutung eines stabilen OCPs für die EIS	62
4.3	EWOD-Plattformen	66
4.3.1	LabView- und relaisbasierte EWOD-Plattform	68
4.3.2	Portable EWOD-Plattform „PortaDrop“	70
4.3.3	Reproduzierbarkeit des active dispensings	73
4.3.4	Tropfenbewegung	76
4.3.5	Passive dispensing	79
5	Nachweis von Biomolekülen mit Hilfe der EWOD-Plattform	87
5.1	Einfluss von Pluronic F-68 auf die Benetzbarkeit	88
5.2	Biotin-Streptavidin-Assay	89
5.3	Reinigungsprotokoll für EIS-Elektroden	95
5.4	Glykosyltransferase-Assay	97
6	EWOD und simultane EIS-Messung	107
7	Zusammenfassung und Ausblick	111
7.1	Zusammenfassung	111
7.2	Ausblick	112
Anhang		115
A	Diagramme	115
B	Skizzen	120
C	Tabellen	121

Abbildungsverzeichnis	123
Tabellenverzeichnis	127
Literaturverzeichnis	129
Eigene Veröffentlichungen	157
Eigene Konferenzbeiträge	159
Lebenslauf	161

Zusammenfassung

Digitale Mikrofluidik (DMF)-Systeme nutzen den Effekt der Elektrobenetzung (engl.: *electrowetting*), der es erlaubt, den Kontaktwinkel von diskreten Tropfen durch das Anlegen von elektrischen Feldern zu manipulieren. Dadurch wird der gezielte Transport der Tropfen über hydrophobe Oberflächen ermöglicht. Die Tropfen und die benötigten Elektroden sind dabei durch eine hydrophobe und eine dielektrische Schicht getrennt, sodass die Systeme auch *electrowetting on dielectric* (EWOD)-Systeme genannt werden. Kleine Tropfen, mit Volumina im Nano- bis Picoliter-Bereich, können mittels EWOD erzeugt, transportiert, mit anderen Tropfen vereinigt und gemischt werden. Die Bewegungssequenzen der Tropfen sind durch die Adressierung einzelner Elektroden programmierbar. Die Nutzung von EWOD-Plattformen bietet sich aufgrund dieser Rekonfigurierbarkeit in vielen Bereichen der Wissenschaft und der industriellen Nutzung an. So finden EWOD-Plattformen aktuell Anwendung bei der Polymerase-Kettenreaktion (PCR), die der Goldstandard bei diagnostischen Labortests ist.

In dieser Arbeit werden zwei EWOD-Plattformen entwickelt - eine LabView- und relaisbasierte sowie eine portbale EWOD-Plattform. Die portable EWOD-Plattform PortaDrop besitzt die Fähigkeit, Tropfen zu bewegen und gleichzeitig elektrochemische Messungen durchzuführen und benötigt dafür keine weiteren externen Geräte. PortaDrop nutzt erstmals einen Raspberry Pi als Steuerrechner für eine EWOD-Plattform. Daher ist die Integration weiterer Messgeräte möglich und grundlegend implementiert. Als Ausführungsbeispiel wird ein Sensor für die elektrochemische Impedanzspektroskopie (EIS) in die EWOD-Plattform integriert. Zur Verbesserung der Signalstabilität bei den EIS-Messungen werden die Gegenelektrode (GE) und die Referenzelektrode (RE) mit dem leitfähigen Polymer Polypyrrol (PPy):Polystyrolsulfonat (PSS) beschichtet. Die elektrischen Eigenschaften der PPy:PSS-Schichten werden mittels EIS-Messungen des Elektrode/Elektrolyt-Übergangs in einem salzhaltigen Elektrolyten untersucht. Erstmals werden die Messungen an ein elektrisches Ersatzschaltbild (ESB) gefittet und die Entwicklung der Bauteilgrößen mit dem Wachstumsmechanismus der PPy:PSS-Schichten korreliert. Der entwickelte EIS-Sensor wird final dazu verwendet, die erfolgreiche Glykosylierung eines Neo-Glykoproteins (NGPs) durch eine Fukosyltransferase (FucT) transient zu charakterisieren und die Bindungskonstanten zu bestimmen.

Die Dissertation ist wie folgt gegliedert: Zunächst werden die Grundlagen der DMF, der EIS und zur Materialgruppe der leitfähigen Polymere sowie der Stand der Tech-

nik gelegt. Anschließend wird die Entwicklung der Herstellungsprozesse der benötigten Elektrodenplatten inklusive des integrierten EIS-Sensors sowie die Hardware- und Softwareentwicklung für die beiden entwickelten EWOD-Plattformen beschrieben. Diese Entwicklungen werden nachfolgend charakterisiert und diskutiert. Die Einsatzmöglichkeit der EWOD-Plattform wird anhand der Überwachung von Immobilisationsvorgängen von Biomolekülen mittels EIS charakterisiert. Die Arbeit wird mit einer Zusammenfassung geschlossen und ein Ausblick wird gegeben.

Abstract

Digital microfluidic (DMF) systems utilizing the electrowetting effect to manipulate discrete droplets by modulating the contact angle by applying electric fields. This enables droplet transport across hydrophobic surfaces. The droplets and the required electrodes are separated by a hydrophobic and an insulating layer. Hence, these systems are called electrowetting on dielectric (EWOD) systems. Small droplets in the range of nano- to picoliter can be created, transported, merged with other droplets and mixed via EWOD. The motion patterns of the droplets can be programmed by individually addressing of electrodes. This allows the application of EWOD systems in different research fields and industrial applications (e.g. polymerase chain reaction (PCR) for biomedical diagnostics).

In this work, two EWOD platforms are developed - a labview and mechanical relays based platform and a portable EWOD platform. The portable EWOD platform PortaDrop provides the ability to manipulate droplets and to carry out electrochemical measurements without additional external equipment. PortaDrop uses a Raspberry Pi as the central control unit of the EWOD platform for the first time. Hence, the integration of additional external measurement devices is possible and basically implemented. As an example of application, an EIS sensor is embedded into the EWOD platform. For enhanced stability of the measurements, the counter- and reference electrodes are coated with the conducting polymer polypyrrole:polystyrene sulfonate (PPy:PSS). The electrical properties of the PPy:PSS-layers are determined by EIS. Therefore, the electrode/electrolyte junction of the electrodes is measured in a salt containing solution. For the first time, the measurements are fitted to an electric equivalent circuit and the evolution of the circuit elements is associated with the mechanism of growth of the layers. The developed EIS sensor is finally used for monitoring the successful glycosylation of a neo-glycoprotein (NGP) throughout a fucosyltransferase (FucT) longitudinally enabling the extraction of the binding constants.

This thesis is structured as follows: First, the basics of DMF and EIS as well as conducting polymers are presented followed by a summary of the state of the art. Subsequently, the development of necessary fabrication processes for the electrode substrates including the integrated EIS sensor and the development of the hard- and software for both EWOD platforms is described. Subsequently, these developments are characterized and discussed. The application of the developed components and systems is shown by monitoring immobilization processes of biomolecules via EIS. The thesis is closed

with a conclusion and an outlook is given.

1. Einleitung

1.1. Motivation

In den vergangenen Jahrzehnten ist das wissenschaftliche und kommerzielle Interesse an *lab-on-a-chip* (LOC)-Systemen zunehmend gestiegen. Vor allem mikrofluidische Systeme sind dabei von besonderem Interesse. In druckgetriebenen Systeme mit einem Mikrokanal bildet sich eine kontinuierliche Strömung aus, in der z.B. Zellen transportiert werden. Ein prominentes Beispiel sind die Durchflussszytometer, bei denen Zellen im Fluidstrom durch Elektrodenanordnungen geführt werden [1]. Dadurch ist es möglich, sowohl die Anzahl an Zellen über die elektrische Impedanz oder eine optische Messung zu ermitteln als auch verschiedene Zelltypen zu differenzieren.

Neben den Mikrokanal-basierten Systemen sind papier-basierte Mikrofluidiksysteme von großer Bedeutung. Sie bilden die Klasse der *lateral flow assays* (LFAs) und sind eine wertvolle Ergänzung für Tests in großen Laboren [2]. LFAs (z.B. Schwangerschaftstests) können zuhause und ohne ärztliche Anleitung durchgeführt werden. Aktuell ist der Einsatz von LFAs für die Diagnose des SARS-CoV-2 Virus von fundamentaler Bedeutung bei der Bekämpfung der weltweiten COVID-19-Pandemie [3]. Mikrofluidische Systeme haben dementsprechend einen hohen Alltagsbezug und sind ein wichtiger Baustein in der *personal health care*.

In den letzten 20 Jahren hat eine weitere Klasse von mikrofluidischen Systeme zunehmend an Bedeutung gewonnen: Digitale Mikrofluidik (DMF)-Systeme, die auf dem Effekt der Elektrobenetzung (engl. *electrowetting*) basieren [4–15]. Diese ermöglichen den gezielten Transport von diskreten Tropfen über hydrophobe Oberflächen. Dabei sind minimale Volumina bis hin zum Picoliter-Bereich möglich [16, 17]. Die Tropfenbewegung erfolgt durch Modulation des Kontaktwinkels bzw. der Oberflächenspannung über angelegte elektrische Spannungen an Elektroden, die unter der hydrophoben Beschichtung aufgebracht sind [16, 18–24]. Der Tropfen und die Elektroden sind dabei durch die hydrophobe und eine dielektrische Schicht getrennt, sodass es weder zur Elektrolyse noch zu Redox-Reaktionen kommen kann. Durch die Verwendung der dielektrischen Schicht werden die Systeme auch *electrowetting on dielectric* (EWOD)-Systeme genannt. Tropfen können mittels EWOD aus einem Reservoir erzeugt, transportiert, mit anderen Tropfen vereinigt und gemischt werden [25]. Da die Pfade und Bewegungssequenzen der Tropfen in DMF-Systemen nicht über die Geometrie des Chips sondern über die programmierte Ansteuerung der einzelnen Elektroden gesteuert werden, sind die Systeme sehr vielfältig einsetzbar und rekonfigurierbar. Somit kann für verschiedene Anwendungen das selbe System verwendet werden.

Die kommerzielle Verbreitung von DMF-Systemen ist aktuell überschaubar. EWOD wird hier zum Beispiel im Bereich der *electronic paper* eingesetzt, um die Helligkeit eines Bildpunktes zu verändern [26–28]. In der Forschung hingegen werden DMF-Plattformen aktuell in vielen Bereichen der Chemie und der Biologie eingesetzt [8]. Beispiele dafür sind die Polymerase-Kettenreaktion (engl.: *Polymerase chain reaction*) (PCR) [29, 30], zellbasierte Anwendungen [31–43] und Immunoassays [44–50]. Vielfach werden dabei optische Messmethoden wie z.B. die bildgebende Oberflächenplasmonenresonanz (engl.: *surface plasmon resonance imaging*) (SPRi) [51–53] oder Farbmetriken [54] verwendet. Integrierte elektrische Messtechnik in DMF-Plattformen ist dagegen nur vereinzelt verfügbar [40, 55–65].

1.2. Zielsetzung der Arbeit

Das Ziel dieser Arbeit ist die Entwicklung einer EWOD-Plattform zur Charakterisierung von Immobilisationsvorgängen von Biomolekülen mittels elektrochemischer Impedanzspektroskopie (EIS). Dabei sollen die Herstellungsprozesse für die benötigten Mikrochips entwickelt und die Ansteuerelektronik, die Software sowie ein Aufbau- und Verbindungstechnik (AVT)-Konzept für das Gesamtsystem entworfen werden. Ein Hauptaugenmerk liegt dabei auf der Funktionsweise der EWOD-Plattform in Bezug auf die erreichbare Tropfengeschwindigkeit und die erreichbare Genauigkeit beim Erzeugen von Tropfen im Nanoliter-Bereich. Des Weiteren wird die Stabilität des eingebrachten EIS-Sensors untersucht und durch eine Elektrodenmodifikation mit dem leitfähigen Polymer Polypyrrol (PPy):Polystyrolsulfonat (PSS) verbessert.

Die Nutzung der EWOD-Plattform für den Transport von Biomolekülen bedarf des Zusatzes von Pluronic F-68 zur Verhinderung des sogenannten *biofouling*s. Dieser Einfluss wird ausführlich an einem entwickelten Biotin-Streptavidin (STR)-Modellsystem untersucht. Das Modellsystem wird auf den Messelektroden immobilisiert und der Verlauf der elektrochemischen Impedanz gemessen und ausgewertet. Dabei wird ein Hauptaugenmerk auf die Verbesserung der Stabilität der Messsignale durch die Elektrodenmodifikation gelegt. Als Beispiel für eine potentielle Anwendung in der Krebsdiagnostik wird eine Glykosyltransferase auf den Messelektroden entwickelt und durchgeführt. Aus der zeitlichen Überwachung der Messsignale können die Bindungskinetiken der beteiligten Biomoleküle bestimmt werden.

Die Funktionalität des gesamten Systems, nämlich die Möglichkeit, Tropfen per EWOD zu dem entwickelten EIS-Sensor zu transportieren und dort zu charakterisieren, soll abschließend mit einem *proof-of-concept* gezeigt werden, wobei die unspezifische Bindung des Proteins Rinderserumalbumin (engl.: *Bovine serum albumin*) (BSA) an den EIS-Sensor gemessen werden soll.

2. Grundlagen und Stand der Technik

2.1. Digitale Mikrofluidik

In der digitalen Mikrofluidik werden kleine Flüssigkeitsmengen in Form von Tropfen einzeln über individuell adressierbare Elektroden bewegt. Dazu wird der Kontaktwinkel des Tropfens durch das Anlegen elektrischer Felder moduliert. Für diese theoretischen Überlegungen bedarf es Grundwissen über die Oberflächenspannung, den Kontaktwinkel sowie den Laplace-Druck und den *Electrowetting*-Effekt, das in den nächsten Abschnitten zusammengetragen wird (Kapitel 2.1.1 bis Kapitel 2.1.3). Abschließend wird in Kapitel 2.1.4 auf den Stand der Technik bei *Electrowetting on dielectric* (EWOD)-Systemen eingegangen.

2.1.1. Oberflächenspannung, Kontaktwinkel und Laplace-Druck

Im Allgemeinen wirken auf die Moleküle in einer Flüssigkeit Kohäsionskräfte, die durch chemische Bindungen, van-der-Waals-Wechselwirkungen oder Wasserstoffbrückenbindungen hervorgerufen werden. Im Inneren einer Flüssigkeit gleichen sich die Kohäsionskräfte aus, da alle Moleküle von jeweils gleichen Molekülen umgeben sind. Befindet sich eine flüssige Phase dagegen im Kontakt mit einer Gasphase, stellt sich an der Phasengrenze eine Kraftwirkung in das Innere der Flüssigkeit ein [66]. Die Energie, die benötigt wird, um Moleküle gegen diese Kraft an die Grenzfläche zu bringen, wird Oberflächenenergie genannt. Dementsprechend wird die Arbeit W , die zur Vergrößerung der Oberfläche A benötigt wird, Oberflächenspannung σ genannt und ergibt sich nach [66] zu:

$$\sigma = \frac{\partial W}{\partial A} \quad (2.1)$$

Die Oberflächenspannung σ kann somit als Grenzflächenkraft gesehen werden, die einer Vergrößerung der Oberfläche entgegenwirkt und die Oberfläche minimiert [66, 67]. Bringt man einen Tropfen auf eine Oberfläche, stellt sich ein Kräftegleichgewicht ein. Zwischen der Oberfläche und dem Tropfen bildet sich ein Kontaktwinkel aus. Eine exemplarische Seitenansicht eines Tropfens auf einer Oberfläche ist Abbildung 2.1 zu entnehmen.

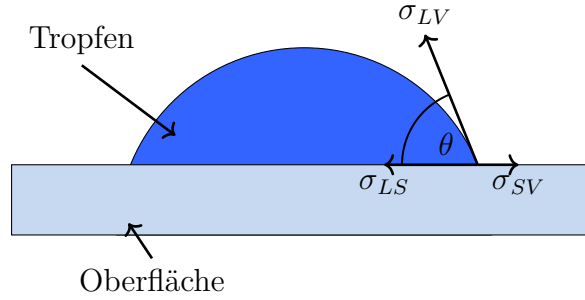


Abbildung 2.1.: Oberflächenspannungen und Kontaktwinkel, Abbildung nicht maßstabsgetreu

Eingezeichnet sind die Oberflächenspannungen σ zwischen der umgebenden Gasphase (V) und der flüssigen Phase (L) sowie der festen Phase (S). θ bezeichnet den Kontaktwinkel. Dieser liegt für hydrophile Oberflächen, wie in Abbildung 2.1 gezeigt, bei weniger als 90° und für hydrophobe Oberflächen bei mehr als 90° [67]. Ein direkter Zusammenhang zwischen den Oberflächenspannungen und dem Kontaktwinkel liefert die Young-Gleichung nach [68]:

$$\cos(\theta) = \frac{\sigma_{SV} - \sigma_{LS}}{\sigma_{LV}} \quad (2.2)$$

An der Grenzfläche zwischen Flüssigkeit und Gas kommt es im Allgemeinen zu einer Druckdifferenz. Diese Druckdifferenz wird Laplace-Druck Δp genannt und hängt von den Hauptkrümmungsradien R_1 und R_2 der Grenzfläche sowie der Oberflächenspannung σ zwischen den beiden Phasen ab. Die Laplace-Young-Gleichung definiert den Zusammenhang nach [67] zu:

$$\Delta p = p_{in} - p_{out} = \sigma \cdot \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right) \quad (2.3)$$

Dabei wird der Druck im Inneren der Flüssigkeit als p_{in} und der Druck außerhalb der Flüssigkeit als p_{out} bezeichnet. Der äußere Druck p_{out} der Gasphase entspricht in der digitalen Mikrofluidik (DMF) dem Atmosphärendruck. Das Vorzeichen des Laplace-Druckes hängt dabei davon ab, ob die Oberfläche konvex (positiver Radius) oder konkav (negativer Radius) ist [69]. Besteht ein Unterschied in den Krümmungsradien an gegenüberliegenden Seiten eines Tropfens, so resultiert dies in unterschiedlichen Laplace-Drücken Δp und somit in einer Nettokraft. Diese treibende Kraft wird beim *Electrowetting* genutzt, um Tropfen zu bewegen [67]. In Kapitel 2.1.2 werden diese Effekte genauer betrachtet.

2.1.2. Electrowetting (on dielectric) Effekt

In mikrofluidischen Systemen sind die Dimensionen derart, dass der Einfluss der Oberflächenspannung im Gegensatz zu anderen Krafteinwirkungen, wie z.B. der Erdanziehung oder den Trägheitskräften, dominiert [67]. Deshalb kann durch Modulation der Oberflächenspannung eine Bewegung von Fluiden erreicht werden. Der zugrunde liegende Effekt wird als Elektrobenetzung bzw. *Electrowetting*-Effekt bezeichnet. Darunter versteht man die Veränderung der Oberflächenspannung σ durch externe elektrische Felder. Abbildung 2.2 zeigt einen Tropfen auf einer hydrophoben und isolierenden Oberfläche. Als Dielektrikum werden üblicherweise Polymere wie Parylene C [5] oder der Photolack SU-8 verwendet [70, 71]. Seltener wird dagegen Siliziumdioxid oder -nitrid [72, 73], Aluminiumoxid [74], Cyanoethyl-Pullulan [75], Barium-Strontium-Titanat (BST) [72] oder Tantalpentoxid [16, 76] eingesetzt.

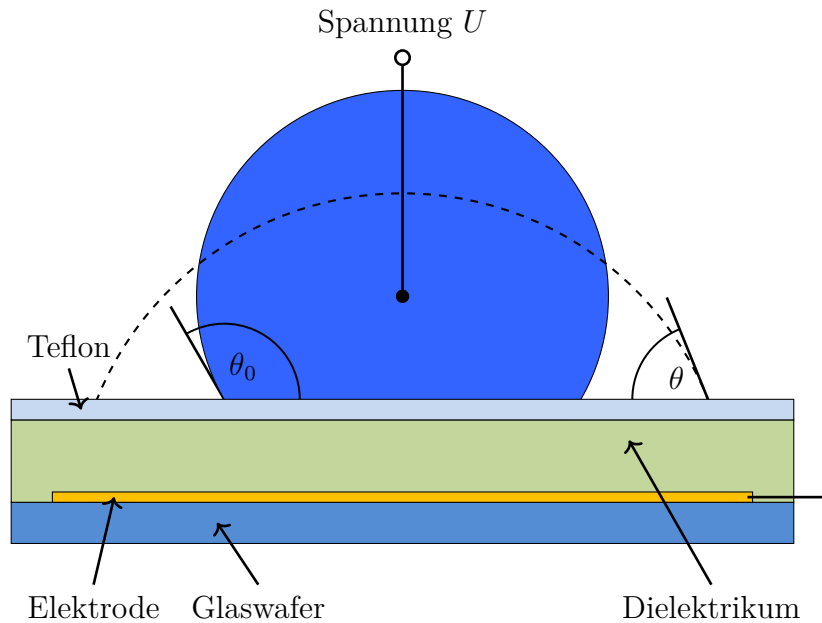


Abbildung 2.2.: *Electrowetting*-Effekt, Abbildung nicht maßstabsgetreu

Zwischen dem Tropfen und einer Bodenelektrode, die sich unter dem Dielektrikum befindet, wird eine elektrische Spannung U angelegt. Dabei wird elektrostatische Energie E_{ES} in das System eingebracht. Diese ergibt sich nach [77] zu:

$$E_{ES} = \frac{1}{2} \cdot \frac{\epsilon_0 \epsilon_r}{d} \cdot A_{LS} \cdot U^2 \quad (2.4)$$

wobei ϵ_0 die dielektrische Konstante, ϵ_r und d die Permittivität bzw. die Schichtdicke des Isolators sowie A_{LS} die Kontaktfläche des Tropfens mit der Oberfläche sind. Durch die Abhängigkeit der elektrostatischen Energie E_{ES} von der Tropfenkontaktfläche A_{LS} trägt die in das System eingebrachte Energie zu Veränderung der Oberflächenspannung

σ_{LS} in Abhängigkeit von der angelegten Spannung bei:

$$\sigma_{LS}(U) = \sigma_{LS} - \frac{1}{2} \cdot \frac{\epsilon_0 \epsilon_r}{d} \cdot U^2 \quad (2.5)$$

Hier ist σ_{LS} die intrinsische Oberflächenspannung nach der Young-Gleichung (Gleichung 2.2). Aus der Kombination von Gleichung 2.2 und Gleichung 2.5 ergibt sich über die Young-Lippmann-Gleichung nach [5, 77] folgender Zusammenhang:

$$\cos(\theta_U) = \cos(\theta_0) + \frac{\epsilon_0 \epsilon_r U^2}{2\sigma_{LV}d} \quad (2.6)$$

Dabei ist θ_0 der intrinsische Kontaktwinkel des Tropfens zum Substrat und θ_U der Kontaktwinkel, den der Tropfen durch die angelegte Spannung annimmt. Die Abnahme des Kontaktwinkels ist auf die Änderung der Ladungsdichte in der elektrochemischen Doppelschicht (EDL) an der Phasengrenze von Isolator und Flüssigkeit zurückzuführen [68]. Entscheidend für die Tropfenaktuierung per EWOD ist ein initialer Kontaktwinkel $\theta_0 > 90^\circ$ [78]. Aus diesem Grund werden vorwiegend fluor-terminierte Polymere wie Teflon™ (Polytetrafluorethylen (PTFE)) oder Cytot™ (Poly(perfluorobutenylvinylether) (PBVE)) verwendet [79]. Als möglicher Ersatz eines getrennten Dielektrikums und der zusätzlichen hydrophoben Beschichtung kann Parylene HT verwendet werden [80]. Nach Gleichung 2.6 kann der Kontaktwinkel durch das Anlegen einer elektrischen Spannung nur verringert werden. Die einseitige Änderung des Kontaktwinkels führt damit zu unterschiedlichen Laplace-Drücken auf der Seite des Tropfens, bei der die Kontaktlinie mit der angesteuerten Elektrode überlappt und der gegenüberliegenden Seite. Abweichend von der Young-Lippmann-Gleichung (vgl. Gleichung 2.6) ist die Kontaktwinkelabnahme durch das Phänomen der Kontaktwinkelsättigung begrenzt [22, 77, 81–84]. Für die Ursachen der Kontaktwinkelsättigung sind einige mögliche Gründe in der Literatur diskutiert. Aus thermodynamischer Sicht schlagen Peykov et al. und Quinn et al. vor, dass die Oberflächenspannung $\sigma_{LS}(U)$ keine Werte unter null annehmen kann, um die thermodynamische Stabilität des Systems zu erhalten [83, 85]. Neben der thermodynamischen Betrachtung wird auch der Einfluss eines lokalen dielektrischen Durchbruchs des verwendeten Isolators in der Nähe der Tropfenränder [86, 87], die Instabilität der Kontaktlinie vor allem bei elektrisch schlecht leitenden Tropfen [77] als Gründe für die Kontaktwinkelsättigung in Betracht gezogen oder dass es zu einer Ionisierung der Luft in der Nähe des Tropfens kommt [77]. Eine Abhängigkeit des Kontaktwinkels bei Kontaktwinkelsättigung von der Art und Konzentration der im Tropfen enthaltenen Ionen, spielt eine untergeordnete Rolle [88]. Aus der Kontaktwinkelsättigung folgt direkt, dass eine maximal mögliche Geschwindigkeit der Tropfen existiert [81].

2.1.3. Digitale Mikrofluidikplattformen

Der in Kapitel 2.1.2 beschriebene Effekt wird in DMF-Systemen eingesetzt. Dabei unterscheidet man zwischen der offenen und geschlossenen Konfiguration [4, 89–91]. Vereinzelt werden auch Systeme mit einer Kombination beider Konfigurationen verwendet [92]. Generell können Tropfen, abgesehen vom *Electrowetting* (vgl. Kapitel 2.1.2), mittels Dielektrophorese (DEP), Oberflächenwellen, thermokapillaren oder magnetischen Kräften sowie mittels *Optoelectrowetting* bewegt werden [93–100]. Da im Rahmen dieser Arbeit eine Tropfenaktuierung per EWOD verwendet wird, wird im Folgenden lediglich auf die Funktionsweise von DMF-Plattformen eingegangen, die diesen Effekt verwenden. Abbildung 2.3 zeigt den Querschnitt einer offenen und einer geschlossenen Anordnung.

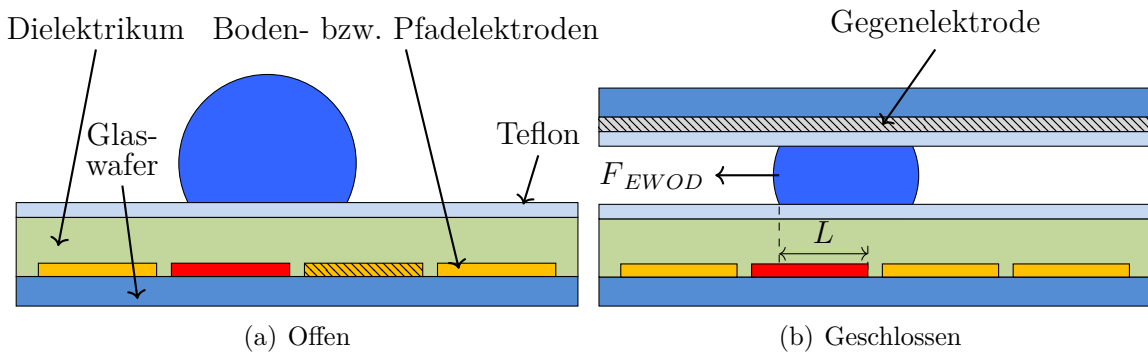


Abbildung 2.3.: Offene und geschlossene DMF-Konfigurationen, Abbildung nicht maßstabsgetreu. Die Spannung zur Aktuierung von Tropfen wird dabei jeweils zwischen der roten und der schwarz gestreiften Elektrode angelegt.

Bei der offenen Anordnung (Abbildung 2.3(a)) werden die Tropfen über eine Anordnung aus Bodenelektroden bewegt. Dabei wird die Spannung zwischen zwei benachbarten Elektroden angelegt (rote und schwarz gestreifte Elektrode). Durch sukzessives An- und Ausschalten benachbarter Elektroden wird der Tropfen über die Oberfläche geführt. Gegenüber der geschlossenen Form besteht der Nachteil, dass Tropfen nicht getrennt werden können [5]. Das Auftrennen eines Tropfens in der offenen Konfiguration ist lediglich mittels sogenanntem *Dielectrowetting*, einer Kombination aus EWOD und DEP, möglich [101]. Bei der in Abbildung 2.3(b) gezeigten geschlossenen Anordnung wird die Spannung, die eine Kontaktwinkeländerung induziert, zwischen der Deckelektrode (schwarz gestrichelt) und einer Bodenelektrode (rot) angelegt. Dies führt nach Gleichung 2.6 zu einer Verringerung des Kontaktwinkels an der, in Richtung der gewünschten Aktuierung zeigenden, Tropfenoberfläche. Nach [5] ergibt sich damit eine Kraftwirkung F_{EWOD} , die mit der Länge des Überlapps der Kontaktlinie des Tropfens

mit der angesteuerten Elektrode L skaliert:

$$F_{EWOD} = L \cdot \sigma_L (\cos(\theta_U) - \cos(\theta_0)) = \frac{\epsilon_0 \epsilon_r L U^2}{2d} \quad (2.7)$$

Der Überlapp der Kontaktlinie des Tropfens mit der angesteuerten Elektrode und die resultierende Kraftwirkung sind in Abbildung 2.3(b) visualisiert. Durch Ansteuerung vorgegebener Muster können Tropfen so auf über beliebig angeordnete Elektroden bewegt, mit anderen Tropfen vereinigt, in zwei Tropfen geteilt oder durch geschickte Bewegungsmuster gemischt werden [5, 102]. Ebenso kann ein sehr genau einstellbares und reproduzierbares Tropfenvolumen beim Erzeugen aus einem Reservoir erzielt werden [103].

2.1.4. Stand der Technik

In den letzten Jahren sind vermehrt EWOD-Systeme und deren Anwendung als *Lab-on-a-chip* (LOC) publiziert worden [4–6, 8–11, 13–15, 104–107]. Im Folgenden soll ein kurzer Überblick über den Stand der Technik gegeben werden, wobei zunächst auf EWOD-Plattformtechnologien und später auf konkrete Anwendungsgebiete kurz eingegangen wird.

2.1.4.1. Portable EWOD-Systeme

Eine der ersten EWOD-Plattformen wurde von der Arbeitsgruppe von Kim entwickelt [108, 109]. Über einen *Personal digital assistant* (PDA) können Tropfenbewegungen drahtlos ausgeführt und überprüft werden. Zur Überprüfung der Tropfenposition wird die Impedanz zwischen Boden- und Deckelektrode gemessen. Die Gruppe verwendet ein zeitlich versetztes Ansteuerungsmuster, dass über orthogonal angeordnete Pads im Boden- und Deckelchip auf die Tropfen übertragen wird. Dabei überschneiden sich die Leitungen an einer Stelle und prägen dort die benötigte elektrische Spannung zur Aktuierung ein. Der Aufbau ist kompakt und basiert auf mehreren *Printed circuit boards* (PCBs) und individuell gestalteten Adaptern, die über Schraubverbindungen verbunden sind. Die Verdunstung der Tropfen wird durch den Einbau von O-Ringen reduziert.

Sista et al. haben eine *Cartridge* im Format einer 384-well Multititerplatte (MTP) vorgestellt, die kompatibel mit einem kommerziell erhältlichen Laborgerät ist [49]. Neben einer Vielzahl von Reservoiren sind Proportional-Integral-Differential (PID)-geregelte Heizstäbe aus Aluminium integriert, die eine lokale Temperaturregelung ermöglichen, wobei die aktuelle Temperatur mittels eines Thermistors gemessen wird. Die Tropfenaktuierung erfolgt über 64 per Federkontaktstiften kontaktierte Pins, die

über einen Mikrocontroller mit einer Hochspannung belegt werden können. Des Weiteren ist eine Zone zur optischen Detektion von Fluoreszenz vorgesehen, die aus einer Leuchtdiode (engl.: *Light-emitting diode*) (LED) und einer Photodiode besteht. Damit besteht zum Beispiel die Möglichkeit einer vollautomatisierten Polymerase-Kettenreaktion (engl.: *Polymerase chain reaction*) (PCR) in Echtzeit.

Ein weiteres DMF-System zur Molekulardiagnostik mittels *Loop-mediated isothermal amplification* (LAMP) basierend auf einem Arduino-Nano wurde von Hoang et al. entworfen [110]. Die Pfadelektroden befinden sich auf einem PCB, das mit einer hydrophoben, dielektrischen Membran bespannt wird. Als Deckelchip wird ein, mit Indium-Zinn-Oxid (engl.: *Indium tin oxide*) (ITO) und Fluoropel PFC1601V beschichteter, Glasträger verwendet. Ein interner Hochsetzsteller erzeugt bis zu 275 VDC Aktuierungsspannung. Die Ansteuerung der einzelnen Pfadelektroden wird von einem Seriell-nach-Parallel Schieberegister mit 64 Kanälen übernommen. Ein weiteres vergleichbares System, der sogenannte *LampPort*, verfügt über einen ähnlichen Aufbau und Funktionsumfang [111]. Andere Gruppen haben gezeigt, dass die Durchführung der PCR in DMF-Plattformen zu einer Reduzierung des Chemikalienverbrauchs um das 40000-fache, einer Verbesserung des Detektionslimits um das 100-fache sowie einer Verkürzung der Reaktionszeit um bis zu 50 % führt [29, 30, 112].

Die erfolgreichste und bekannteste Forschungsgruppe zum Thema EWOD ist das *Wheeler Microfluidics Laboratory* an der Universität Toronto. Fobel et al. haben das portable DMF-System *DropBot* entwickelt [113]. Die Boden- und Deckelchips werden dabei mittels Federkontaktstiften mit einem Arduino-basierten System verbunden. Dieses System ist modular aufgebaut und erlaubt die Ansteuerung von bis zu 320 Pfadelektroden. Dabei wird vom Arduino-Mega 2560 ein Rechtecksignal erzeugt, dessen Spannungsamplitude verstärkt und auf die entsprechenden Pfadelektroden geschaltet wird. Fobel et al. haben eine Echtzeitmessung der Tropfengeschwindigkeit implementiert, die über eine während der Tropfenaktuierung durchgeführte Impedanzmessung erfolgt. *DropBot* besitzt zudem die Möglichkeit, dass neben einer konstanten Spannung zur Tropfenaktuierung auch eine konstante Kraft angelegt werden kann, was den Vorteil hat, dass die Tropfenbewegung unabhängig von den verwendeten Chips normiert werden kann. *DropBot* bietet zu seinen Möglichkeiten, Tropfen per EWOD vollautomatisiert zu bewegen, eine Schnittstelle, über die elektrochemische Messungen angefordert werden können. Dazu kann der Potentiostat *DStat*, der von Dryden et al. entwickelt wurde, angeschlossen werden [57]. Beide Systeme kommunizieren über die *ZeroMQ*-Bibliothek. Während der Versuchsdurchführung pausiert *DropBot* die Bewegung der Tropfen, fordert eine Messung von *DStat* an und wartet auf deren erfolgreiche Durchführung.

Ein weiteres portables EWOD-System, das *OpenDrop*-System, wurde von den *Gau-*

diLabs entworfen. Alistar et al. haben zunächst die Möglichkeit implementiert, bis zu 64 Pfadelektroden anzusteuern. Die Pfadelektroden sind auf einem herkömmlichen PCB aufgebracht, auf dessen Rückseite sich die Ansteuerelektronik in Form eines DC-DC Aufwärtswandlers und Transistoren zur Beschaltung der Pfadelektroden befinden. Die Spannung wird dabei über einen Potentiometer manuell eingestellt. Die aktuelle Version 4 des *OpenDrop*-Systems verfügt über die Möglichkeit, 128 Pfadelektroden (2,75 mm x 2,75 mm) mit DC- oder AC-Spannungen zwischen 160 V und 300 V anzusteuern [114]. Die *Cartridge* ist austauschbar und wird automatisch vom System erkannt. Zusätzlich ist in dieser Version eine softwaregesteuerte Auswahl der Spannung des AC bzw. DC-Signals sowie der Frequenz des AC-Signals implementiert. Eine weitere Änderung zu Vorversionen ist die Verwendung von optoelektronischen Schaltern, um die Hochspannungsteile vom Rest der Schaltung galvanisch zu entkoppeln. Für die Kommunikation mit dem System und der Bereitstellung der Betriebsspannung steht ein *Universal serial bus* (USB)-C Anschluss zur Verfügung.

Ein kostengünstiger Ansatz, um *Assays* auf der Basis von Farbreaktionen auszuwerten, wurde von Yafia et al. vorgestellt [54]. Ein 3D-gedruckter Adapter dient dazu, die EWOD-Chips mit der integrierten Elektronik zu verbinden. Die Erzeugung der benötigten Hochspannung zur Modulation des Kontaktwinkels (vgl. Kapitel 2.1.2) wird durch einen *Boost-Converter* mit einer maximalen Ausgangsspannung von 800 V gewährleistet. Zusätzlich besteht eine Möglichkeit, ein handelsübliches Smartphone derart in den 3D-gedruckten Adapter einzuspannen, dass die interne Kamera zur Analyse der Tropfen verwendet werden kann. Die Ansteuerung der Pfadelektroden und die Kommunikation mit dem Smartphone über eine *Bluetooth*-Schnittstelle übernimmt ein Arduino-Micro. Das Smartphone kann somit zum direkten Steuern der Tropfen verwendet werden. Yafia et al. stellen als mögliche Anwendung die Auswertung des Potentia Hydrogenii (pH)-Wertes eines Tropfens anhand einer Farbmeterik vor, für die der pH-Indikator Phenolphthalein eingesetzt wird.

Ein ebenfalls auf einem Smartphone basierender Ansatz eines portablen DMF-Systems wird von Zeng et al. vorgestellt [115]. Das System arbeitet in der offenen EWOD-Konfiguration (vgl. Kapitel 2.1.3). Eine Besonderheit ist die Verwendung des *high-k* Dielektrikums Cyanoethyl-Pullulan und eine damit einhergehende Reduktion der benötigten Spannung auf einen Effektivwert von 45 V [75]. Die Ansteuerung der einzelnen Pfadelektroden erfolgt in diesem System über mechanische Relais. Die im Smartphone integrierte Kamera wird dabei zur Auswertung von Chemilumineszenz-Signalen am Beispiel eines Luminol-Meerrettichperoxidase (engl.: *Horseradish peroxidase*) (HRP)-Wasserstoffperoxid Chemilumineszenzsystems verwendet, mit der H₂O₂-Konzentrationen von 1 mM bis 20 mM linear abgebildet werden können.

Coudron et al. stellen eine EWOD-Plattform vor, die sinusförmige Ausgangsspan-

nungen von bis zu 225 V Effektivwert bei einer Frequenz von 1 kHz zur Aktuierung der Tropfen erzeugt [116]. Die Plattform kann bis zu 48 Kanäle schalten, wobei zwischen der Aktuierung eines Tropfens und der Messung eines Tropfens mittels HochspannungsmosFETs umgeschaltet werden kann. Im Falle einer gewünschten Aktuierung wird die entsprechende Elektrode mit dem Hochspannungssignal verbunden. Zur Überprüfung mittels kapazitivem Feedback, ob der Tropfen erfolgreich aktuirt wurde oder nicht, wird der Analog Digital (AD)-Wandler eines Mikrocontrollers genutzt.

Abweichend von den reinen DMF-Plattformen haben die *Sandia National Laboratories* eine Plattform entwickelt, die den Transfer von Fluiden zwischen externen Fluidiken, wie z.B. kanalbasierten Mikrofluidiksystemen oder Pumpen, bereitstellt [117]. Es wird dabei von einem sogenannten *fluid distribution hub* gesprochen. Dabei werden kleine Kapillaren aus Quarzglas mit Teflon hydrophob beschichtet und zwischen den Boden- und Deckelchip der EWOD-Plattform eingebracht. Der Außendurchmesser der Kapillaren liegt dabei unter 170 μm . Beim Einbringen einer Flüssigkeit in die Plattform wird durch eine Messung der elektrischen Leitfähigkeit automatisch detektiert, ob ausreichend Fluid in die Plattform eingebracht wurde. Die so eingebrachten Tropfen werden dann automatisch per EWOD von der Kapillare weg bewegt. Über die gängigen Fluidoperationen (vgl. Kapitel 2.1.3) können so per EWOD-Prinzip Tropfen vermischt, getrennt und zwecks Weiterverarbeitung zu einer weiteren Kapillare transportiert werden und dort erneut aus der EWOD-Plattform entnommen werden.

2.1.4.2. Anwendungsfelder EWOD

Die Anwendungsfelder von EWOD-Plattformen sind vielfältig. Im Folgenden wird ein kurzer, thematisch sortierter Überblick gegeben, wobei detaillierter auf die Verwendung elektrischer Messtechnik in EWOD-Systemen eingegangen wird. EWOD wird dabei oft als Technik genutzt, kleine Probenvolumina bereitzustellen, zu verdünnen oder zu mischen. Durch das Mischen können somit Reaktionen zwischen den einzelnen Tropfen ausgelöst werden. Anschließend werden die Tropfen zu einem, meist vordefinierten, Bereich transportiert, in dem eine Analyse mittels verschiedener Verfahren stattfindet. Dabei werden verschiedene Analysemethoden, wie die magnetische Kernresonanz (engl.: *nuclear magnetic resonance*) (NMR) [118–121], optische Methoden wie die bildgebende Oberflächenplasmonenresonanz (engl.: *surface plasmon resonance imaging*) (SPRi) [51–53] oder Farbmetriken [54], verwendet. EWOD-Systeme werden aktuell in der Chemie, Biologie und der Biochemie vielfältig eingesetzt [8]. Dabei werden neben wässrigen Lösungen auch organische Lösemittel per EWOD bewegt [122] oder Hydrogele synthetisiert [36]. Auch in der Biologie sind die Anwendungsmöglichkeiten vielfältig. Sie reichen von PCR-Anwendungen [29, 30], über zellbasierte Anwendungen [31–43] bis hin zu Immunoassays [44–50].

Neben den bereits beschriebenen Methoden wird auch elektrische Messtechnik zur Tropfenanalyse eingesetzt. Verbreitet sind amperometrische Messmethoden, bei denen z.B. die Oxidation von 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB) mittels einer HRP gemessen wird [63]. Diese Reaktion wird vielfach in *Enzyme-linked immunosorbent assays* (ELISAs) zur Endpunktdetektion verwendet [123]. Neben der Amperometrie wird auch die Voltammetrie in EWOD-Systemen genutzt. Farzbod et al. haben mit diesem Verfahren die Kaliumkonzentration in einer KCl-Lösung unter Einsatz einer integrierten Silber-/Silberchlorid (Ag/AgCl) Pseudo-Referenzelektrode (RE) und einer ionenselektiven Membran bestimmt [58]. Yu et al. integrieren die Möglichkeit zur Cyclovoltammetrie (engl.: *Cyclic voltammetry*) (CV)-Messung in eine DMF-Plattform, um die Aufnahme von Dopamin durch Neuronen zu überwachen [64, 65]. Dryden et al. integrieren Elektroden zur Messung der Paracetamol-Konzentration in einem Tropfen mittels *Linear sweep voltammetry* (LSV) [56]. So kann durch Verdünnungsreihen mittels EWOD eine Nachweisgrenze von 76 μM erzielt werden. Zur Erhöhung der Oberfläche der eingebrachten Elektroden und damit einer erhöhten Sensitivität verwenden Rackus et al. und führen einen chemischen Nachweis mittels *Differential pulse voltammetry* (DPV) von Antikörpern des Rubella Virus, der eine Immunität z.B. nach einer Impfung nachweisen kann [61]. Ein weiteres Anwendungsfeld von EWOD-Plattformen ist die Kultivierung von Zellen [32, 34, 124, 125]. Dabei ist die Anzahl an vorhandenen Zellen, die z.B. durch Zellteilung sich stetig ändert, eine wichtige Kenngröße und gibt Aufschluss über den Zustand der Zellkultur. Diese kann durch eine Impedanzmessung zwischen Boden- und Deckelektrode durch die isolierenden Schichten der EWOD-Chips erfolgen [40, 60]. Ein Ansatz, um kleine Unterschiede in microRNA zu detektieren wird von Shamsi et al. vorgestellt [62]. Dabei wird eine ITO-Arbeitslektrode (AE) in den Deckelchip eingebracht und in einer ersten Anwendung per Elektrochemilumineszenz MDA-MB-231 und MCF-7 Brustkrebszellen voneinander unterschieden. Neben den integrierten Sensoren existieren der Vollständigkeit halber auch EWOD-Systeme, die lediglich zur Aufbereitung der Proben verwendet und die Messungen anschließend mit externen elektrochemischen Sensoren durchgeführt werden [59].

Ein bedeutender Nachteil der meisten vorgestellten Systeme ist, dass die Sensoren zur elektrochemischen Messtechnik je nach Anwendung individuell, meist in den Deckelchip, eingebracht werden müssen. De Campos et al. haben dagegen die sogenannte *Plug-and-play* (PnP)-DMF entwickelt [55]. Dabei wird der Deckelchip, der in der Regel aus Glas ist, durch einen Deckel aus Polymethylmethacrylat (Plexiglas) (PMMA) ersetzt. Darauf wird ein mit ITO beschichteter Polyethylenterephthalat (PET)-Film geklebt, der wiederum mit Fluoropolymer beschichtet und somit hydrophob ist. In den Deckel aus PMMA wird ein Schlitz eingebracht, in den verschiedene Sensoren integriert werden können. Neben der dauerhaften Verwendung eines Sensors kann auch ein schneller

Austausch im laufenden Experiment erfolgen. Die PnP-DMF liefert somit ein großes Maß an Flexibilität und kann mit den bereits beschriebenen *DropBot* und *DStat* aus der selben Forschungsgruppe genutzt werden [57, 113]. Als erste Anwendungen wurde die amperometrische Detektion von Glukose, β -Keton und Laktat vorgestellt [55].

Der Vollständigkeit halber ist zu erwähnen, dass der EWOD-Effekt auch für weitere Anwendungsfelder außerhalb der Chemie, Biologie und Biochemie benutzt wird. EWOD wird dabei z.B. als Aktuationsmechanismus für eine mikromechanische Bühne genutzt, die auf 4 Tropfen gelagert ist [126]. Die Veränderung des Kontaktwinkels und somit der Höhe des Tropfens führt zu einer vertikalen Bewegung der Bühne bzw. zu einer Veränderung des Neigungswinkels. Ebenfalls ist ein Tropfentransport zwischen zwei parallel angeordneten Boden- und Deckelchips möglich, bei dem der Tropfen minimal kleiner ist als der Abstand der zwei Chips. Durch eine unterschiedliche Frequenz der Aktuierungsspannung ist damit ein Transport auf einer Ebene möglich ($f=1$ kHz) sowie auch der Wechsel zwischen Boden- und Deckelchip ($f=44$ Hz) [127, 128]. Das liegt daran, dass sich der Tropfen bei unterschiedlichen Frequenzen unterschiedlich hoch auftürmt. Auch in der Optik findet EWOD Anwendung. So kann z.B. die Brennweite einer flüssigen Linse mittels EWOD in wenigen Millisekunden reversibel variiert werden [129]. Diese Technik findet z.B. in aktuellen *Smartphones* Anwendung. Im Bereich der *electronic paper* wird EWOD dazu eingesetzt, die Helligkeit eines Bildpunktes zu verändern [26–28]. Zusätzlich ist EWOD auch im Zusammenhang mit aktuell rein akademischen Anwendungen publiziert. Dabei ist z.B. ein Tropfentransport über beliebig geformte Topologien, wie z.B. Wände und Überhänge, oder auch das kontrollierte Abprallen eines Tropfens von einer hydrophoben Oberfläche zur Sortierung der Tropfen in kleine Gefäße möglich [130, 131].

2.2. Elektrochemische Impedanzspektroskopie

Die elektrochemische Impedanzspektroskopie (EIS) ist eine Methode zur Charakterisierung einer Elektrode/Elektrolyt-Grenzfläche in Abhängigkeit der Frequenz f . EIS ist ein nichtinvasives Verfahren und verändert somit die Eigenschaften der Probe nicht. Die Methode ist entsprechend sehr gut geeignet, um die Eigenschaften von z.B. biologischen Zellen, wie Bakterien, zu bestimmen oder Adsorptionsvorgänge z.B. von Desoxyribonukleinsäure (engl.: *Deoxyribonucleic acid*) (DNA) oder Proteinen auf den Messelektroden zu überwachen [132–162]. Die Probe wird mit einem Kleinsignal der Form

$$u(t) = \hat{u} \cdot \sin(2\pi f \cdot t) \quad (2.8)$$

angeregt, sodass sich eine im Allgemeinen phasenverschobene und über den Betrag der gemessenen Impedanz Z skalierte Stromantwort im eingeschwungenen Zustand

$$i(t) = \hat{i} \cdot \sin(2\pi f \cdot t + \phi) \quad (2.9)$$

einstellt [163]. Durch die Fourier-Transformation von Spannung und Strom ergibt sich die komplexe Impedanz Z bei einer Frequenz f zu:

$$Z(j \cdot 2\pi f) = Z(j\omega) = \frac{\mathcal{F}\{u(t)\}}{\mathcal{F}\{i(t)\}} = Z_{Re} + j \cdot Z_{Im} \quad (2.10)$$

Bei der Darstellung wird üblicherweise die Kreisfrequenz $\omega = 2\pi f$ verwendet. Reale Elektrode/Elektrolyt-Systeme werden unter Verwendung kleiner Spannungsamplituden charakterisiert, sodass die Spannung $\hat{u}$ kleiner als die Temperaturspannung $U_T = k_B T / e$ (etwa 25 mV bei 25 °C) ist. Dabei ist k_B die Boltzmann-Konstante, T die absolute Temperatur und e die Elementarladung. In diesem Bereich kann die Butler-Volmer-Gleichung in guter Näherung als linear angenommen werden. Die elektrische Leitfähigkeit σ und die relative Permittivität ϵ_r werden zur komplexen Permittivität $\epsilon_r^* = \epsilon_r' - j \cdot \epsilon_r''$ zusammengefasst, wobei $\epsilon_r' = \epsilon_r$ (die Permittivität) die Fähigkeit des Materials Energie zu speichern repräsentiert und $\epsilon_r'' = \frac{\sigma}{\omega \epsilon_0}$ (die Leitfähigkeit) die Fähigkeit Strom zu leiten [164]. Die Änderung der Permittivität und folglich der Impedanz über der Frequenz ist dem sukzessiven Ausfall der Polarisationsmechanismen über der Frequenz geschuldet [165].

2.2.1. Elektrode/Elektrolyt-Übergang

An geladenen Oberflächen oder durch Einbringen von Ladungen über externe Felder bildet sich eine EDL in der Nähe der Grenzfläche aus. Geladene Oberflächen entstehen in der Mikrofluidik häufig durch Kontakt eines Polymers mit einer wässrigen Lösung, bei der z.B. Wasserstoffprotonen H^+ aus einer Carboxylgruppe in die Lösung dissoziieren. Die Oberfläche weist somit COO^- -Gruppen auf und ist damit negativ geladen [67]. Eine schematische Darstellung am Beispiel einer negativ geladenen Oberfläche ist in Abbildung 2.4 skizziert.

Die EDL besteht aus verschiedenen Schichten und befindet sich parallel zur Oberfläche. Ihre Dicke beträgt wenige Nanometer [164]. In der Nähe der geladenen Oberfläche, in der sogenannten inneren Helmholtz-Schicht, befinden sich stark gebundene Spezies aus der Lösung in Form von dehydrierten Ionen. In der äußeren Helmholtz-Schicht dagegen werden Ionen mitsamt Hydrathülle elektrostatisch angezogen. Die Ionen in diesen beiden Schichten sind vollständig immobilisiert. Beide Helmholtz-Schichten werden jeweils durch die innere Helmholtz-Ebene (IHE) bzw. die äußere Helmholtz-Ebene (ÄHE)

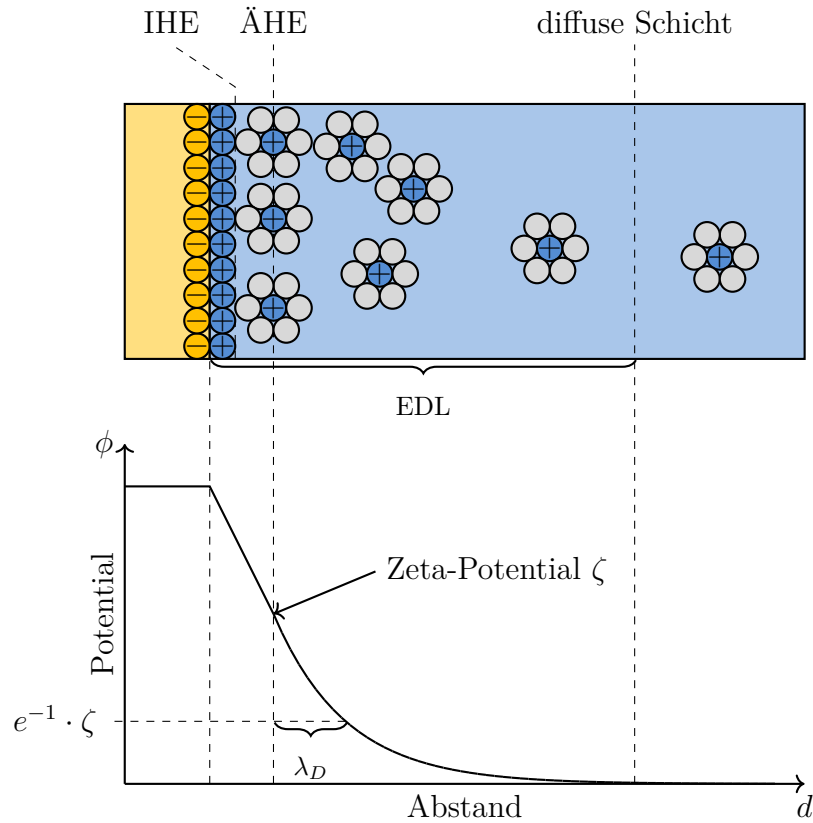


Abbildung 2.4.: Elektrochemische Doppelschicht

begrenzt. Dabei verläuft die IHE durch die Schwerpunkte der dehydrierten Ionen bzw. die ÄHE durch den Mittelpunkt der nicht spezifisch adsorbierten Ionen in der äußeren Helmholtz-Schicht. Über den beiden Helmholtz-Schichten fällt das Potential linear bis hin zum sogenannten Zeta-Potential ζ ab [166]. Die räumliche Lage des Zeta-Potential korreliert mit dem Übergang zwischen gebundenen Ladungsträgern und der sich außerhalb der Helmholtz-Schichten befindlichen diffusen Schicht aus mobilen Ladungsträgern (Gouy-Chapman-Schicht). Hier besteht bereits eine leichte elektrostatische Anziehung durch die Elektrode, allerdings sind die Ionen nicht fest gebunden und die thermische Energie genügt ihnen, um sich von der Elektrode zu lösen. Der Potentialverlauf in der Gouy-Chapman-Schicht ist exponentiell abfallend von der Elektrode senkrecht ins Medium. Der Übergang zwischen der diffusen Schicht und dem Medium ist erreicht, wenn das Potential sich in zunehmender Distanz von der Elektrode nicht mehr ändert. Als wichtige Kenngröße der räumlichen Ausbildung der EDL kann dabei die Debye-Länge λ_D gesehen werden. Sie befindet sich in jenem Abstand von der ÄHE, an dem das Potential in der EDL auf das e^{-1} -fache des Zeta-Potentials abgefallen ist [164].

2.2.2. Modellierung durch Ersatzschaltbilder

Der Verlauf der Impedanz Z über der Frequenz f kann durch elektrische Ersatzschaltbilder (ESB) abgebildet werden. Die Modellierung erfolgt derart, dass den einzelnen Elementen des ESBs physikalische Eigenschaften des realen Systems zugeordnet werden. Für einen Elektrolyten mit Redoxpaaren und Salzionen ergibt sich ein typisches ESB nach Abbildung 2.5 [166–168]. Dabei wird oft ein vereinfachtes Randles-ESB verwendet, bei dem die sogenannte Warburg-Impedanz, ein Modell für Diffusionsprozesse, vernachlässigt wird.

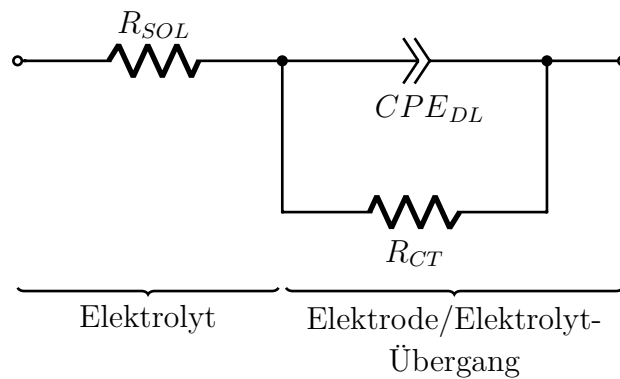


Abbildung 2.5.: Vereinfachtes Randles-ESB zur Beschreibung des Elektrode/Elektrolyt-Übergangs

R_{SOL} repräsentiert den Widerstand des Elektrolyten, dessen Wert hauptsächlich durch die Ionenkonzentration im Elektrolyten bestimmt wird [169, 170]. Es besteht eine antiproportionale Beziehung zwischen der Konzentration c und R_{SOL} [170]. Die elektrische Doppelschichtkapazität wird aufgrund von Abweichungen von einer idealen Kapazität, z.B. durch Rauigkeit und Porosität der Elektroden, durch ein *constant phase element* (*CPE*) (CPE_{DL}) modelliert [164, 171–174]. Die elektrische Impedanz Z des *CPE* ergibt sich nach [171, 175, 176] zu:

$$Z = \frac{1}{Q_0 \cdot (j\omega)^n} \quad (2.11)$$

Dabei ist Q_0 der Kapazitätswert des *CPEs*, ω die Kreisfrequenz und j die imaginäre Einheit. Der Exponent n nimmt bei einer ideal glatten Elektrode den Wert von 1 an, während sinkende Werte zunehmende Rauigkeit der Elektrode indizieren [174]. Parallel zu CPE_{DL} befindet sich der Ladungstransferwiderstand R_{CT} , der faradaysche Prozesse an den Elektroden adressiert. Das vorgestellte ESB bietet eine einfache Möglichkeit der Modellierung einer Grenzfläche zwischen Elektrode und einem salzhaltigen Elektrolyt mit oder ohne Redox-Paaren.

Neben dem vorgestellten ESB gibt es eine Vielzahl von Möglichkeiten, das Modell komplexer zu gestalten [177]. Entscheidend für eine spätere Interpretation der Werte

ist allerdings, dass jedem Bauelement eine physikalische Eigenschaft des abgebildeten Systems zugeordnet werden muss.

2.3. Leitfähige Polymere

Im Gegensatz zu Polymeren, bei denen alle vier Valenzelektronen der Kohlenstoffatome kovalent gebunden sind (σ -Bindung), verfügen leitfähige Polymere über abwechselnd angeordnete Einfach- und Doppelbindungen. Diese Anordnungen zeichnen sich dadurch aus, dass pro Kohlenstoffatom ein freies Valenzelektron verbleibt (π -Elektron). Man spricht dabei von konjugierten Polymeren [178]. Die π -Elektronen sind über das komplette Polymer delokalisiert und bilden die Basis für Ladungstransport entlang der Polymerketten [179]. Zusätzlich kann es über *hopping*-Leitung zu Ladungstransport zwischen Polymerketten kommen. Intrinsisch sind diese Polymere allerdings zunächst Isolatoren oder im besten Fall Halbleiter [179]. Um Ladungstransport in der Polymermatrix zu ermöglichen, werden die konjugierten Polymere oxidiert (p-Dotierung) bzw. reduziert (n-Dotierung). Dies kann die elektrische Leitfähigkeit um mehrere Größenordnungen erhöhen [180]. Während der Dotierung, die chemisch oder elektrochemisch erfolgen kann, werden Gegenionen in die Struktur der Polymere eingebracht [178]. Dies sorgt dafür, dass die Ladungsneutralität nach außen gewährleistet bleibt. Die erhöhte Leitfähigkeit im dotierten Polymer beruht auf den durch die Dotierung eingebrachten Ladungsträgern und deren Bewegung entlang der delokalisierten π -Elektronen [178, 179].

Zu den bekanntesten Stellvertretern der leitfähigen Polymere gehören Poly-3,4-ethylenedioxythiophen (PEDOT):Polystyrolsulfonat (PSS) und Polypyrrol (PPy):PSS, wobei hier detaillierter auf Letzteres eingegangen werden soll. PPy:PSS wird typischerweise in Polymerbatterien, als Gegenelektrode in Solarzellen, als Beschichtung für Elektroden zur Ableitung von neuronalen Signalen oder als Pseudo-RE eingesetzt [181–194]. Abbildung 2.6 zeigt das Monomer und das Polymer von Pyrrol [179].

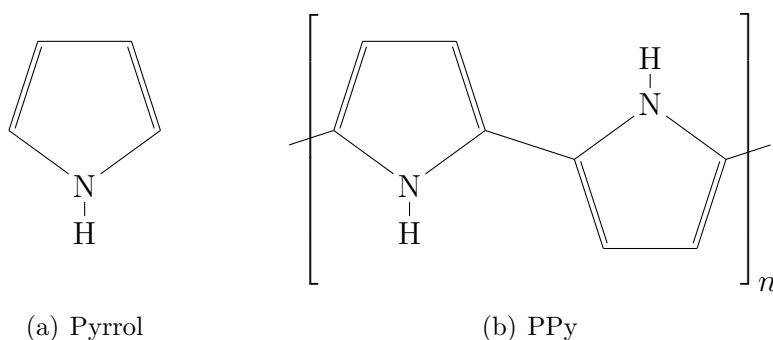


Abbildung 2.6.: Monomer und Polymer von Pyrrol

Eine Dotierung von Pyrrol wird z.B. durch eine elektrochemische Abscheidung mit PSS erreicht, wobei die Polymerisationsspannung 600 mV gegen Ag/AgCl beträgt [190, 195]. Bei dieser sogenannten Elektropolymerisation werden die Monomere sowohl oxidiert als auch polymerisiert [196]. Während der Polymerisation werden die Polymerketten zunehmend länger und unlöslich. Sie fallen aus der Lösung aus und adsorbieren auf der Elektrodenoberfläche [197]. Die negativ geladenen Sulfonsäuregruppen des PSS kompensieren dabei das, durch Oxidation von Pyrrol entstandene, Ladungsungleichgewicht und werden irreversibel in die Polymermatrix eingebaut [198]. Der entstandene Film fungiert somit als Kationentauscher und weist dadurch eine geringere Übergangsimpedanz zu ionenhaltigen wässrigen Elektrolyten auf [133, 134, 191].

3. Entwicklung von EWOD-Plattformen

3.1. Herstellungsprozess der EWOD-Chips

Eine geschlossene EWOD-Plattform besteht aus einem Boden- und einem Deckelchip (vgl. Kapitel 2.1.3). Der Bodenchip besteht in der Regel aus einer Anordnung von Pfadelektroden, einem Dielektrikum und einer abschließenden hydrophoben Schicht, während der Deckelchip aus einer, meist transparenten, Gegenelektrode besteht, die von einer hydrophoben Schicht bedeckt ist. Zusätzlich besteht die Möglichkeit, Sensorik in den Deckelchip einzubringen. Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein Herstellungsprozess für einen Boden- und einen Deckelchip mit integrierten Elektroden zur EIS entwickelt, der im Folgenden beschrieben wird.

3.1.1. Bodenchip

Die Herstellung des Bodenchips findet auf 4" *Borofloat 33* Glaswafern statt. In einem DC-Magnetron Sputterprozess wird eine 100 nm dicke Goldschicht als Elektrodenmaterial aufgebracht. Als Haftvermittler zu Glas dient 30 nm dickes Titan. Die Geometrie der Bodenelektroden, der sogenannten Pfadelektroden, wird per Photolithographie und einem anschließenden nasschemischen Ätzprozess erzeugt. Für die Photolithographie wird der Positivlack AZ5214 verwendet. Der anschließende Ätzprozess findet in Königswasser zum Entfernen der nicht benötigten Goldschicht und in 140 mL einer Ammoniumhydroxid-Wasserstoffperoxid-Wasser Mischung (30 %-ig H_2O_2 :25 %-ig NH_4OH : H_2O = 1:1:5) zur Entfernung des Haftvermittlers statt. Die resultierende Geometrie ist in Abbildung 3.1 gezeigt.

Nach der Strukturierung wird der Wafer auf die Größe des Bodenchips zugesägt (vgl. Abbildung 3.1(a)) und anschließend weiter prozessiert. Das hat den Vorteil, dass die Herstellung des Chips nach der abschließenden hydrophoben Beschichtung abgeschlossen ist und diese nicht durch den Sägeprozess beschädigt werden kann. Die Dimensionen des Bodenchips entsprechen mit 52 mm x 76 mm genau der Größe eines gängigen Objektträgers (DIN ISO 8037-1) und zielen auf eine kostengünstige spätere Übertragung des Herstellungsprozesses weg vom Waferlevel ab. Der Bodenchip besteht aus insgesamt 53 Pads, von denen sieben Pads als Reservoirs (R1-R7), ein Pad als Aufnahme für nicht mehr benötigte Flüssigkeiten (W, engl.: *Waste*) und die restlichen 45 Pads als Pfadelektroden dienen. Der Chip ist dabei so aufgebaut, dass Tropfen aneinander vor-

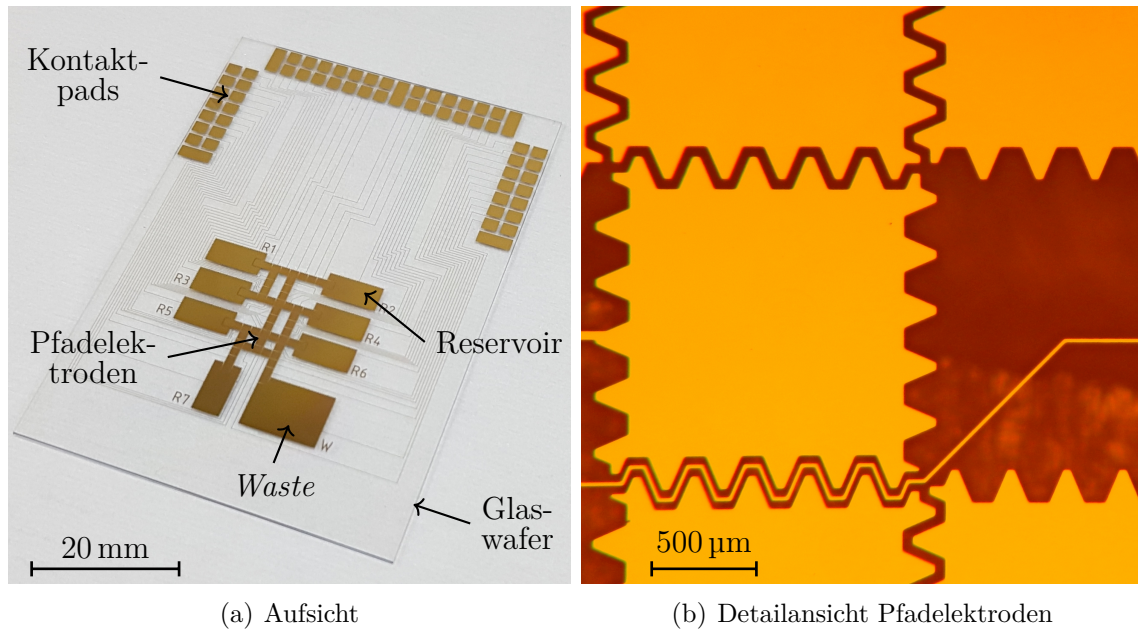


Abbildung 3.1.: Fertigprozessierter Bodenchip mit verzahnten Pfadelektroden

bei geführt werden können ohne miteinander zu kollidieren. Des Weiteren ist eine feste Position für die Integration eines Sensors in den Deckelchip vorgesehen. Dieser befindet sich in der Nähe der *Waste* Pfadelektrode, um eine Vorzugsrichtung von den Reservoirs 1-7 über den Sensor hin zum *Waste* vorzugeben. Dies verringert unter Umständen die Anzahl an benötigten Bewegungsschritten der einzelnen Tropfen.

Benachbarte Elektroden haben einen Abstand von $40\text{ }\mu\text{m}$ und sind miteinander verzahnt, sodass ein Tropfen, dessen Rand sich zwischen zwei Pfadelektroden befindet, im Einflussbereich beider Elektroden liegt. Dabei nimmt die Länge der sich mit der Nachbarelektrode überlappenden Kontaktlinie des Tropfens bei zunehmender Verzahnung zu [199]. Dies stellt eine durchgängige Ansteuerbarkeit der Tropfen, unabhängig von der genauen Position, sicher (vgl. Abbildung 3.1(b)). Die Pfadelektroden auf dem Bodenchip sind in einer Schicht auf den Wafer aufgebracht. Es ist folglich nicht möglich, dass sich Zuleitungen zu den Pads kreuzen. Aufgrund der Geometrie der Pfadelektroden müssen daher vereinzelt Leiterbahnen zwischen den Pfadelektroden platziert werden. Hierbei wird der Abstand der benachbarten Pfadelektroden von $40\text{ }\mu\text{m}$ auf $60\text{ }\mu\text{m}$ vergrößert und die Zuleitung in diesem Bereich mit einer Breite von $20\text{ }\mu\text{m}$ mäanderförmig geführt. Am oberen Rand des Bodenchips ist ein Bereich mit Kontaktpads vorgesehen, die im üblichen Rastermaßabstand von $2,54\text{ mm}$ angeordnet sind.

Anschließend wird eine dielektrische Schicht aus Parylene C per Pyrolyse-Verfahren abgeschieden. Die Zieldicke beträgt dabei zwischen $4\text{ }\mu\text{m}$ und $5\text{ }\mu\text{m}$. Während der Abscheidung werden die Kontaktpads mit einem Stück Antireflexionsfolie bzw. einseitigem Klebeband abgeklebt. Durch Entfernung der Folie oder des Klebebandes nach dem Pro-

zess ist ein einfacher *Lift-Off* des abgeschiedenen Dielektrikums auf den Kontaktpads ohne die Nutzung von aufwändigeren Strukturierungsprozessen, wie der Photolithographie oder reaktiven Ionenätzen (engl.: *reactive ion etching*) (RIE), möglich, um die Kontaktpads elektrisch kontaktierbar zu machen. Abschließend wird 1 %-ige (w/v) Teflon AF 1600 Lösung per *Spincoating* auf den Bodenchip aufgebracht. Die 1 %-ige (w/v) Teflon AF 1600 Lösung wird durch Verdünnung einer kommerziell erhältlichen 6 %-igen (w/v) Teflon AF 1600 Lösung mit dem fluorierten Lösemittel FC-40 angesetzt. Die so entstandene etwa 50 nm dünne Schicht stellt nach dem Ausheizen die hydrophobe Oberflächenbeschichtung dar. Ein Querschnitt des Bodenchips ist in Abbildung 3.2 dargestellt.

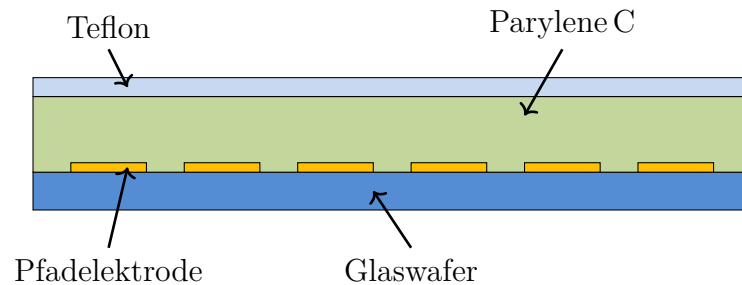


Abbildung 3.2.: Querschnitt des Bodenchips. Abbildung ist nicht maßstabsgetreu

3.1.1.1. Dielektrikum

Wie bereits beschrieben, wird standardmäßig eine Parylene C-Schicht als Dielektrikum verwendet. Die relative Permittivität ϵ_r liegt laut Datenblatt des Herstellers im Bereich niedriger Frequenzen bei 3,15 ($f=60$ Hz) bzw. 3,1 ($f=1$ kHz). Schichtdicken unter $3\text{ }\mu\text{m}$ gelten dabei als anfällig für dielektrische Durchbrüche. Da die Änderung des Kontaktwinkels, auf der der EWOD-Effekt beruht, nach Young-Lippmann (vgl. Gleichung 2.6) bei dünnen Schichtdicken d des Dielektrikums sowie hohen relativen Permittivitäten ϵ_r bei gleicher Spannung U größer ist, wird ein weiteres dielektrisches Material im Rahmen dieser Arbeit verwendet. Dabei werden 200 nm Aluminiumoxid (Al_2O_3) mittels *Atomic layer deposition* (ALD) auf die Pfadelektroden des Bodenchips aufgebracht. Die Schicht wird im Bereich der Kontaktpads mittels eines nasschemischen Ätzprozesses für 40 min in 50 mM Kaliumhydroxid (KOH) entfernt. Abschließend wird, wie oben beschrieben, eine 50 nm dicke Teflonschicht aufgebracht. Neben der geringeren Dicke ist die relative Permittivität von Al_2O_3 mit $\epsilon_r=9$ deutlich höher als die von Parylene C [200]. Durch Änderung der Materialdicke und -eigenschaften des Dielektrikums kann somit nach Young-Lippmann (vgl. Gleichung 2.6) bei geringeren Spannungen U dieselbe Änderung des Kontaktwinkels θ hervorgerufen werden.

3.1.2. Deckelchip

Wie bei der Herstellung des Bodenchips (vgl. Kapitel 3.1.1), wird der Deckelchip auch auf 4" *Borofloat 33* Glaswafern prozessiert. Der Querschnitt des im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Deckelchips ist in Abbildung 3.3 dargestellt und wird im Folgenden zusammenfassend vorgestellt.

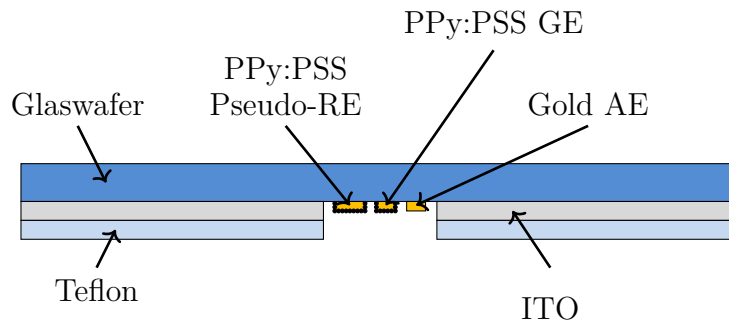


Abbildung 3.3.: Querschnitt Deckelchip, Abbildung nicht maßstabsgetreu

Die Bezeichnung der Elektroden richtet sich dabei nach der späteren Nutzung in einer 3-Elektrodenanordnung bestehend aus einer Gold AE und je einer mit PPy:PSS beschichteten Gegenelektrode (GE) bzw. Pseudo-RE (vgl. Kapitel 3.1.2.1).

In einem ersten Strukturierungsschritt werden lediglich opake Justagemarken strukturiert. Das hat den Grund, dass in der weiteren Prozessierung alle Schichten auf die durchsichtige ITO-Gegenelektrode justiert werden müssen, um Kurzschlüsse zwischen der Gegenelektrode und den Elektroden für die EIS-Messungen zu vermeiden. Die Justagemarken werden in einer ersten Photolithographie mittels des Positivlackes AZ5214 und einem anschließenden Ätzprozess analog zur Strukturierung der Bodenelektroden hergestellt (vgl. Kapitel 3.1.1). Als durchsichtige und leitfähige Gegenelektrode wird ITO durch ein Sputterverfahren abgeschieden. Die Strukturierung mittels eines *Lift-Off*-Prozesses ist dabei sinnvoll, da nasschemische Ätzprozesse von ITO schwer zu kontrollieren sind. Bei einem Ätzprozess von amorphem ITO beispielsweise mit Salzsäure kommt es zu einer extrem hohen Ätzrate [201]. Die Ätzrate von kristallinem ITO in Salzsäure ist kontrollierbarer, in Königswasser kommt es allerdings auch bei kristallinem ITO zu einer starken Unterätzung und einer sehr hohen, inhomogenen Ätzrate [202]. Als Lackschicht für den späteren *Lift-Off*-Prozess wird der Negativlack AZ nLOF2070 per *Spincoating* aufgebracht und photolithographisch strukturiert. Anschließend wird ein DC-Magnetron Sputterprozess mit einem 8" ITO-Target mit einer Zusammensetzung von $\text{In}_2\text{O}_3:\text{SnO}_2 = 90:10$ Gew% in Argon zur Dünnschichtabscheidung verwendet. Nach dem Sputtern wird ein *Lift-Off*-Prozess durchgeführt, um die Struktur des vorher aufgetragenen Photolackes in die ITO-Schicht zu übertragen.

Einer der wichtigsten Schritte zur Verbesserung der Transparenz und zur Reduzierung des spezifischen elektrischen Widerstandes ist eine Temperaturbehandlung (engl. *annealing*). Beim *Annealing* werden die Proben für eine bestimmte Zeit auf eine hohe Temperatur erhitzt. Bei Temperaturen von 160 – 180 °C beginnt die Kristallisierung von ITO, was zu einer erheblichen Steigung der Ladungsträgerkonzentration führt, jedoch auch eine kleine Abnahme der Ladungsträgerbeweglichkeit bewirkt [203]. Im Rahmen dieser Arbeit wird die ITO-Dünnschicht bei 400 °C in Stickstoffatmosphäre und damit deutlich über der Kristallisationstemperatur ausgeheizt [204–206]. Abbildung 3.4 zeigt eine Probe mit Teststrukturen unmittelbar nach dem *Lift-Off*-Prozess und nach dem *Annealing*.

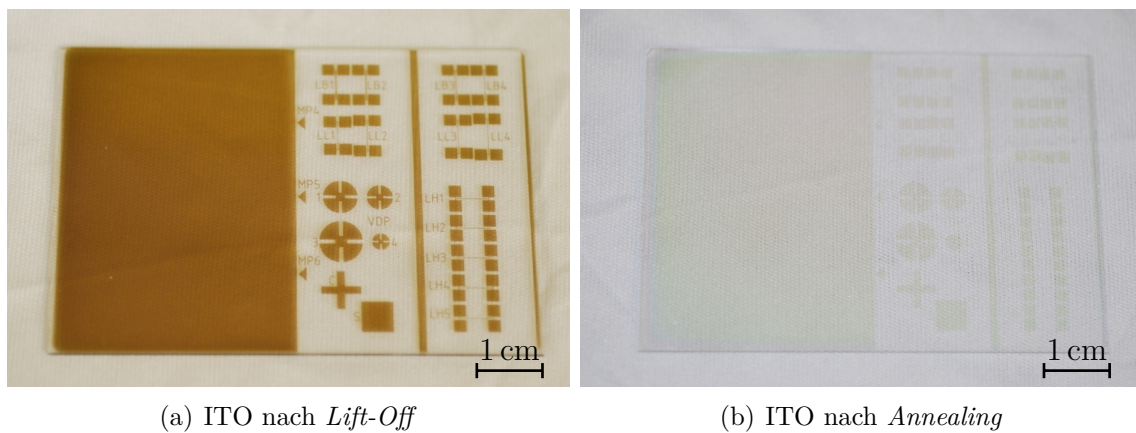


Abbildung 3.4.: Strukturiertes ITO-Dünnschicht auf einem Glasobjektträger

Zur Herstellung der Elektroden für den in den Deckelchip integrierten EIS-Sensor wird ebenfalls ein *Lift-Off*-Prozess mit dem Photolack AZ nLOF2070 durchgeführt. Die vor der ITO-Schicht prozessierten Justagemarken dienen zur Ausrichtung der Photomaske zum Wafer und ermöglichen damit später, dass die Elektroden keinen Kurzschluss zum ITO haben. Die Elektroden werden in einem DC-Magnetron Sputterprozess abgeschieden. Dabei werden 30 nm Titan, 220 nm Gold als späteres Elektrodenmaterial und 50 nm Titan als Schutzschicht aufgebracht. Zur Herstellung der hydrophoben Schicht wird zuerst eine etwa 100 nm dünne Schicht Parylene C in einem Pyrolyse-Verfahren als Haftvermittler für das Teflon aufgebracht. Auf die Haftvermittlerschicht wird danach eine dünne Schicht aus 6 %-iger Teflon AF 1600 Lösung per *Spincoating* aufgebracht und ausgeheizt. Die Schichtdicke unterscheidet sich mit etwa 400 nm dabei deutlich von der Dicke der Teflonschicht auf dem Bodenchip von etwa 50 nm (vgl. Kapitel 3.1.1).

Zur Strukturierung des Teflons wird ein Photolithographieschritt benötigt. Dabei muss der Wafer beim *Spincoating* mit Photolack benetzbar sein. Die Benetzbarkeit wird durch einen 30 s RIE-Prozess mit Sauerstoffplasma bei einer Leistung von 50 W verbessert, da der Kontaktwinkel von Teflon zu Wasser und auch zu Photolack sinkt

[41, 207]. Die erhöhte Benetzbarkeit resultiert daraus, dass während des Ätzprozesses Sauerstoffatome in die Schicht eingebracht werden [207]. Die Ätzrate von amorphem Teflon liegt bei ca. $500 \text{ nm} \cdot \text{min}^{-1}$ [207]. Die auf 400 nm erhöhte Ursprungsdicke der Teflonschicht sorgt dafür, dass nach dem Hydrophilisieren eine genügend dicke Teflonschicht verbleibt. Um die verbesserte Benetzbarkeit zu erhalten, wird der Wafer ohne die übliche Vorbehandlung auf einer Hotplate sofort mit dem Positivlack AZ9260 belackt und dieser strukturiert. Das Teflon und das Parylene C werden nun mit einem Trockenätzprozess in Sauerstoffplasma bei 200 W von den Kontaktpads und dem Sensorbereich entfernt und der Wafer mit einem Sägeschutzlack gegen Verschmutzung beim Sägeprozess geschützt. Der Deckelchip ist mit $71\,520 \mu\text{m} \times 36\,250 \mu\text{m}$ länger, dafür aber schmaler als der Bodenchip, um eine Zugänglichkeit der elektrischen Kontakte beider Chips sicher stellen zu können.

Nach dem Sägeprozess wird der Sägeschutzlack mit Hilfe der organischen Lösemitel Aceton und Isopropanol entfernt. Die benötigte geringe Benetzbarkeit der oberen Schicht aus Teflon muss in einem letzten Prozessschritt wieder hergestellt werden. Dazu werden die Chips für 2 min bei 200°C auf einer Hotplate ausgeheizt. Die Titanschuttschicht auf den Elektroden zur EIS-Messung kann unmittelbar vor den Versuchen durch nasschemisches Ätzen in 140 mL einer Ammoniumhydroxid-Wasserstoffperoxid-Wasser Mischung (30 %-ig H_2O_2 :25 %-ig NH_4OH : $\text{H}_2\text{O} = 1:1:5$) entfernt werden. Der hergestellte Deckelchip ist in Abbildung 3.5 zu sehen.

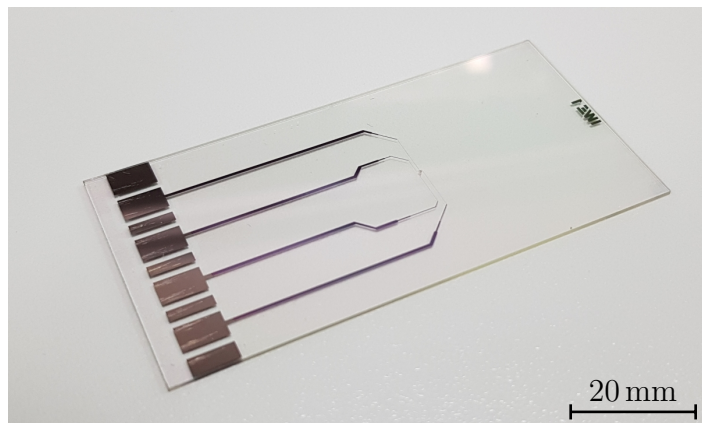


Abbildung 3.5.: Fertigprozessierter Deckelchip

Durch die Strukturierung der Teflonschicht wird eine hydrophile Öffnung erzeugt, die beim Vorgang des sogenannten *passive dispensings* benötigt wird [34, 35, 37, 208].

Im Folgenden wird auf die Modifikation der Goldelektroden für die EIS durch Beschichtung mit dem leitfähigen Polymer PPy:PSS näher eingegangen.

3.1.2.1. Gegen- und Pseudo-Referenzelektroden

Einzelne Elektroden der Elektrodenanordnung für die EIS-Messung werden mit dem leitfähigen Polymer PPy:PSS beschichtet, um sowohl die Übergangsimpedanz der Elektrode/Elektrolyt-Grenzfläche zu verringern, als auch ein konstanteres Elektrodenpotential zu erzeugen. Die Abscheidung erfolgt potentiostatisch bei 1 V. Dazu wird ein 200 μL Tropfen Monomerlösung (100 mM Pyrrol und 100 mM PSS) auf den Sensorbereich pipettiert. Durch Anlegen einer elektrischen Spannung zwischen 2 Elektroden bildet sich durch Elektropolymerisation ein PPy:PSS-Film. Die transferierte Ladung während der Elektropolymerisation ist ein Maß für die Anzahl polymerisierter Einheiten und folglich proportional zur Menge des bereits polymerisierten Materials [191, 209–211]. Sie wird daher als definiertes Abbruchkriterium der Abscheidung zu Rate gezogen. Abbildung 3.6 zeigt die Elektrodenstruktur vor und nach den jeweiligen Abscheidungen.

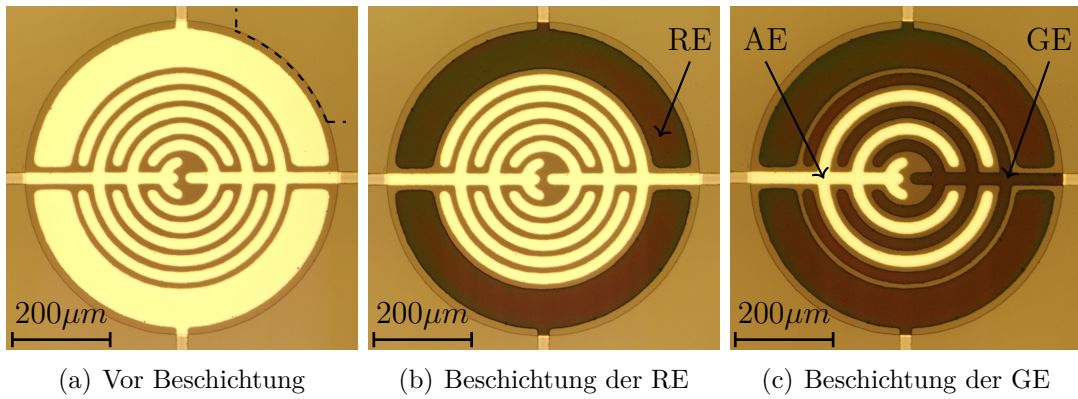


Abbildung 3.6.: PPy:PSS-beschichtete GE und Pseudo-RE auf Gold

Der Durchmesser der hydrophilen Öffnung, deren Rand in Abbildung 3.6(a) gestrichelt im oberen Teil der Struktur eingezeichnet ist, beträgt 750 μm . Die Breite und der Abstand der kreisförmig angeordneten Interdigitalelektroden (IDEs) bestehend aus der AE und der GE betragen jeweils 20 μm , sodass der Bereich der IDEs eine Kreisfläche mit dem Durchmesser 500 μm ausfüllt. Im Außenbereich ist eine große RE vorgesehen, die eine Breite von 85 μm besitzt und aus Gründen der Leiterbahnführung auf dem Chip in zwei Abschnitte aufgeteilt ist. Diese werden extern zu einer RE kurzgeschlossen. Die geometrischen Flächen der daraus resultierenden 3-Elektrodenanordnung bestehend aus einer AE, GE sowie einer RE sind Tabelle 3.1 zu entnehmen.

Die Abscheidung von PPy:PSS erfolgt zuerst auf den beiden Teilen der RE. Dazu werden AE und GE kurzgeschlossen und dienen als Gegenelektrode. Die Abscheidung erfolgt mit einer transferierten Ladung von 300 μC . Zu erkennen ist eine braune Schicht, die sich auf den Elektroden bildet. Analog dazu wird die GE beschichtet. Dabei dient die AE als Gegenelektrode. Die benötigte transferierte Ladung zur Herstellung beträgt

Elektrode	Fläche
RE	157 481 μm^2
GE	62 775 μm^2
AE	46 402 μm^2

Tabelle 3.1.: Geometrische Flächen der einzelnen Elektroden in der 3-Elektrodenanordnung

170 μC . Detaillierte Untersuchungen zum Einfluss der Ladung auf die morphologischen und elektrischen Eigenschaften der Schicht werden in Kapitel 4.2 diskutiert.

3.1.2.2. Interdigitalelektroden-Design

Neben der bereits beschriebenen 3-Elektrodenkonfiguration mit minimalen Strukturbreiten von 20 μm (vgl. Kapitel 3.1.2.1), wurde im Rahmen dieser Arbeit ein weiteres Elektrodendesign, basierend auf Gold-IDEs entwickelt. Die Fingerbreite sowie der Abstand der Finger beträgt 5 μm . Hierbei handelt es sich um eine 2-Elektrodenanordnung, deren grundlegende Geometrie an die Publikation von Eichler et al. angelehnt ist [212]. Die Form bietet sich an, da im Rahmen dieser Arbeit ebenfalls eine runde Elektrodenfläche benötigt wird. Der Herstellungsprozess ist bis auf die Abscheidung des leitfähigen Polymers PPy:PSS analog zum bereits beschriebenen Deckelchip. Abbildung 3.7 zeigt die Goldelektroden umgeben von der geöffneten hydrophoben Teflonoberfläche.

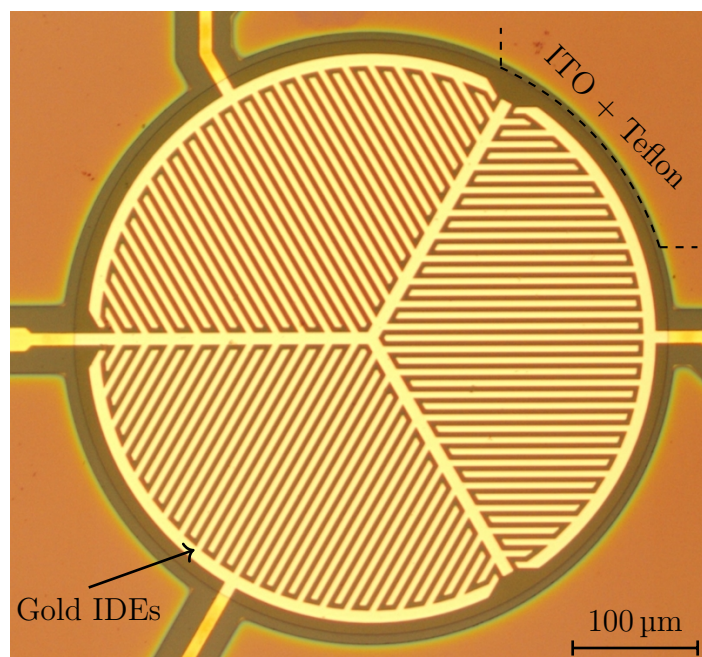


Abbildung 3.7.: IDEs integriert in den Deckelchip

Das Design besteht aus einer sternförmigen Zuleitung, die den Kreis in Drittel teilt. Davon ausgehend sind die 5 μm breiten Finger nach außen geführt. Die jeweiligen Gegenelektroden in den einzelnen Dritteln werden über individuelle Zuleitungen in die Struktur geführt. In der späteren Anwendung werden sie zu einer gemeinsamen Elektrode mit Hilfe eines Adapters kurzgeschlossen, sodass eine EIS-Messung nach dem 2-Punkt-Verfahren durchgeführt werden kann. Der Vorteil dieses Designs im Gegensatz zur Struktur aus Kapitel 3.1.2.1 ist die kleine Strukturbreite und damit eine geringere Eindringtiefe des elektrischen Feldes bei einer EIS-Messung. Dies führt zu einer Verbesserung der Sensitivität in der Nähe der Elektrodenoberfläche [213]. Ein Nachteil ist allerdings die fehlende Pseudo-RE und somit eine erhöhte Drift in transienten EIS-Messungen. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde das IDE-Design zur Überwachung des Medienaustauschs im *virtual microwell* während des *passive dispensings* verwendet (vgl. Kapitel 4.3.5). Dabei handelt es sich um schnell hintereinander erfolgende Einzelmessungen, bei denen sich das Messsignal um mehrere Größenordnungen ändert und somit die Drift vernachlässigbar ist.

3.2. LabView- und relaisbasierte EWOD-Plattform

Neben der Chipentwicklung (vgl. Kapitel 3.1) ist für die Tropfenaktuierung per EWOD eine umfangreiche Ansteuerelektronik notwendig. Im Rahmen dieser Arbeit ist ein erster Aufbau entworfen worden, der mittels LabView gesteuert wird. Die Entwicklung dieser Plattform wird im Folgenden lediglich kurz beschrieben, da der Fokus auf den zweiten Aufbau in Kapitel 3.3 gelegt werden soll, der eine Weiter- und Neuentwicklung darstellt.

Um Tropfen mittels EWOD zu bewegen, wird eine relativ hohe DC- oder AC-Spannung benötigt, wobei die Verwendung einer AC-Spannung bevorzugt wird, um Aufladung der Boden- bzw. Deckelchips zu vermeiden [6]. Dazu wurde ein DC-DC Wandler nach dem Prinzip der *Dickson-Chargepump* entworfen, deren wichtigste Blöcke im Schaltplan in Abbildung 3.8 dargestellt sind [214].

Die Ladungspumpe benötigt ein Taktsignal, das fest über die Beschaltung des Timerbausteins NE555 erzeugt wird. Ein CMOS-Inverter erzeugt das dazu 180° phasenverschobene Signal. Beide Signale schalten die Optokoppler OK_1 und OK_2 abwechselnd durch. Dadurch wird die Kathode der Elektrolytkondensatoren C_{nA} im Wechsel auf die Eingangsspannung U_E bzw. auf GND gezogen. Der Kondensator C_{nA} wird somit zunächst im ersten Takt (Taktphase A) auf U_E über die vorgeschaltete Diode aufgeladen. Im zweiten Takt (Taktphase B) wird das Potential der Kathode auf U_E gesetzt, sodass an der Anode des Kondensators $\approx 2 \cdot U_E$ anliegt (abzüglich der Diodenspannung). Folglich wird der Kondensator C_{nB} ebenfalls auf $\approx 2 \cdot U_E$ aufgeladen. Der wie-

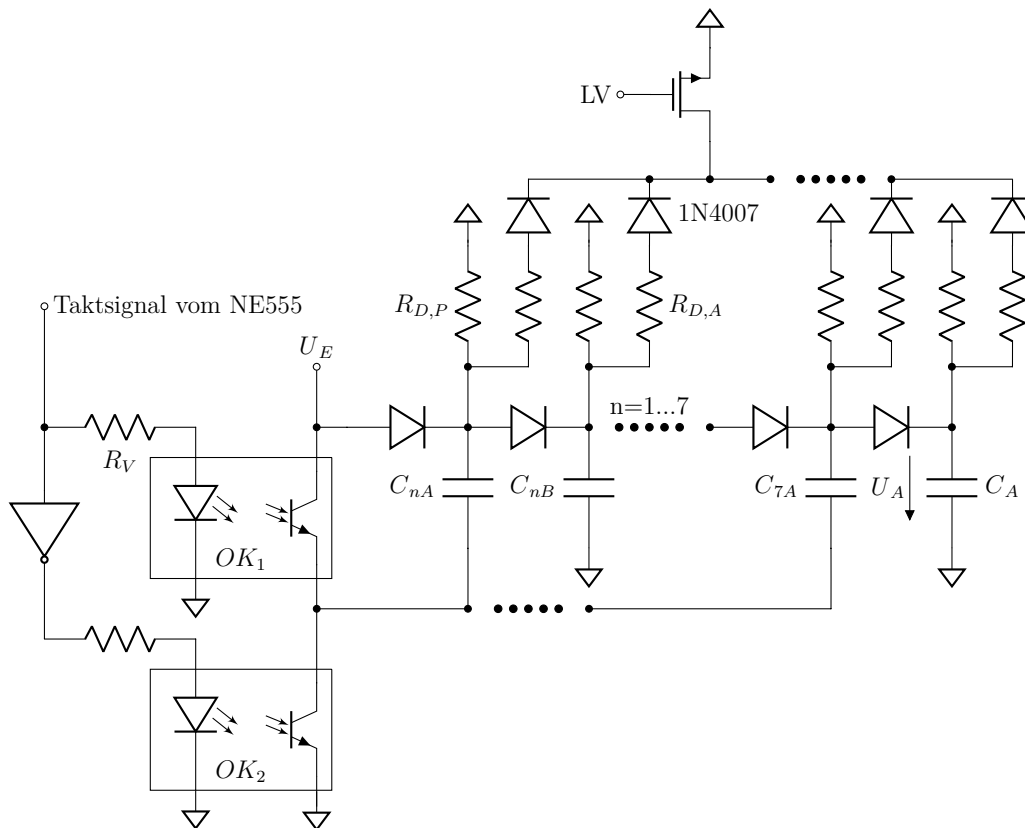


Abbildung 3.8.: Schaltplan der *Dickson-Chargepump* zur Hochspannungserzeugung in der LabView- und relaisbasierten EWOD-Plattform

derum lädt in der anschließenden Taktphase A den entsprechenden Kondensator der nächste Stufe, sodass die Ausgangsspannung der Schaltung $U_A \approx 8 \cdot U_E$ beträgt. Die Ausgangsspannung ist somit nicht geregelt und kann lediglich über eine Veränderung der Eingangsspannung, die über ein externes Labornetzteil eingespeist wird, variiert werden. Um die Spannungsfreiheit nach Ende des Betriebs sicher zu stellen, werden alle Kondensatoren über den Widerstand $R_{D,P}=8,2 \text{ M}\Omega$ entladen. Zusätzlich kann ein schnellerer Entladevorgang über das Steuersignal LV vorgenommen werden, dass von der LabView-Steuerung bereit gestellt wird. Dabei werden alle Kondensatoren über die Widerstände $R_{D,A}=220 \text{ k}\Omega$ entladen.

Zur Erzeugung eines bipolaren Hochspannungsrechtecksignals wird die Ausgangsspannung der *Chargepump* mittels einer H-Brücke aus Optokopplern mit einer vorgegebenen Frequenz umgepolt. Auf die Umsetzung soll an dieser Stelle nicht weiter eingegangen werden, da der entsprechende Schaltungsblock des portablen EWOD-Systems (vgl. Kapitel 3.3) analog aufgebaut ist. Der einzige Unterschied ist dort die Verwendung von Optotriacs anstelle der Optokoppler. Hier zu erwähnen ist jedoch, dass die Frequenz des Hochspannungsrechtecksignals über einen extern angeschlossenen Frequenzgenerator vorgegeben wird und somit ein weiteres externes Gerät benötigt wird. Das erzeugte

bipolare Rechtecksignal wird über Kabel zu weiteren Platinen geführt, die über mechanische Relais die Spannung an die Pfadelektroden im Bodenchip durchschalten. Zur Steuerung werden den Relais vorgeschaltete N-Kanal-MOSFETs verwendet, die jeweils über einen digital *Input/Output* (I/O)-Pin der verwendeten LabView-Karten aktiviert werden können. Das Potential für die Gegenelektrode beim EWOD wird über eine Krokodilklemme direkt mit dem Deckelchip verbunden. Der komplette Aufbau ist in Abbildung 3.9 abgebildet.

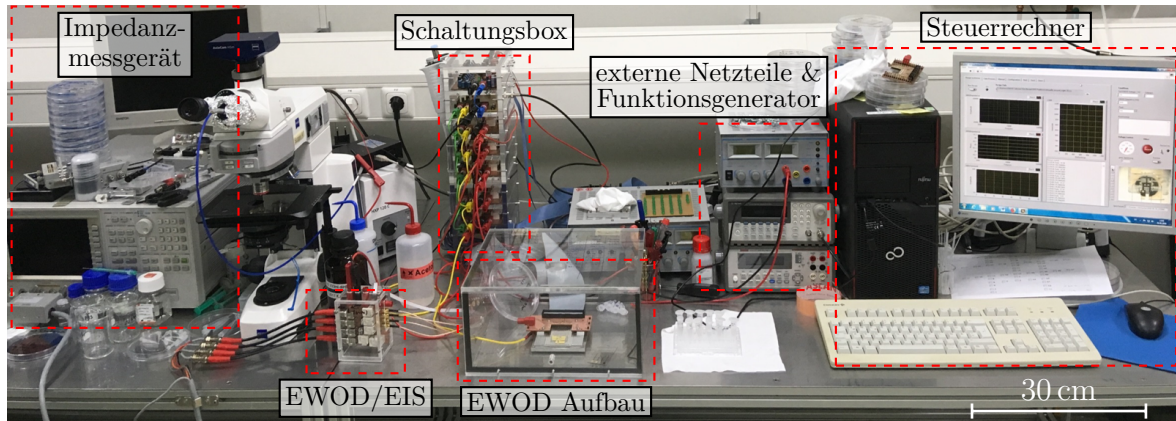


Abbildung 3.9.: Gesamtansicht der LabView- und relaisbasierten EWOD-Plattform

Zur Einbindung eines Impedanzanalysators in den EWOD-Aufbau ist eine weitere Box notwendig, die über Relais zwischen EWOD-Betrieb und der EIS-Messung umschaltet. Hierbei werden die über SMA-Stecker eingehenden Signale lediglich mit den BNC-Steckern zum Anschluss des Messgerätes kurzgeschlossen, sowie das Hochspannungssignal entkoppelt. Ein Wechsel zwischen einer 2-, 3- oder 4-Elektrodenanordnung ist nicht möglich.

Die LabView- und relaisbasierte EWOD-Plattform kann zur Aktuierung von Tropfen benutzt werden, weist allerdings deutliche Schwächen auf. Das ist zum einen die *Dickson-Chargepump*, die zur Erzeugung der Hochspannung benötigt wird, da diese einen festen Verstärkungsfaktor besitzt. Die Ausgangsspannung kann somit nur über manuelles Einstellen der Eingangsspannung am externen Netzteil reguliert werden. Bei Änderungen der Last, z.B. durch eine Veränderung der Frequenz des Rechtecksignals für die Tropfenaktuierung, ändert sich zudem die Ausgangsspannung. Dadurch wird ein manuelles Nachregeln notwendig. Ein weiterer Nachteil ist die Aktivierung der einzelnen Pfadelektroden über mechanische Relais, deren Schaltvorgang über die digitalen I/O-Ports der LabView-Karten initiiert werden. Sowohl die Schaltzeit der Relais (≈ 10 ms), als auch die Zeit, die die LabView-Steuerung braucht, um eine Pfadelektrode zu schalten ($\approx 19,3$ ms) sind so groß, dass sie die Tropfengeschwindigkeit signifikant begrenzen. Hinzu kommt das Prellen der Relais in der Zeit kurz nach dem Anschaltmo-

ment [215]. Des Weiteren ist die Ankopplung von Impedanzmessgeräten nur über eine zusätzliche Box möglich. Die Zuordnung der einzelnen Elektroden zu den Eingängen am Impedanzmessgerät kann nur manuell erfolgen. Der Gesamtaufbau ist zudem sehr platzraubend (vgl. Abbildung 3.9).

3.3. Portable EWOD-Plattform „PortaDrop“

Aus den oben genannten Gründen wurde im Rahmen dieser Arbeit eine weitere, portable EWOD-Plattform, PortaDrop, entworfen, die als zentrale Steuereinheit einen Raspberry Pi besitzt und lediglich ein 5 V USB-Netzteil benötigt. Eine schematische Übersicht der Plattform ist in Abbildung 3.10 dargestellt.

Die PortaDrop-Steuereinheit bildet ein Mainboard, auf dem ein Raspberry Pi integriert ist, dessen *General purpose input output* (GPIO)-Pins und USB-Ports zur Kommunikation mit internen und externen Bauelementen dienen. Über die *Universal asynchronous receiver transmitter* (UART)-Schnittstelle wird ein interner Potentiostat (EmStat pico, Palmsens BV, Houten, Niederlande) zur elektrischen Messung mittels EIS angesteuert. Dieser verfügt neben der EIS über die Möglichkeit, dass andere elektrochemische Analysemethoden, wie die LSV, CV, *Square wave voltammetry* (SWV), DPV, *Normal pulse voltammetry* (NPV), *Chronoamperometry* (CA), *Open Circuit Potentiometry* sowie *Multistep amperometry* (MA) eingesetzt werden können. In der im Rahmen dieser Arbeit implementierten Version von PortaDrop wird lediglich die EIS als elektrochemische Analyseform implementiert. Neben der Verwendung des internen Potentiostats können auch externe Impedanzmessgeräte angesteuert werden. Diese werden über einen USB-nach-*General purpose interface bus* (GPIB)-Adapter mit dem Raspberry Pi verbunden. Weitere Aufgaben werden dezentral über Mikrocontroller verwaltet, die über einen *Inter integrated circuit* (I²C)-Bus angesteuert werden. Diese Mikrocontroller übernehmen das Generieren der Frequenz für das benötigte bipolare Rechtecksignal, die Spannungsregelung sowie weitere Funktionen, die aus Gründen der Laufzeit nicht im Hauptprogramm des Raspberry Pi implementiert sind. Das Mainboard enthält darüber hinaus einen DC-DC Wandler (*Boost-Converter*) und eine H-Brücke zur Erzeugung eines bipolaren Hochspannungssignals. Neben dem Mainboard besitzt die Plattform Platinen zur Beschaltung der Pfadelektroden (Schaltplatine). Optotriacs dienen dabei als *Pull-Down* und *Pull-Up*-Netzwerke. Die in der Plattform erzeugten Signale werden über Adapter mittels Federkontaktstiften mit dem Bodenchip bzw. dem Deckelchip verbunden.

Im Folgenden wird auf die entwickelte Hardware (Kapitel 3.3.1) und die implementierte Software (Kapitel 3.3.2) sowie den Aufbau des Gesamtsystems (Kapitel 3.3.3) im Detail eingegangen.

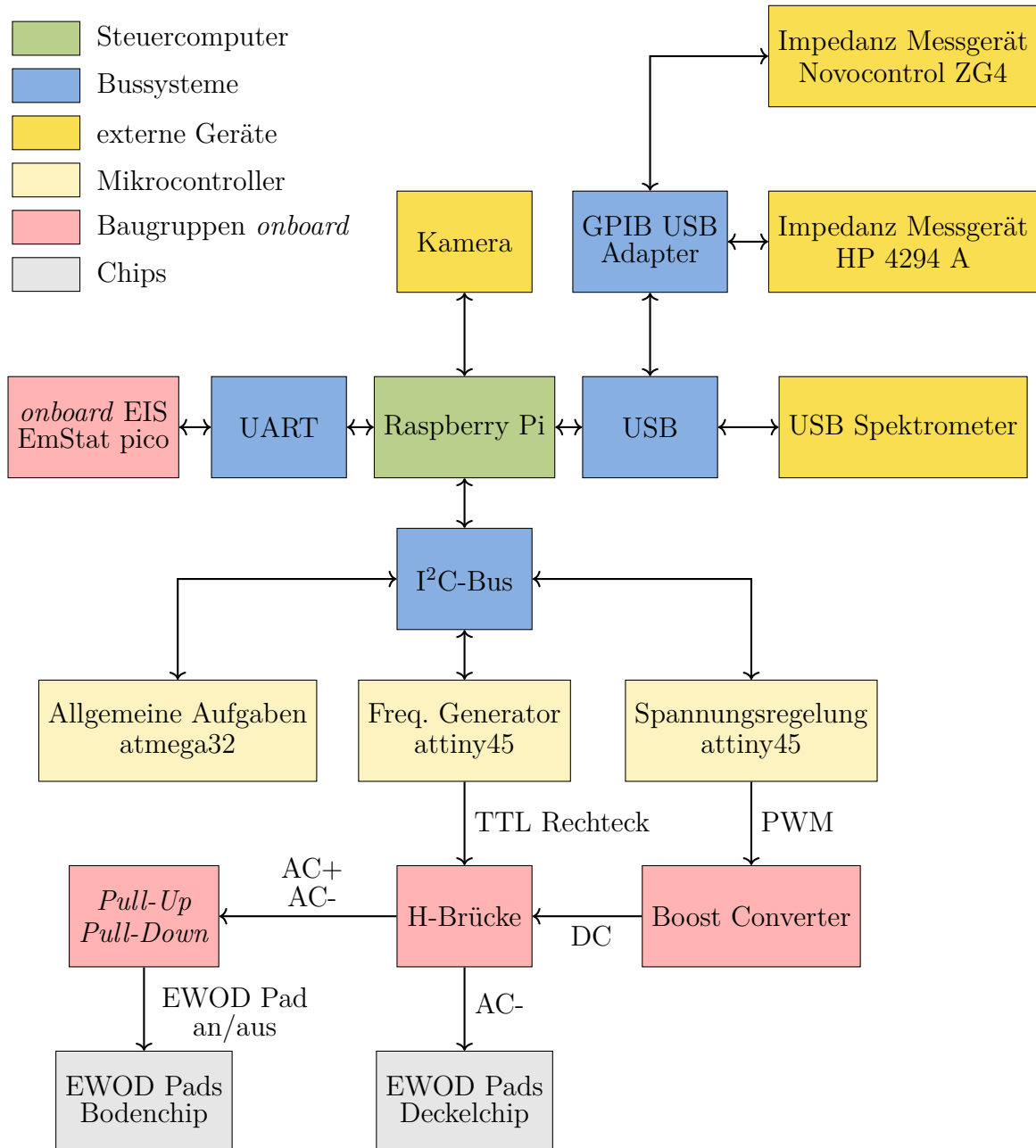


Abbildung 3.10.: Übersicht der portablen EWOD-Plattform PortaDrop

3.3.1. Hardware

Im Gegensatz zur LabView- und relaisbasierten EWOD-Plattform (vgl. Kapitel 3.2), wird die Hochspannung in der portablen EWOD-Plattform PortaDrop über einen *Boost-Converter* generiert. Dieser ist aktiv geregelt und reagiert somit z.B. auf Laständerungen, die durch das Aktivieren und Deaktivieren von Pfadelektroden entstehen. Der Schaltplan des *Boost-Converters* und die geschlossene Regelschleife ist in Abbildung 3.11 zu sehen.

Der in Abbildung 3.11(a) gezeigte *Boost-Converter* besteht aus einer Festkörper-

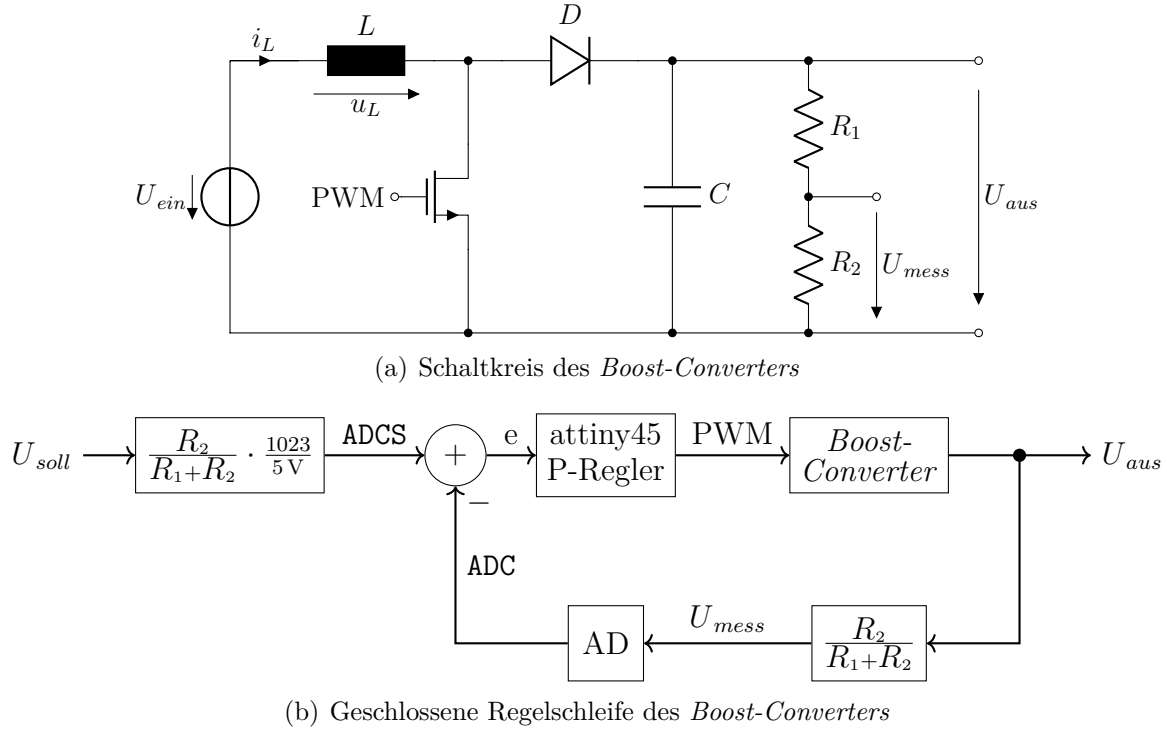


Abbildung 3.11.: DC-DC Wandler und Regelschleife zur Erzeugung der benötigten Hochspannung

induktivität ($L=10,38\text{ mH}$), die einen Gleichstromwiderstand von $R=34,7\ \Omega$ aufweist. Zum Umschalten zwischen Eingangs- und Ausgangsmasche wird der N-Kanal-Leistungs-MOSFET FCP20N60 verwendet. Wird der MOSFET sperrend geschaltet, entlädt sich die vorher in der Spule gespeicherte elektrische Energie über die Siliziumdiode 1N4007 in den Ausgangskondensator ($C=10\ \mu\text{F}$) mit einer Spannungsfestigkeit von 450 V. Das Gate des MOSFETs wird dabei mit einem Signal einer bestimmter Frequenz f geschaltet, wobei durch Pulsweitenmodulation (PWM) das Verhältnis von An- und Auszeit variiert wird. Der Tastgrad D (engl. *duty cycle*) ergibt sich nach [216] zu:

$$D = \frac{t_{ein}}{t_{ein} + t_{aus}} = \frac{t_{ein}}{T} = t_{ein} \cdot f \quad (3.1)$$

Dabei ist T die Periodendauer, t_{ein} die Anzeit sowie t_{aus} die Auszeit des Steuersignals. Im unbelasteten Fall besteht zwischen *duty cycle* und der Eingangs- bzw. Ausgangsspannung des *Boost-Converters* nach [216] der Zusammenhang:

$$U_{aus} = \frac{1}{1 - D} \cdot U_{ein} \quad (3.2)$$

Wird eine Last an den *Boost-Converter* angeschlossen, gilt Gleichung 3.2 nicht und eine geschlossene Regelschleife wird benötigt, um die Ausgangsspannung auf einen vorgegebenen Wert einzustellen. Die Widerstände R_1 und R_2 am Ausgang bilden die Rück-

kopplung der geschlossenen Regelschleife und sorgen durch den Spannungsteiler dafür, dass der Mikrocontroller attiny45 vor Überspannung geschützt ist. Der verhältnismäßig hohe parasitäre Widerstand der Festkörperinduktivität begrenzt auf der Eingangsseite den Strom und somit die Leistung. Dies ist möglich, da am Ausgang hauptsächlich geringe kapazitive Lasten getrieben werden müssen. Ein P-Regler verändert den *duty cycle D* des PWM-Signals, dass weiterhin direkten Einfluss auf die Ausgangsspannung des *Boost-Converters* hat.

Zur Erzeugung eines bipolaren Hochspannungsrechtecksignals kommt eine H-Brückenschaltung zum Einsatz, die im Grundsatz auch in der LabView- und relaisbasiereten EWOD-Plattform implementiert wurde (vgl. Kapitel 3.2). Der einzige Unterschied besteht darin, dass in der portablen EWOD-Plattform PortaDrop Optotriacs anstelle von Optokopplern eingesetzt werden. Optotriacs sind Halbleiterbauelemente, die mit Hilfe einer Photodiode einen Phototriac schalten [217]. Abbildung 3.12 zeigt den verwendeten Aufbau.

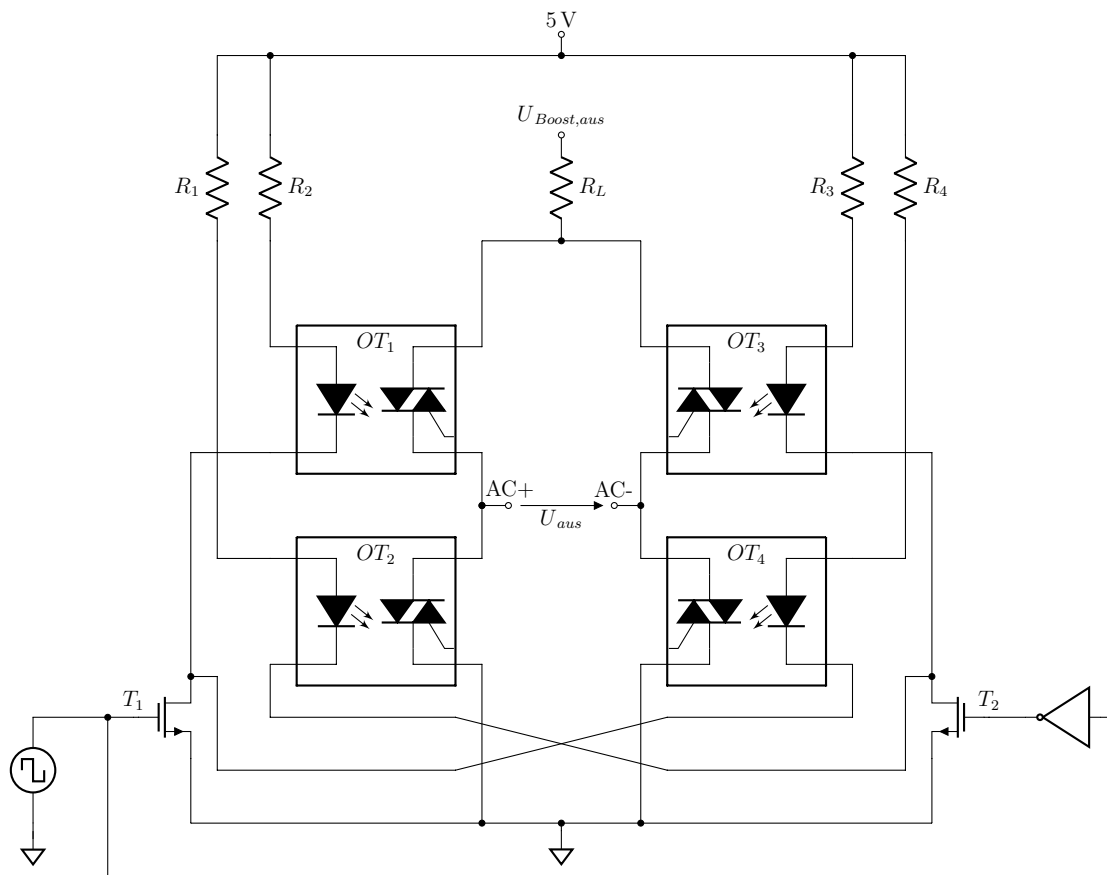


Abbildung 3.12.: Rechteckgenerator in der portablen EWOD-Plattform

Die H-Brücke besteht aus den vier Optotriacs OT_1 bis OT_4 vom Typ MOC3041 (400 V Spannungsfestigkeit). Für die Nutzung mit höheren Spannungen können allerdings Bauelemente mit bis zu 800 V Spannungsfestigkeit (MOC3061 und MOC3081)

in den selben Sockel platziert werden. Die Optotriacs werden über zwei N-Kanal-MOSFETs vom Typ IRLZ34N geschaltet, die von einem attiny45 Mikrocontroller angesteuert werden. Der Mikrocontroller kommuniziert dabei über I²C mit dem Raspberry Pi und erhält den Sollwert für die gewünschte Frequenz mit der das bipolare Hochspannungssignal erzeugt werden soll. Dabei generiert der Mikrocontroller die Steuersignale der Transistoren T_1 und T_2 mit gewünschter Frequenz und sorgt dafür, dass das Steuersignal von T_1 stets invertiert zu dem von T_2 ist. Schaltet der jeweilige Transistor T_1 bzw. T_2 durch, fließt ein Strom von der 5 V Versorgungsspannung durch die entsprechenden Vorwiderstände ($R_1 - R_4$) und die LEDs der Optotriacs. Die dazugehörigen Phototriacs schalten leitend. Dabei leitet entweder T_1 oder T_2 und somit OT_1 und OT_4 bzw. OT_2 und OT_3 .

Als Eingangsspannung auf der Seite der Triacs wird die Ausgangsspannung des *Boost-Converters* $U_{Boost,aus}$ verwendet. Um sicherzustellen, dass die Ausgangsspannung des *Boost-Converters* zu keiner Zeit gut leitend mit GND verbunden ist, werden beim Umschalten kurzzeitig beide Transistoren und somit alle Optotriacs sperrend geschaltet. Der Widerstand $R_L = 44 \Omega$ dient dazu, dass der Umladevorgang die im Datenblatt der Optotriacs spezifizierte Anstiegsrate von $1000 \text{ V} \cdot \mu\text{s}^{-1}$ nicht überschreitet. Die Ausgangsspannung U_{aus} , die zwischen den Klemmen AC+ und AC- abgegriffen wird, ändert somit in jedem Takt ihr Vorzeichen. Leiten OT_1 und OT_4 gilt $U_{aus} = +U_{Boost,aus}$, leiten hingegen OT_2 und OT_3 , ist $U_{aus} = -U_{Boost,aus}$ unter der Voraussetzung, dass kein Strom fließt.

Die Erzeugung der Hochspannung und der Rechteckspannung ist eine Voraussetzung für die Bewegung von Tropfen mittels des EWOD-Prinzips. Um eine gerichtete und programmierbare Bewegung der Tropfen über eine Anordnung von Pfadelektroden zu erzeugen, muss die Möglichkeit bestehen, dass diese einzeln an- und ausgeschaltet werden können. Dazu ist jede Pfadelektrode (auch Pad genannt) mit einem *Pull-Down*- und einem *Pull-Up*-Netzwerk verbunden. Diese Schalteinheiten werden auf einer Schaltungsplatine implementiert, wobei eine Schaltungsplatine 59 Pfadelektroden schalten kann. Der Aufbau einer Schalteinheit für eine Pfadelektrode ist in Abbildung 3.13 gezeigt. Es besteht die Möglichkeit, mehrere Schaltungsplatinen zu verwenden und somit die Anzahl an ansteuerbaren Pfadelektroden zu erhöhen.

Jede Pfadelektrode bildet mit der Gegenelektrode einen Kondensator, der hier als C_{Pad} bezeichnet ist. An jede Schalteinheit ist die Ausgangsspannung der H-Brücke U_{aus} mit den beiden Potentialen AC+ und AC- angeschlossen, wobei die ITO-Gegenelektrode (vgl. Kapitel 3.1.2) immer auf dem Potential AC- liegt. Über den Optotriac OT_1 wird die Pfadelektrode ebenfalls mit AC- verbunden, sodass sich eine Potentialdifferenz von 0 V einstellt und die Pfadelektrode somit deaktiviert ist. Um einen Tropfen mittels EWOD zu bewegen, wird hingegen eine Spannungsdifferenz zwischen Pfadelektrode

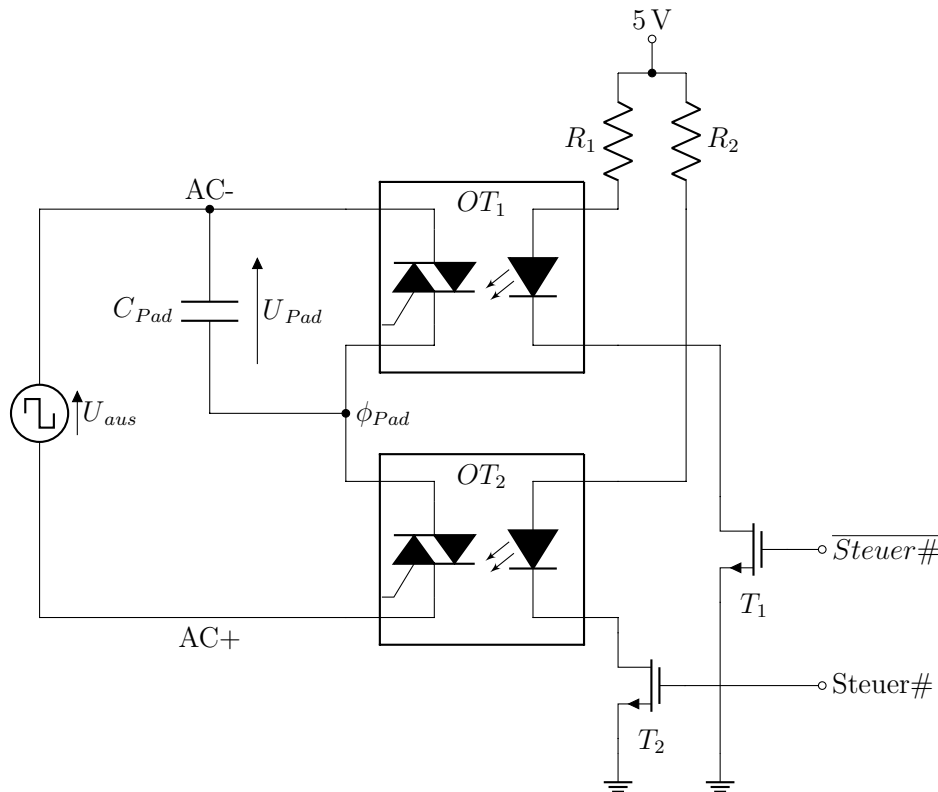


Abbildung 3.13.: Eine Schalteinheit auf der EWOD-Schaltplatine

und Gegenelektrode benötigt. Dazu wird OT_1 sperrend und OT_2 leitend geschaltet und die Spannung U_{Pad} ist gleich der Spannung U_{aus} . Auch bei diesem Schaltvorgang leitet jeweils nur einer der Transistoren T_1 und T_2 und somit auch nur ein Optotriac. Die Kommunikation zwischen dem Mainboard und den Schaltplatinen erfolgt über ein eigens entwickeltes Protokoll. Auf jeder Schaltplatine sind fünf atmega32 Mikrocontroller implementiert, die mit 24 GPIO-Pins jeweils bis zu zwölf Schalteinheiten (vgl. Abbildung 3.13) ansteuern können. Die verbleibenden acht GPIO-Pins werden zur Kommunikation mit dem Raspberry Pi verwendet. Verbunden mit dem Raspberry Pi sind die Schaltplatinen über ein 14-adriges Flachbandkabel, dessen Belegung in Abbildung 3.14 zu sehen ist, wobei die Pins 1 und 2 nicht verbunden sind (*Not connected* (NC)).

Jeder der fünf atmega32-Mikrocontroller ist mit den Adressbits ADR1-ADR4, einem der fünf *Enable*-Signale (EN1-EN5) und einem *Boardselect*-Signal (BS1 bzw. BS2) verbunden. Dabei entspricht das *Enable*-Signal der Nummer des Mikrocontrollers auf der Schaltplatine und das *Boardselect*-Signal der Nummer der Schaltplatine. Es besteht somit eine eindeutige Adressierung jedes verbauten Mikrocontrollers. Alle Mikrocontroller fragen in einer Endlosschleife den Zustand ihres *Enable*- und *Boardselect*-Pins ab, sobald diese gesetzt werden, wird die Adresse auf den Pins ADR1-ADR4 in einen Schaltvorgang der jeweiligen Schalteinheit mit der angegebenen Adresse umgesetzt.

Neben der Funktionalität, eine Hochspannung und ein Rechtecksignal zu erzeugen

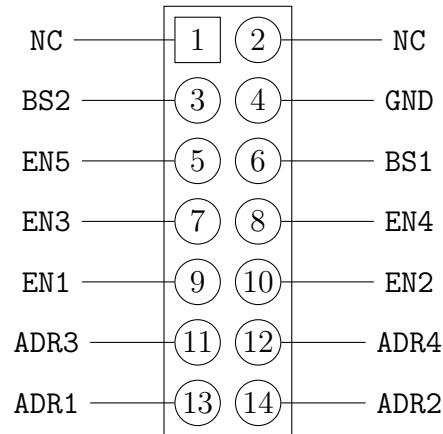


Abbildung 3.14.: Belegung des Steckers zur Padansteuerung

sowie den Schaltplatinen, benötigt PortaDrop weitere Schaltungsblöcke. Diese sind zusammen mit dem *Boost-Converter* (vgl. Abbildung 3.11(a)) und der H-Brücke (vgl. Abbildung 3.12) auf dem Mainboard implementiert. So sind Stecker vorgesehen, an die eine externe Hochspannungsquelle angeschlossen werden kann sowie BNC-Stecker (zu einem externen Impedanzmessgerät) und SMA-Stecker (zu den Elektroden im Deckelchip für die EIS, vgl. Kapitel 3.1.2), die zur Nutzung von PortaDrop mit der integrierten Möglichkeit zur EIS benötigt werden. Um zwischen der Tropfenaktuierung und dem Ausführen von elektrochemischen Messungen zu wechseln, sind mechanische Relais auf dem Mainboard implementiert. Diese benötigen eine 12 V Betriebsspannung, die von kommerziell erhältlichen DC-DC Wandlern mit 5 V als Eingangsspannung bereit gestellt werden. Diese Relais haben neben dem Wechsel der beiden Betriebsmodi (EWOD und EIS) drei weitere Funktionen: (1) das korrekte Verschalten von *Boost-Converter* bzw. externen Spannungsquellen mit der H-Brücke, (2) das Bereitstellen der dort generierten Potentiale AC+ und AC- für die Schaltplatinen und (3) das Umschalten zwischen externen und internen Impedanzmessgeräten in einer 2-, 3- oder 4-Elektrodenkonfiguration. Eine Übersicht über alle verwendeten Relais ist in Abbildung 3.15 zu sehen.

Eine wichtige Funktion kommt dabei dem Relais zu, das den *Boost-Converter* mit einem Entladenetzwerk verbinden kann. Diese Möglichkeit wird genutzt, um zum einen den *Boost-Converter* schnell spannungsfrei zu schalten, zum anderen hat aber auch der Mikrocontroller des Spannungsreglers Zugriff auf das Relais. Das hat den Vorteil, dass im Falle eines neu gesetzten Spannungssollwertes, der niedriger als der aktuelle Spannungswert ist, die Ausgangsspannung des *Boost-Converters* schnell auf den gewünschten Wert reduziert werden kann.

Die Steuerung der Relais und Funktionen, wie das Schalten von Status LEDs über ein Schieberegister oder das Auslesen der aktuellen Temperatur und relativen Luft-

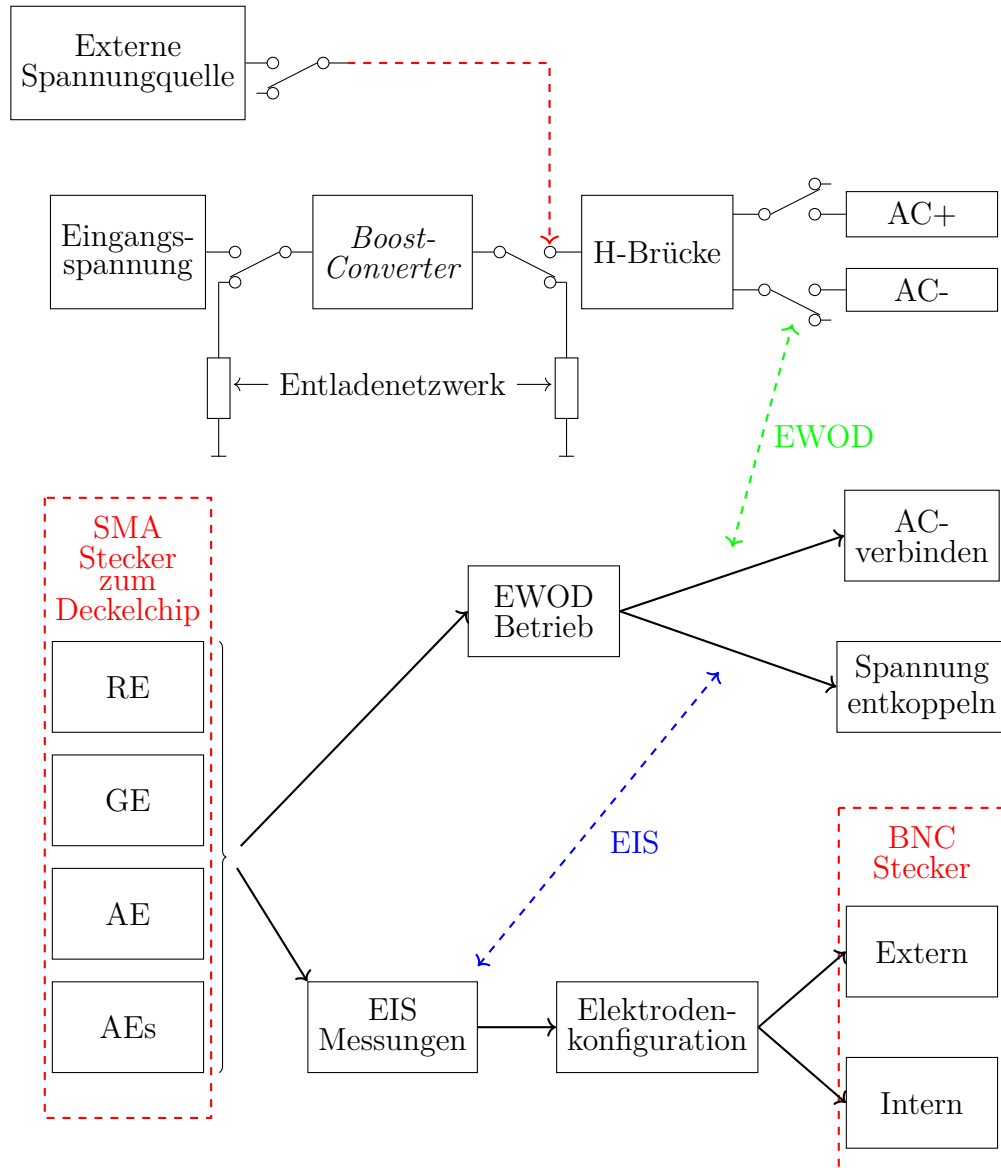


Abbildung 3.15.: Übersicht über alle verwendeten Relais und deren Verschaltung

feuchtigkeit über den kommerziell erhältlichen Sensor DHT11, wird von einem atmega32 Mikrocontroller koordiniert. Dieser und die beiden attiny45 Mikrocontroller zur Frequenz- und Spannungsregelung kommunizieren mit dem Raspberry Pi über I²C. Da alle verwendeten Mikrocontroller mit einer Betriebsspannung von 5 V betrieben werden, der Raspberry Pi aber mit 3,3 V als logisches *HIGH* arbeitet, wird ein *Levelshifter* auf dem Mainboard verbaut der bidirektional zwischen 5 V und 3,3 V vermittelt. Der verwendete Schaltungsblock ist in Abbildung 3.16 dargestellt.

Dabei agiert der Raspberry Pi auf dem Mainboard als *Master*. Alle Mikrocontroller sind als *Slaves* auf dem I²C-Bus angeschlossen. Bei der Dimensionierung des Pegelwandlers ist die Wahl des Transistors von besonderer Bedeutung, da die Schaltung

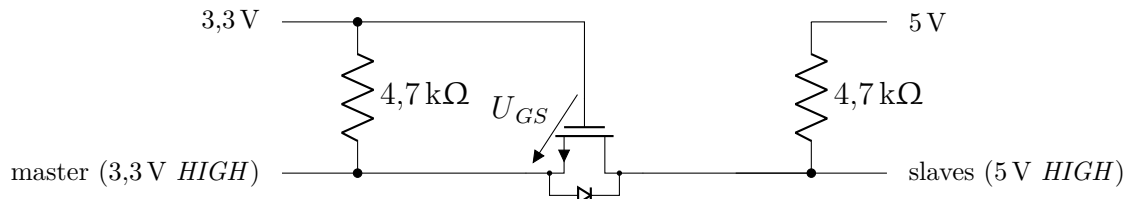


Abbildung 3.16.: I²C-Pegelwandler

eine geringe Laufzeit aufweisen muss, um die Taktrate des I²C-Busses von 100 kHz mit entsprechender Qualität der Signalfanken abzubilden. Da die Laufzeit der Schaltung aus Abbildung 3.16 maßgeblich von der Gatekapazität des verwendeten MOSFETs abhängt, ist bei der Auswahl darauf zu achten, dass diese möglichst klein ist. Der verwendete N-Kanal-Transistor BS170 weist mit $C_{iss} = 60 \text{ pF}$ eine entsprechende Kleinsignaleingangskapazität auf.

3.3.2. Software

PortaDrop verwendet als zentrale Steuereinheit einen Raspberry Pi. Als Betriebssystem wird das auf der Linux Distribution Debian basierende Raspbian verwendet. Zur Steuerung aller Funktionen ist auf dem Raspberry Pi eine in C++ geschriebene Software implementiert, die über ein *Graphical user interface* (GUI) als Oberfläche verfügt. Das Hauptfenster der GUI ist in Abbildung 3.17 zu sehen.

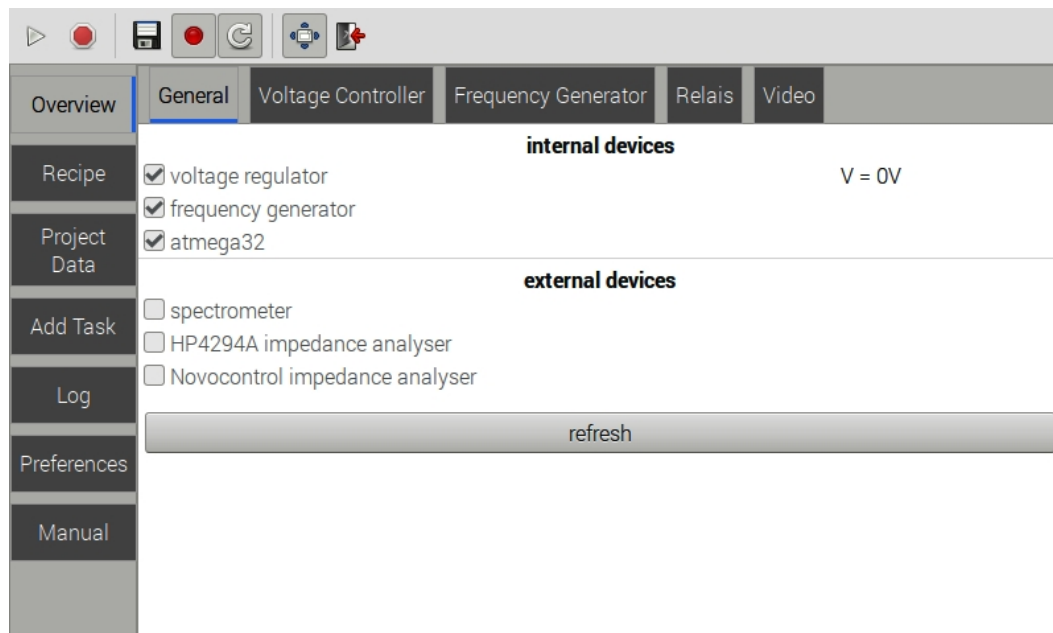


Abbildung 3.17.: Hauptfenster der GUI

Die Bedienelemente sind dabei für die Nutzung auf dem angesteuerten 7" *Touchscreen* optimiert. Die Software unterstützt das Erstellen und das Ausführen von einzel-

nen Rezepten. Diese können aus Schritten zum Transport eines Tropfens mittels EWOD bestehen oder einzelne bzw. eine Reihe von Messungen beinhalten. Das System speichert zu jedem Experiment eine Log-Datei sowie ein Video (falls aufgenommen) und die Ergebnisse sämtlicher Messungen.

PortaDrop besitzt mit dem EmStat pico ein internes Messgerät, mit dem elektrochemische Messungen durchgeführt werden können (vgl. Kapitel 3.3.1). Die Kommunikation mit dem Raspberry Pi erfolgt über die UART unter Zuhilfenahme 'Serial Library' des *WiringPi* Projektes [218]. Für die Aufnahme von optischen Spektren mittels des USB-Spektrometers OceanOptics HR 2000 (Ocean Insight, FL, USA) wird auf die *SeaBreeze* Bibliothek zurückgegriffen [219]. Dadurch eignet sich PortaDrop zum Beispiel zur Nutzung mit Sensoren für die lokale Oberflächenplasmonenresonanz (LSPR) [51–53, 107].

Die Ablaufsteuerung, die in PortaDrop implementiert ist, basiert auf *Tasks*. Folgende *Tasks* sind nutzbar:

- *Pad Task*: Aktiviert für eine frei wählbare Zeit bestimmte Pfadelektroden.
- *Frequency Task*: Setzt bzw. verändert die Frequenz des bipolaren Hochspannungssignals.
- *Voltage Task*: Setzt den Spannungssollwert im Mikrocontroller zur Spannungsregelung.
- *Spectrometer Task*: Nimmt ein optisches Spektrum frei wählbarer Bandbreite mit vorzugebender Integrationszeit auf.
- *Impedance Task*: Nimmt ein Impedanzspektrum auf. Dabei kann zwischen dem internen Potentiostaten EmStat Pico oder den externen über GPIB angeschlossenen Impedanzmessgeräten ausgewählt werden sowie sämtliche verfügbare Messparameter eingestellt werden.
- *Delay Task*: Verzögert die Ausführung des nächsten Schrittes um eine einstellbare Zeit.

Einzelne *Tasks* können zu einem Rezept zusammengefügt werden. Somit kann eine vorgegebene Reihenfolge an Messungen und Tropfenaktuierungsschritten hintereinander vollautomatisiert durchgeführt werden. Die Implementierung ist rekursiv, sodass eine Abfolge mehrerer Rezepte wiederum zu einem einzelnen Rezept kombiniert werden kann.

3.3.3. Aufbau

Zusätzlich zum Hardware- und Softwarekonzept (vgl. Kapitel 3.3.1 und Kapitel 3.3.2) wurde im Rahmen dieser Arbeit ein Konzept zur Aufbau- und Verbindungstechnik (AVT) entworfen. Alle beschriebenen Komponenten werden dafür in ein Gehäuse aus PMMA eingepasst. Abbildung 3.18 zeigt den gesamten Aufbau von PortaDrop.

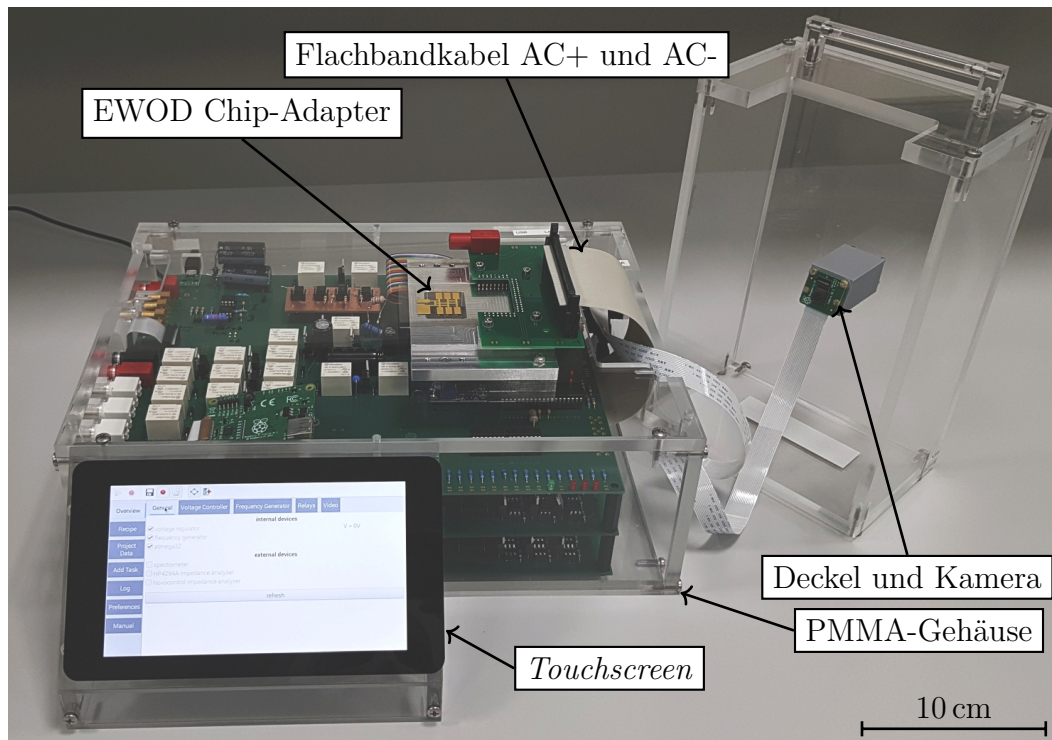


Abbildung 3.18.: Kompletter Aufbau der portablen EWOD-Plattform PortaDrop

Die Platinen sind gestapelt und durch Abstandshalter mit dem Boden der Box verschraubt. Für die benötigten Ports (4x USB, 1x *Local area network* (LAN), 1x *High definition multimedia interface* (HDMI)) am Raspberry Pi und die auf dem Mainboard vorgesehenen Stecker (vgl. Kapitel 3.3.1) sind entsprechende Ausfräsungen und Bohr-löcher angeordnet. Das 7" *Touchscreen* ist an der Vorderseite des Systems angebracht und geneigt. Zur Kontaktierung des Boden- und des Deckelchips für das EWOD ist lediglich das 60-adrige Flachbandkabel notwendig, bei dem 59 Adern mit dem schaltbaren AC+ verbunden sind, eine Ader des Kabels ist dauerhaft auf AC- geschaltet. Eine Erweiterung um Vielfache von 59 kann, wie bereits beschrieben, durch die Verwendung mehrerer Schaltplatinen erreicht werden (vgl. Kapitel 3.3.1). In der aktuellen Version können zwei Schaltplatinen in das Gehäuse eingebracht werden. Das Gesamtgewicht von PortaDrop liegt bei 5,7kg und die Außenmaße ohne den Vorbau für das *Touchscreen* bei 34,8 cm x 25,4 cm x 11,4 cm (BxTxH). Der *Touchscreen* Vorbau ragt auf einer Breite von 19,5 cm um 8,7 cm nach vorne.

Auf PortaDrop ist Platz für anwendungsspezifische Aufbauten. In Abbildung 3.18 ist

eine Aufnahme für den Bodenchip (vgl. Kapitel 3.1.1) zu sehen. Dieser Aufbau kann durch andere Designs ersetzt werden. Damit wird ein hohes Maß an Flexibilität gewonnen und die Anzahl an möglichen Anwendungen für PortaDrop erhöht. Außerdem ist ein Deckel vorgesehen, der zum Beispiel eine Kamera zur Aufzeichnung der Tropfenbewegung enthalten kann. Die hier gezeigte Kamera ist die offizielle Raspberry Pi Kamera, die über das *Camera serial interface* (CSI) mit dem Raspberry Pi direkt kommuniziert. Für Anwendungen, bei denen das implementierte Spektrometer genutzt werden soll, kann der Deckel z.B. eine Aufnahme für Wellenleiter enthalten. Zum komfortablen Justieren des Deckelchips auf den Bodenchip wurde ein 3D-gedruckter Adapter entworfen. Der verwendete Adapter ist in Abbildung 3.19 dargestellt.

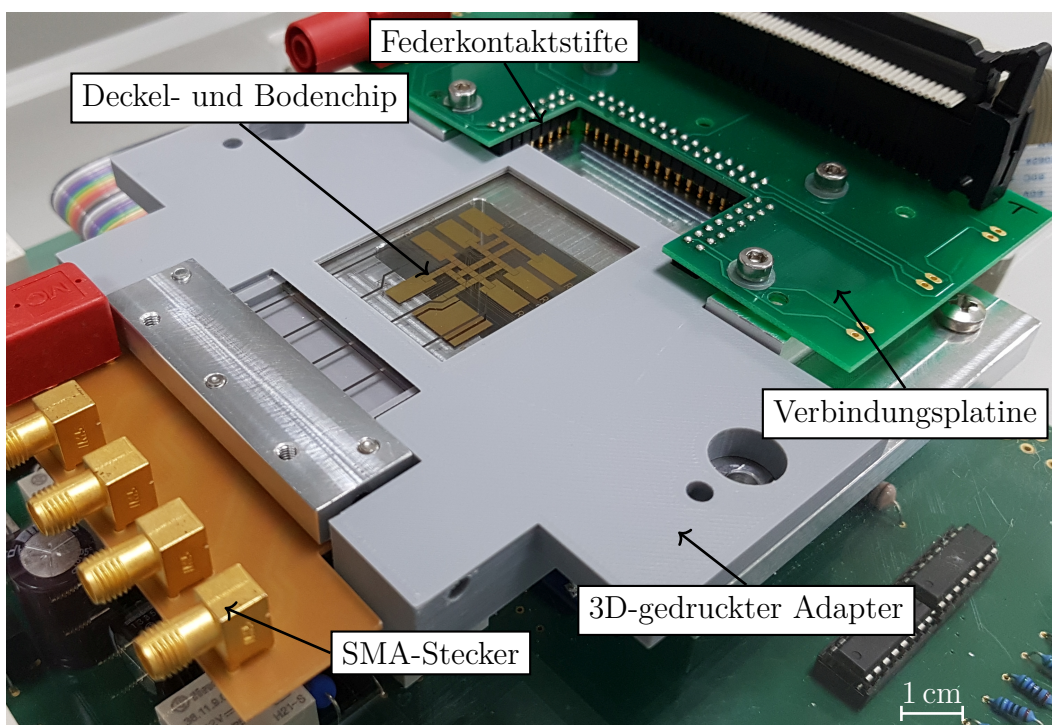


Abbildung 3.19.: 3D-gedruckter Adapter für den Deckelchip zur Justage auf den Bodenchip in der portablen EWOD-Plattform

Der Adapter ermöglicht eine deutlich vereinfachte Handhabung der Chips gegenüber einer manuellen Ausrichtung. Durch die Verwendung dieses Adapters wird ein Abstand zwischen den Chips von etwa $360\text{ }\mu\text{m}$ eingestellt. Dieser Abstand könnte durch 3D-Druckverfahren mit besserer Strukturauflösung noch reduziert werden. Eine Montage der beiden Chips mit Abstandshaltern aus doppelseitigem Klebeband oder Parafilm zur Erzeugung eines Abstandes von etwa $130\text{ }\mu\text{m}$ wird ebenfalls oft verwendet [35, 37, 55, 120, 121, 124, 220–230]. Zur elektrischen Kontaktierung beider Chips verbinden Federkontaktstifte auf der Verbindungsplatine den Bodenchip direkt über das 60-adrige Flachbandkabel mit den Schaltplatinen. Die Kontaktierung des Deckelchips mit integriertem EIS-Sensor wird ebenfalls über Federkontaktstifte erreicht. Das Ge-

genpotential AC- wird über einen Labornetzteilstecker mit PortaDrop verbunden. Die Verbindung der Elektroden des EIS-Sensors hingegen wird über SMA-Stecker und Koaxialkabel vorgenommen, um eine präzise Impedanzmessung mit hoher Bandbreite und möglichst wenig Einflüssen parasitärer Effekte sicherzustellen.

4. Resultate und Diskussion

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Herstellungsprozesse für die beim EWOD benötigten Boden- und Deckelchips entwickelt. Die Prozessfolgen enthalten Standardprozesse wie Photolithographie, Metallisierung und Ätz- bzw. *Lift-Off*-Prozesse. Alle Prozesse, die das Aufbringen, Entfernen oder das Modifizieren der Benetzbarkeit von Teflon enthalten, wurden im Rahmen dieser Arbeit neu entwickelt. Für eine EWOD-Plattform mit integrierter EIS-Messung sind zwei Prozessschritte sehr entscheidend: der Sputterprozess zur Abscheidung der ITO-Gegenelektrode und die Beschichtung der Goldelektroden mit PPy:PSS für die EIS mittels Elektropolymerisation. Die Resultate beider Prozesse werden in Kapitel 4.1 und Kapitel 4.2 beschrieben und diskutiert. Abschließend werden in Kapitel 4.3 die beiden entwickelten EWOD-Plattformen umfassend charakterisiert.

4.1. ITO-Sputterprozess

Die Herstellung der transparenten Gegenelektrode aus ITO wird über einen DC-Magnetron Sputterprozess mit anschließender Temperaturbehandlung (*Annealing*) der gesputterten Schicht erreicht (vgl. Kapitel 3.1.2). Bei der Entwicklung des Sputterprozesses wurden der Basisdruck, die Prozesstemperatur, die Drehrate des Substrattellers unter dem Target sowie die Flussrate des Sputtergases Argon konstant gehalten. Die Leistung P und der Prozessdruck p beim Sputterprozess sowie die Temperatur T und die Atmosphäre beim *Annealing* wurden variiert. Die wichtigsten Kenngrößen der abgeschiedenen ITO-Schicht sind dabei die elektrische Leitfähigkeit σ und die optische Transparenz T_{opt} der Schicht, die abhängig von der Wellenlänge λ ist. Zudem ist die Bestimmung der Sputterrate von Bedeutung, um die Zieldicke der Schicht exakt einzustellen. Hierbei wurde zusätzlich der Einfluss des Target-Substrat-Abstandes untersucht. Im Folgenden werden diese Eigenschaften charakterisiert und diskutiert.

4.1.1. Depositionsrate und Schichtdicke

Die Sputterrate hängt maßgeblich von der Leistung und dem Kammerdruck während des Sputterprozesses ab. Zur Bestimmung der Depositionsrate wurden ITO-Schichten bei Leistungen von $P_1=1000$ W und $P_2=1500$ W sowie Prozessdrücken von $p_1=2\cdot 10^{-2}$ mbar und $p_2=5,6\cdot 10^{-3}$ mbar abgeschieden. Bei den Abscheidungen mit der Leistung $P_1=1000$ W wurde zusätzlich der Target-Substrat-Abstand zwischen 50 mm und 90 mm variiert. Abbildung 4.1 zeigt die mittlere Sputterrate und deren Standard-

abweichung über der jeweiligen Probe. Dabei wurden pro Probe jeweils 13 gleichmäßig verteilte Messpunkte aufgenommen. Zur Bestimmung der Sputterraterate wurde die gemessene Schichtdicke durch die Dauer des Sputterprozesses dividiert.

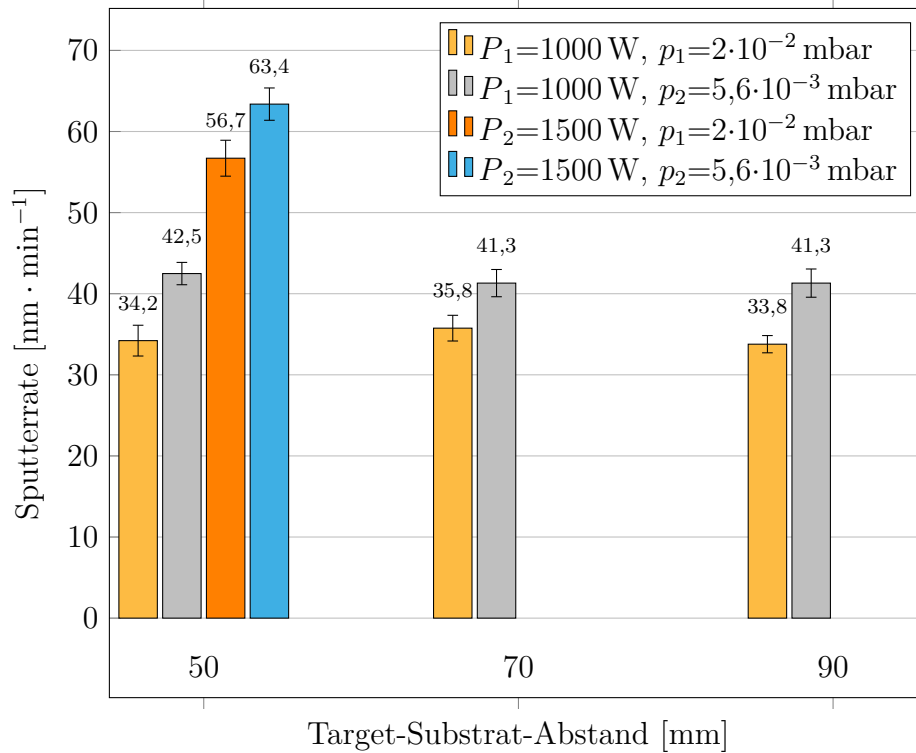


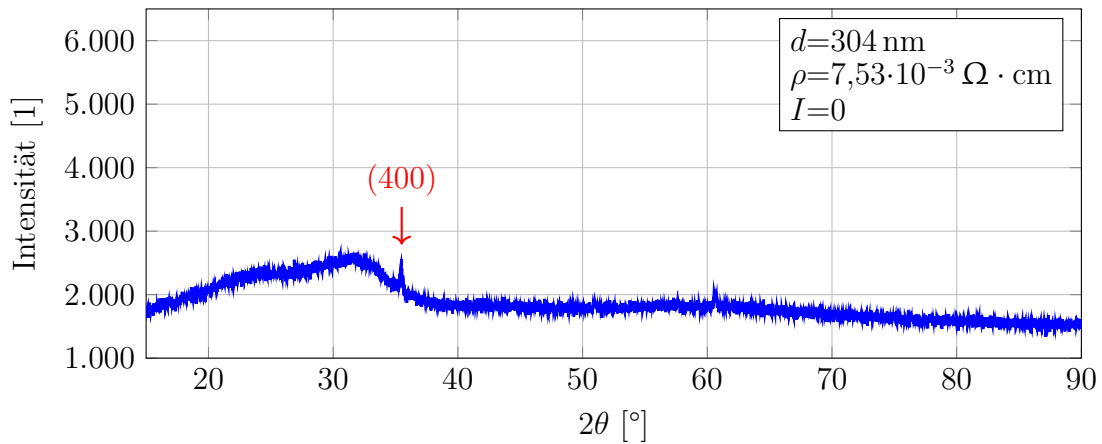
Abbildung 4.1.: Sputterraterate in Abhängigkeit der Leistung, des Drucks und des Target-Substrat-Abstandes

Bei konstanter Leistung $P_1=1000 \text{ W}$ ist bei beiden Drücken $p_1=2 \cdot 10^{-2} \text{ mbar}$ und $p_2=5,6 \cdot 10^{-3} \text{ mbar}$ zu erkennen, dass der Target-Substrat-Abstand nur eine vernachlässigbare Rolle im Bezug auf die Depositionsraterate spielt (gelbe und graue Säulen). So liegen die Werte für die Sputterraterate z.B. für die Kombination der Parameter $P_1=1000 \text{ W}$ und $p_2=5,6 \cdot 10^{-3} \text{ mbar}$ zwischen $42,4 \text{ nm} \cdot \text{min}^{-1}$ (50 mm) und $41,3 \text{ nm} \cdot \text{min}^{-1}$ (70 mm und 90 mm) und somit im Rahmen der Standardabweichung praktisch auf dem selben Wert. Deshalb wird im Folgenden lediglich der Target-Substrat-Abstand von 50 mm verwendet. Bei konstanter Leistung ist jeweils ein Anstieg der Sputterraterate mit fallendem Prozessdruck zu erkennen. Dieser Anstieg ist durch die steigende mittlere freie Weglänge der Argonionen und somit der höheren kinetischen Energie beim Auftreffen auf das Target durch weniger Stoßprozesse zu erklären [204, 231]. Bei erhöhter Leistung $P_2=1500 \text{ W}$ ist ein deutlicher Anstieg der Sputterraterate für beide Drücke zu erkennen. Auch bei $P_2=1500 \text{ W}$ gilt weiterhin der Zusammenhang, dass ein niedrigerer Prozessdruck zu einer höheren Sputterraterate führt. Dem Ansteigen der Sputterraterate bei erhöhter Leistung liegt zugrunde, dass bei zunehmender Leistung entweder die Beschleunigungsspannung oder die Ionenstromdichte im Plasma (oder beides) steigt.

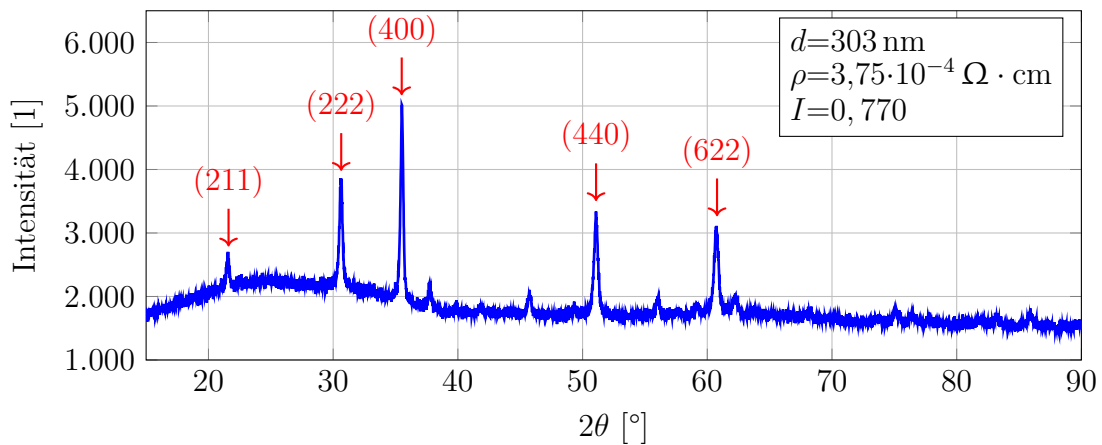
Insgesamt ist die Abweichung der Schichtdicke und somit der Sputterrate über der Probe sehr gering. Der nachfolgende *Annealing*-Prozess hat keine Auswirkungen auf die Schichtdicke. Im Folgenden werden die Eigenschaften der Schicht für eine Leistung $P_2=1500\text{ W}$ und einen Prozessdruck $p_1=2\cdot 10^{-2}\text{ mbar}$ vorgestellt und diskutiert.

4.1.2. Kristallstruktur und elektrischer Widerstand

Zur Verwendung der ITO-Schicht als Gegenelektrode für das EWOD ist eine hohe elektrische Leitfähigkeit von großer Bedeutung, die maßgeblich mit der Kristallstruktur der Schicht zusammenhängt. Zur Bestimmung der Kristallstruktur wurden Diffraktogramme mittels Röntgendiffraktometrie (engl.: *X-ray diffraction*) (XRD) aufgenommen, die in Abbildung 4.2 zu sehen sind. Des Weiteren sind die Schichtdicke d , der spezifische elektrische Widerstand ρ und der Kristallqualitätsparameter I nach Gulen et al., der das Verhältnis von (222)- und (400)-Peak (I_{222}/I_{400}) angibt, in die jeweiligen Diffraktogramme eingetragen [203].



(a) ITO-Schicht nach der Sputterdeposition



(b) ITO-Schicht nach *Annealing* bei 400 °C in Stickstoffatmosphäre

Abbildung 4.2.: Diffraktogramme der ITO-Schichten

Nach dem Sputterprozess bei $P_2=1500\text{ W}$ und $p_1=2\cdot 10^{-2}\text{ mbar}$ beträgt der spezifische elektrische Widerstand $\rho=7,53\cdot 10^{-3}\text{ }\Omega\cdot\text{cm}$. Ein Diffraktogramm der Schicht ist Abbildung 4.2(a) zu entnehmen. Das Diffraktogramm weist lediglich einen kleinen Peak der (400)-Kristallorientierung auf. Nach dem Sputterprozess ist die entstandene Schicht folglich amorph. Durch das *Annealing* bei $400\text{ }^\circ\text{C}$ für 4 Stunden in Stickstoffatmosphäre ist eine deutliche Veränderung im Material zu erkennen (vgl. Abbildung 4.2(b)). Die ITO-Schicht kristallisiert. Der spezifische elektrische Widerstand ρ verringert sich um 95,4 % auf $3,75\cdot 10^{-4}\text{ }\Omega\cdot\text{cm}$. Deutlich zu erkennen ist eine Vorzugsrichtung in (400)-Orientierung. Diese Ausprägung korreliert mit einer zunehmenden Zahl an Sauerstoffleerstellen und hat eine Erhöhung der elektrischen Leitfähigkeit durch eine erhöhte Ladungsträgerkonzentration zur Folge [204, 232, 233]. Ein *Annealing*-Schritt des ITOs ist somit zwingend notwendig, um eine leitfähige Gegenelektrode im Deckelchip herzustellen.

Der Vollständigkeit halber zu erwähnen ist, dass die Temperatur und die verwendete Atmosphäre beim *Annealing* ebenfalls variiert wurde. Tabelle 4.1 zeigt die gemessenen spezifischen elektrischen Widerstände ρ für alle Kombinationen aus verwendeten Sputterparametern und Bedingungen beim *Annealing*. Die Zahl in der Spalte *Annealing* steht dabei für die Temperatur T in $^\circ\text{C}$ und der Buchstabe für die verwendete Atmosphäre (N = Stickstoff, A = Umgebungsluft).

Der spezifische elektrische Widerstand ρ ist für alle Parameterkombinationen größer als der oben diskutierte Wert von $3,75\cdot 10^{-4}\text{ }\Omega\cdot\text{cm}$. Die optimale Kombination von Parametern für den Sputterprozess und das *Annealing*, um eine möglichst gut leitende ITO-Elektrode herzustellen, sind somit $P_2=1500\text{ W}$ und $p_1=2\cdot 10^{-2}\text{ mbar}$ mit einem anschließenden *Annealing* bei $400\text{ }^\circ\text{C}$ in Stickstoffatmosphäre (400N).

4.1.3. Transparenz

Eine weitere wichtige Eigenschaft der Gegenelektrode ist die optische Transparenz $T_{opt}(\lambda)$, um ein optisches Feedback der Tropfenpositionen zu erhalten und den Zugang zu optischen Messmethoden, wie z.B. fluoreszenzbasierter Analytik, zu erlauben. Die Messungen der Transparenz der ITO-Schichten erfolgt auf Glasobjektträgern, sodass als Referenz ebenfalls die Transparenz von Glas gemessen wird. Da bei den beschichteten Proben der Strahlengang sowohl durch den Glasträger als auch durch die ITO-Schicht führt, werden die Spektren auf die Transparenz von Glas referenziert, um den Einfluss des Trägermaterials zu entfernen. Abbildung 4.3 zeigt den Verlauf der Transparenz über der Wellenlänge λ für eine ITO-Schicht nach dem Sputtern (kein *Annealing*) sowie für ausgeheizte Proben. Dabei wurden die Proben für 4 h ausgeheizt, wobei eine Aufheizzeit von Raumtemperatur auf die verschiedenen Zieltemperaturen von 90 min vorgegeben

Leistung	Prozessdruck	<i>Annealing</i>	ρ
$P_1=1000\text{ W}$	$p_1=2\cdot 10^{-2}\text{ mbar}$	-	$8,73\cdot 10^{-3}\ \Omega \cdot \text{cm}$
		250N	$6,46\cdot 10^{-4}\ \Omega \cdot \text{cm}$
		325N	$5,31\cdot 10^{-4}\ \Omega \cdot \text{cm}$
		400N	$4,28\cdot 10^{-4}\ \Omega \cdot \text{cm}$
		400A	$7,85\cdot 10^{-4}\ \Omega \cdot \text{cm}$
	$p_2=5,6\cdot 10^{-3}\text{ mbar}$	-	$4,16\cdot 10^{-3}\ \Omega \cdot \text{cm}$
		250N	$4,68\cdot 10^{-4}\ \Omega \cdot \text{cm}$
		325N	$4,41\cdot 10^{-4}\ \Omega \cdot \text{cm}$
		400N	$4,02\cdot 10^{-4}\ \Omega \cdot \text{cm}$
		400A	$4,98\cdot 10^{-4}\ \Omega \cdot \text{cm}$
$P_2=1500\text{ W}$	$p_1=2\cdot 10^{-2}\text{ mbar}$	-	$7,53\cdot 10^{-3}\ \Omega \cdot \text{cm}$
		250N	$4,64\cdot 10^{-4}\ \Omega \cdot \text{cm}$
		325N	$4,28\cdot 10^{-4}\ \Omega \cdot \text{cm}$
		400N	$3,75\cdot 10^{-4}\ \Omega \cdot \text{cm}$
		400A	$4,24\cdot 10^{-4}\ \Omega \cdot \text{cm}$
	$p_2=5,6\cdot 10^{-3}\text{ mbar}$	-	$2,19\cdot 10^{-3}\ \Omega \cdot \text{cm}$
		250N	$4,70\cdot 10^{-4}\ \Omega \cdot \text{cm}$
		325N	$3,99\cdot 10^{-4}\ \Omega \cdot \text{cm}$
		400N	$4,06\cdot 10^{-4}\ \Omega \cdot \text{cm}$
		400A	$5,59\cdot 10^{-4}\ \Omega \cdot \text{cm}$

Tabelle 4.1.: Spezifischer elektrischer Widerstand ρ der ITO-Dünnschichten in Abhängigkeit der Prozessparameter beim Sputterprozess und *Annealing*

ist. Das Abkühlen auf Raumtemperatur erfolgt durch Ausschalten des Umluftofens.

Die Transparenz der gesputterten Probe ist gering. Sie weist einen bräunlichen Farbton auf (vgl. Abbildung 3.4(a)). Bei zunehmender Temperatur zeigt sich eine zunehmende Transparenz durch eine nach dem *Annealing* erhöhte Bandlücke von etwa 3,7 eV [234]. Hierbei ist es nahezu unabhängig davon, ob das *Annealing* in einer inerten Stickstoffatmosphäre oder in der leicht oxidativ wirkenden Umgebungsatmosphäre durchgeführt wird. Die Transparenz der so behandelten ITO-Schichten liegt im Bereich des

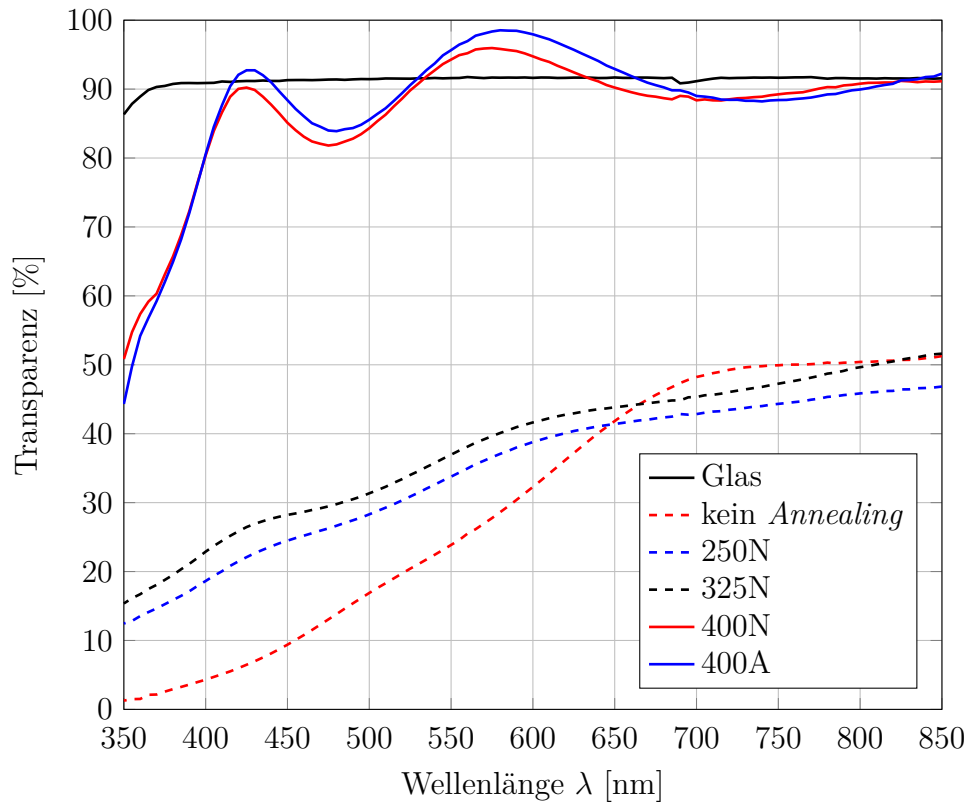


Abbildung 4.3.: Transparenz des Glaträgers und der ITO-Schichten bei verschiedenen *Annealing*-Bedingungen

sichtbaren Lichtes von $\lambda=390 - 770\text{ nm}$ im Mittel über 88%. Deutlich zu erkennen sind Minima und Maxima, die auf Interferenz zurückzuführen sind [235]. Hierbei ist zu ergänzen, dass auch für andere Sputterparameter nach dem *Annealing* bei 400°C ähnliche mittlere Werte der Transparenz erreicht werden. Alle bei 400°C ausgeheizten ITO-Schichten sind optisch transparent (vgl. Abbildung 3.4(b)) und können in Kombination mit ihrer hohen elektrischen Leitfähigkeit (vgl. Kapitel 4.1.2) als Gegenelektrode in einer EWOD-Plattform eingesetzt werden.

4.2. Mikroelektroden

Im Deckelchip sind Elektroden zur EIS-Messung vorgesehen. Diese Elektroden bestehen aus Gold. Die GE und RE sind mit dem leitfähigen Polymer PPy:PSS beschichtet (vgl. Kapitel 3.1). Die Beschichtung der GE zielt dabei auf eine geringe Elektrode/Elektrolyt-Übergangsimpedanz ab, damit die GE genügend Strom in die 3-Elektrodenanordnung einbringt und diesen nicht selber limitiert. Bei der RE hingegen ist ein geringer Übergangswiderstand wünschenswert, um den Spannungsabfall über der sich ausbildenden EDL zu verringern, jedoch ist hier die Stabilität des *Open-circuit potentials* (OCPs) von besonderer Bedeutung. Die Einflüsse der PPy:PSS Beschich-

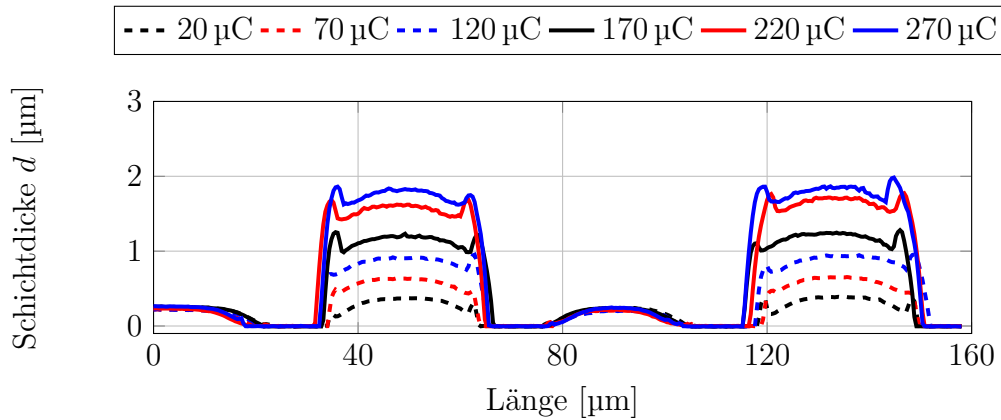
tung sollen im Folgenden durch Messungen erläutert und diskutiert werden. Dabei wird zuerst am Beispiel der GE auf die Schichtmorphologie (Kapitel 4.2.1.1) und die elektrischen Eigenschaften (Kapitel 4.2.1.2) der abgeschiedenen PPy:PSS Schichten eingegangen. Es werden zum ersten Mal die elektrischen Eigenschaften der Elektrode anhand der Änderungen der Bauteilgrößen in einem elektrischen ESB diskutiert und den Veränderungen in der Morphologie zugeordnet [236]. Abschließend wird am Beispiel der RE der Verlauf des OCPs und dessen Änderung durch die Elektrodenbeschichtung vorgestellt und diskutiert (Kapitel 4.2.1).

4.2.1. Gegenelektrode

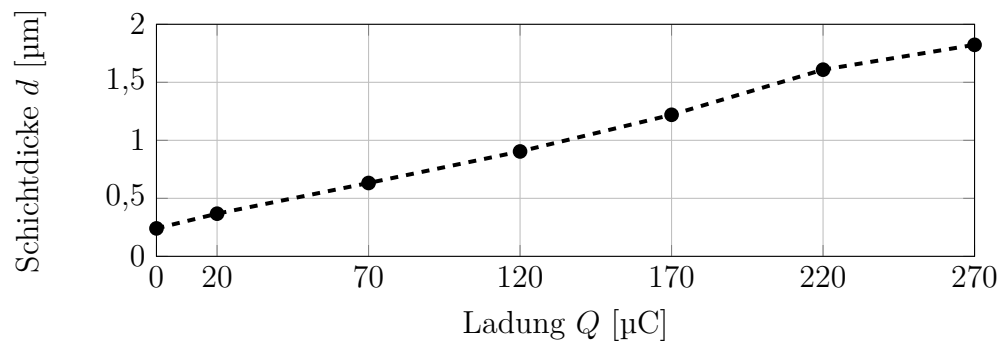
4.2.1.1. PPy:PSS-Abscheidung

Die potentiostatische PPy:PSS-Abscheidung wird zunächst in Hinblick auf die entstandene Schicht untersucht. Für verschieden viel transferierte Ladung sind Profilmessungen sowie Mikroskopbilder der beschichteten Elektroden in Abbildung 4.4 zu sehen. Abbildung 4.4(a) zeigt dabei einen Scan über benachbarte Goldelektroden. Die Richtung des Scans ist mit einem Pfeil im linken Foto in Abbildung 4.4(c) dargestellt. In Abbildung 4.4(b) ist die Schichtdicke der mit PPy:PSS beschichteten GE im Zentrum der Elektrode über der transferierten Ladung Q aufgetragen. Die Schichtdicke bei $Q=0\text{ }\mu\text{C}$ liegt bei 241 nm und entspricht der Dicke einer unbehandelten Goldelektrode nach dem Sputterprozess.

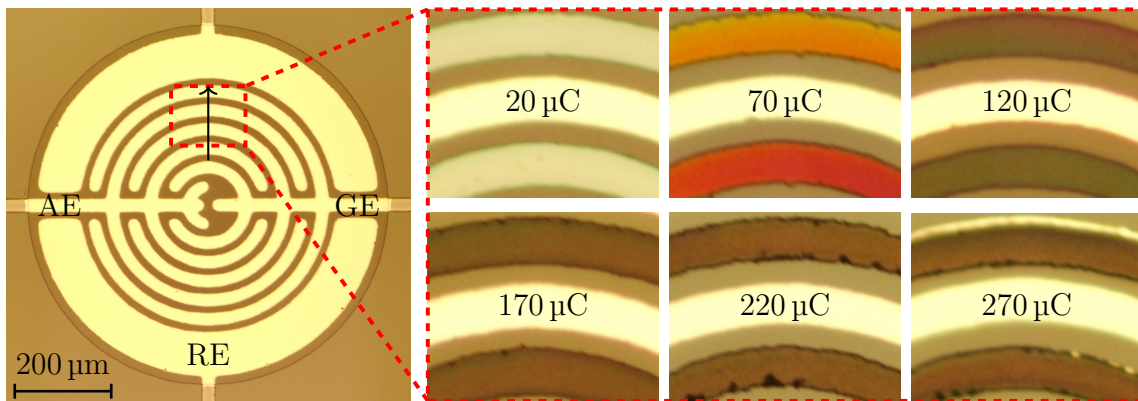
Die Dicke d der leitfähigen Polymerschicht nimmt mit zunehmender transferierter Ladung zu (vgl. Abbildung 4.4(a) und Abbildung 4.4(b)). Deutlich zu erkennen sind kleine Überhöhungen an den Rändern der Elektrode und eine leicht gewölbte Form in der Mitte der Elektrode. Das Wachstum der Schichten ist zunächst nach oben gerichtet, danach wächst die Schicht auch zunehmend in lateraler Richtung [237]. Das Schichtwachstum weist einen nahezu linearen Verlauf für transferierte Ladungen bis $220\text{ }\mu\text{C}$ auf. Danach tritt eine leicht verringerte Wachstumsrate auf (vgl. Abbildung 4.4(b)). Dieser Trend korreliert mit dem zunehmenden Wachstum in lateraler Richtung und geht daher mit einer Abnahme des Wachstums in die vertikale Richtung einher. Betrachtet man die Mikroskopbilder aus Abbildung 4.4(c), so ist die Zunahme der Schichtdicke mit steigender transferierter Ladung klar zu erkennen. Bei $20\text{ }\mu\text{C}$ ist die Schicht nahezu transparent, bei $70\text{ }\mu\text{C}$ und $120\text{ }\mu\text{C}$ weist die Schicht Interferenzmuster auf, die auf Schichtdicken im Bereich der Wellenlänge des sichtbaren Lichtes hindeuten [238]. Bei transferierten Ladungen ab $170\text{ }\mu\text{C}$ bildet sich eine braune Schicht aus. Deutlich zu erkennen ist eine Schichtablösung, die für $Q=270\text{ }\mu\text{C}$ reproduzierbar auftritt. Es ist wahrscheinlich, dass durch den veränderten Wachstumsmechanismus, dem Über-



(a) Profilometermessung über benachbarte Gold und PPy:PSS-Fingerelektroden



(b) Schichtdicke bei verschiedenen transferierten Ladungen



(c) Mikroskopaufnahmen verschiedener PPy:PSS-Schichten

Abbildung 4.4.: Schichtwachstum und -erscheinungsbild von PPy:PSS-Schichten mit verschieden transferierter Ladung während der Elektropolymerisation

gang von weitgehend vertikalem Wachstum zu mehr lateralem Wachstum, zunehmend interner mechanischer Stress in der Schicht erzeugt wird.

Zur genaueren Untersuchung der PPy:PSS-Schichten, werden Aufnahmen einer Goldelektrode und einer mit $Q=170 \mu\text{C}$ abgeschiedenen PPy:PSS-Schicht mit dem Rasterelektronenmikroskop (REM) und Rasterkraftmikroskop (engl.: *Atomic force microscope*) (AFM) aufgenommen und verglichen. Die Aufnahmen sind Abbildung 4.5 zu

entnehmen.

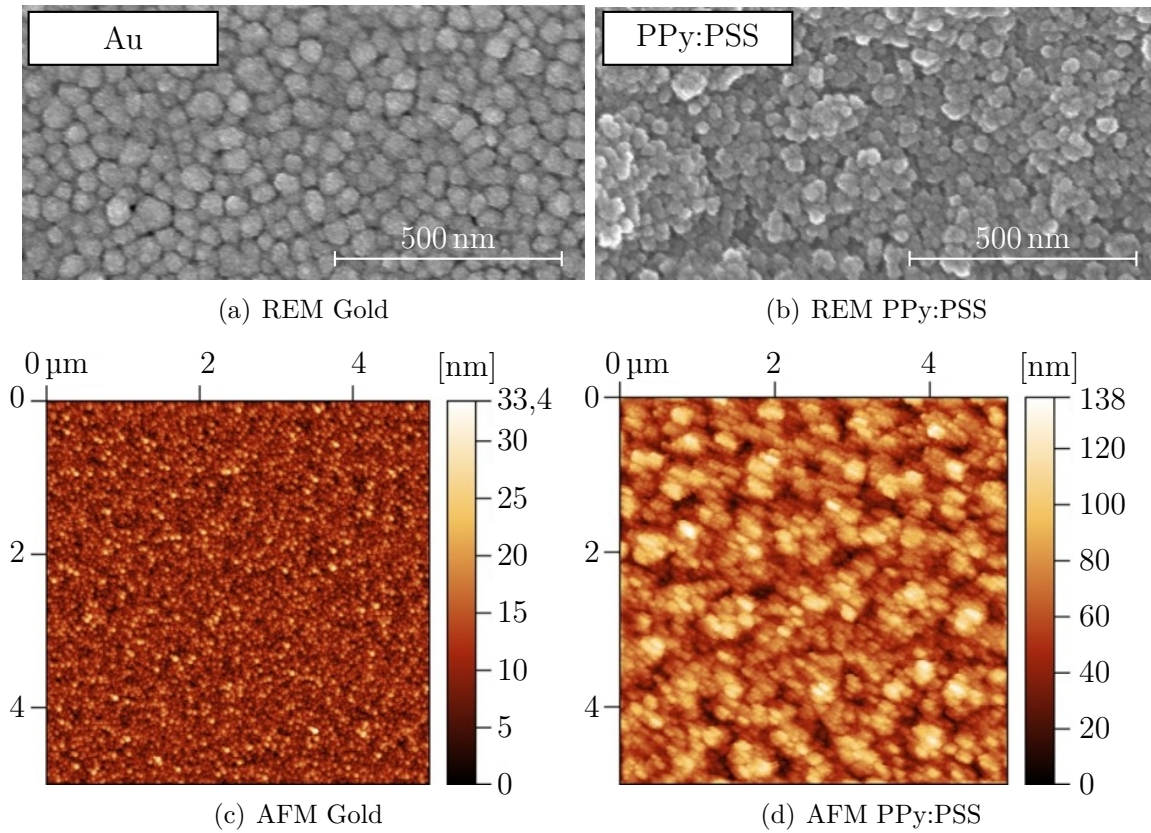


Abbildung 4.5.: REM- und AFM-Bilder der blanken Goldelektrode und der mit PPy:PSS-beschichteten Goldelektrode ($Q=170 \mu\text{C}$)

Die Goldschichten weisen eine körnige Struktur auf, die man besonders im REM gut erkennen kann (vgl. Abbildung 4.5(a)). Eine erhöhte Rauigkeit tritt besonders bei gesputterten Schichten auf, weniger bei thermisch aufgedampften Schichten [239, 240]. Pyrrol-basierte Schichten werden in der Literatur hingegen als blumenkohlartig beschrieben [241–244]. Die PPy:PSS-Schicht zeigt sehr deutlich die beschriebene Textur und lässt eine erhöhte Rauigkeit vermuten (vgl. Abbildung 4.5(b)). Zur Messung der Oberflächenbeschaffenheit werden die AFM-Bilder (vgl. Abbildung 4.5(c) und Abbildung 4.5(d)) mit der Software Gwyddion ausgewertet und die *Root mean square* (RMS)-Rauigkeit berechnet. Sie ergibt sich zu 3,7 nm für die Gold- und zu 20,5 nm für die PPy:PSS-Oberfläche. Die Rauigkeit der Elektrode ist somit durch die PPy:PSS Abscheidung deutlich gestiegen [242, 243, 245]. Diese Veränderungen und deren Auswirkung auf die elektrischen Eigenschaften der Elektrode werden im Folgenden vorgestellt und diskutiert (Kapitel 4.2.1.2).

4.2.1.2. Elektrische Charakterisierung

Die elektrische Übergangsimpedanz der Elektrode zum Elektrolyt wird mittels EIS untersucht. Dazu werden Spektren einer blanken Gold-GE vor der Beschichtung und Spektren nach der Beschichtung mit PPy:PSS untersucht. Die elektrochemische Impedanz Z wird in einem Frequenzbereich von 1 Hz bis 10 MHz in Phosphatpuffer (engl.: *Phosphate buffer*) (PB) aufgenommen. Ein Platindraht dient als GE und ein Ag/AgCl-Pellet als Pseudo-RE. Die Elektrode, die untersucht wird, ist in dieser Messung als AE verschaltet. Der Betrag von Z ist in Abbildung 4.6 über der Frequenz f aufgetragen.

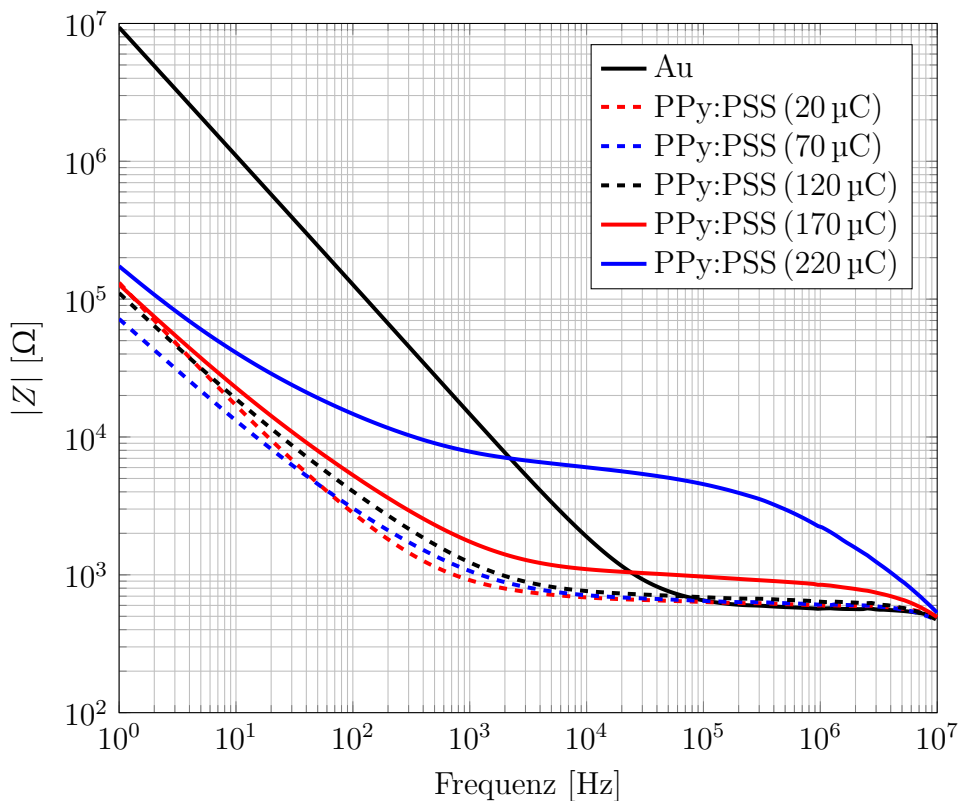


Abbildung 4.6.: Änderung der Impedanz der PPy:PSS-Elektrode über der transferierten Ladung in PB

Für eine blanke Goldelektrode zeigt sich ein kapazitives Verhalten im Bereich niedriger Frequenzen. Im Bereich zwischen 100 kHz und 10 MHz zeigt sich ein Plateau, das auf resistives Verhalten des Elektrode/Elektrolyt-Übergangs schließen lässt. Nach der Elektrodenbeschichtung mit PPy:PSS zeigt sich im Bereich niedriger Frequenzen eine Verringerung der Impedanz um mehr als zwei Größenordnungen. Das Absinken der Impedanz wurde auch von Cui et al. und Sun et al. beobachtet [133, 191]. Im resistiven Bereich ist ein leichter Anstieg zu beobachten.

Für die Modellierung des Elektrode/Elektrolyt-Übergangs wird ein vereinfachtes ESB nach Randles verwendet (vgl. Kapitel 2.2.2 und Abbildung 2.5) [166, 167]. Das

ESB besteht aus dem Widerstand R_{SOL} , der den Lösungswiderstand darstellt und dem Ladungstransferwiderstand R_{CT} . Dieser ist parallel zu CPE_{DL} verschaltet, das die EDL modelliert. Das ESB ist Abbildung 2.5 zu entnehmen.

Zur Bestimmung der Bauteilgrößen im ESB nach Abbildung 2.5 wird die frei zugängliche Software „EIS Analyzer“ eingesetzt [246]. Diese bestimmt mit Hilfe des Powell-Algorithmus iterativ die Werte für die verwendeten Bauelemente, sodass eine möglichst geringe Abweichung des Fits und der Messdaten vorliegt. Für die blanke Goldelektrode aus Abbildung 4.6 wurden die nachfolgenden Werte bestimmt. Zusätzlich ist der relative Fehler bei der numerischen Bestimmung der Größen angegeben.

- $R_{SOL}=562,18 \, \Omega (\pm 2.27\%)$
- $Q_0(CPE_{DL}) = 21,1 \, \text{nF} \cdot \text{s}^{(n-1)} (\pm 2.28\%)$
- $n(CPE_{DL}) = 0,92 (\pm 0,25\%)$
- $R_{CT}=5,7 \cdot 10^{20} \, \Omega$

Der hohe Wert für den Ladungstransferwiderstand von $R_{CT}=5,7 \cdot 10^{20} \, \Omega$ lässt darauf schließen, dass am Elektrode/Elektrolyt-Übergang hauptsächlich nicht-faradaysche Prozesse ablaufen. Dies ist auf die fehlenden Redox-Paare in dem verwendeten Puffersystem PB und dem damit ausbleibenden faradayschen Ladungstransfer zurückzuführen [166]. Der relative Fehler bei der Ermittlung von R_{CT} kann auf Grund seines geringen Einflusses nicht ermittelt werden. Die anderen Bauelemente des ESBs weisen jedoch eine ausreichende Genauigkeit auf. Ein Vergleich zwischen dem gemessenen Betrag der Impedanz $|Z|$ und der gefitteten Kurve ist in Abbildung A.2 im Anhang überlagert aufgetragen. Deutlich zu erkennen ist lediglich eine Abweichung im Bereich höherer Frequenzen. Daher wird das ESB angepasst. Das modifizierte ESB ist in Abbildung 4.7 zu sehen.

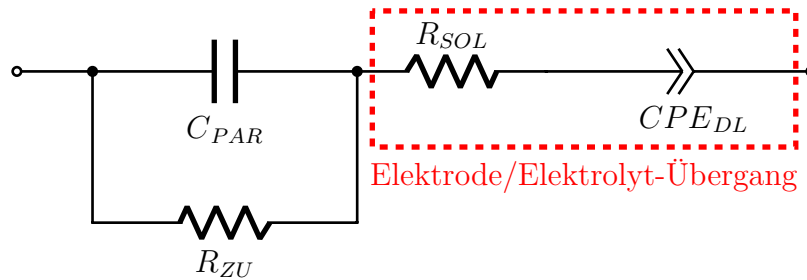


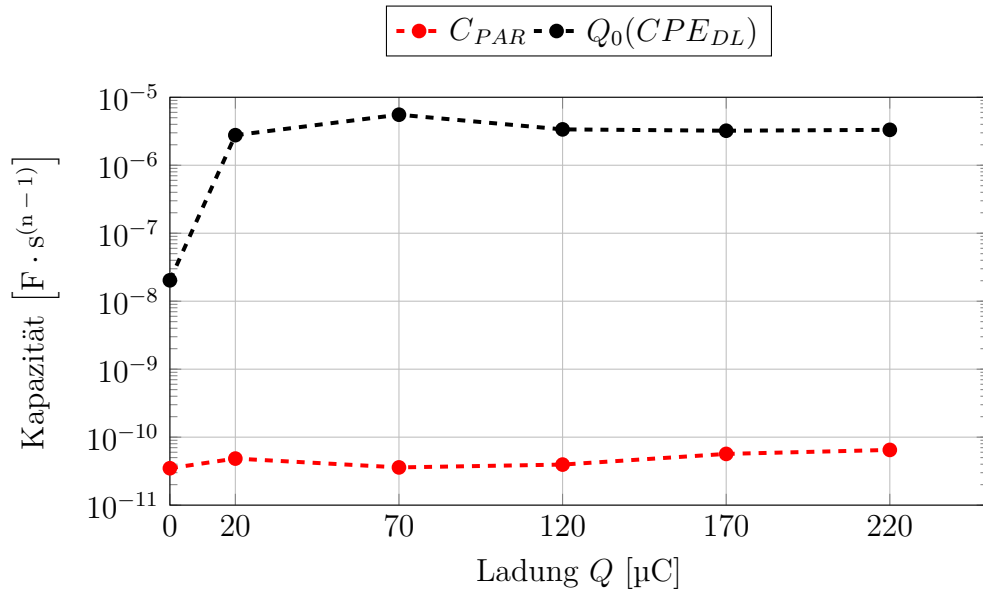
Abbildung 4.7.: Angepasstes ESB des Elektrode/Elektrolyt-Übergangs für blanke Goldelektroden und PPy:PSS-Elektroden in PB

Das vereinfachte Randles-Modell des Elektrode/Elektrolyt-Übergangs aus Abbildung 2.5 wurde aufgrund fehlender faradayscher Prozesse um den Ladungstransferwiderstand R_{CT} reduziert und ist in der rot gestrichelten Box hervorgehoben. Um

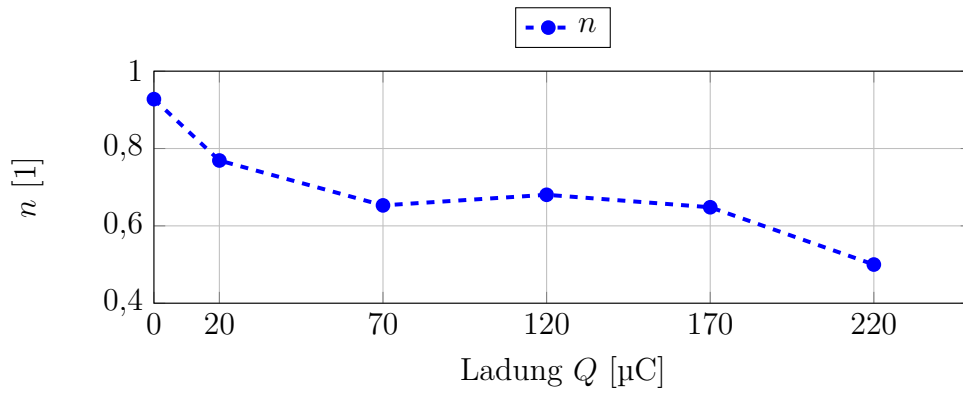
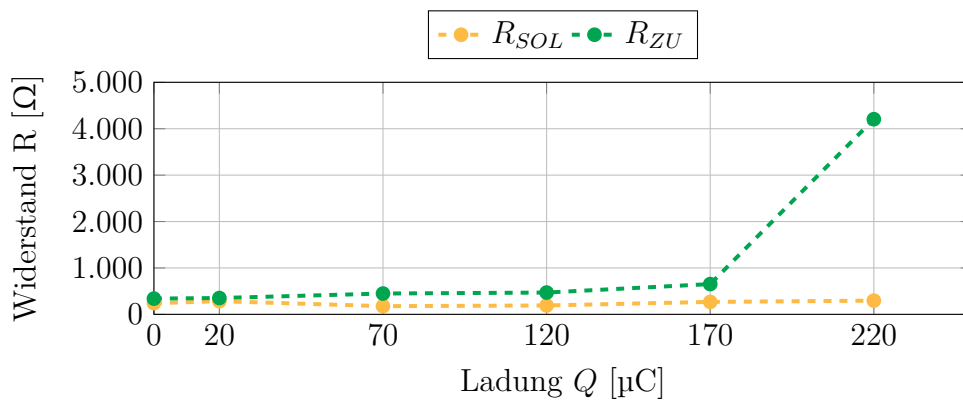
eine verbesserte Übereinstimmung im Bereich hoher Frequenzen zu erreichen, werden die parasitäre Kapazität C_{PAR} und der Zuleitungswiderstand R_{ZU} eingeführt. Dabei modelliert R_{ZU} die ohmschen Verluste zwischen Messgerät und dem Elektrolyten. Dies beinhaltet die Koaxialkabel, die Federkontaktstifte, die Goldleiterbahnen auf dem Chip und den elektrischen (ohmschen) Widerstand der PPy:PSS-Schicht, die sich zwischen der Goldoberfläche und dem Elektrolyten befindet. Der resultierende Fit ist ebenfalls in Abbildung A.2 im Anhang eingetragen und zeigt eine deutlich verbesserte Übereinstimmung im gesamten Frequenzbereich.

Die Impedanzspektren der unbeschichteten Goldelektrode und der mit PPy:PSS-beschichteten Goldelektroden werden mit dem modifizierten ESB aus Abbildung 4.7 gefittet. Ausgenommen wurde die Abscheidung bei $Q=270\text{ }\mu\text{C}$ wegen der dort aufgetretenen Schichtablösung (vgl. Kapitel 4.2.1.1). Die genauen Bauteilgrößen und die auftretenden relativen Fehler sind in Tabelle C.1 (siehe Anhang) aufgelistet und graphisch in Abbildung 4.8 dargestellt.

Aus Abbildung 4.8(a) ist deutlich zu entnehmen, dass die parasitäre Kapazität C_{PAR} in einem Bereich unter 100 pF liegt und sich nicht deutlich verändert. Dieses konstante Verhalten ist zu erwarten, da der Messaufbau zwischen den Versuchen nahezu unverändert bleibt. Der kleine Wert lässt darauf schließen, dass die Kapazität lediglich im Bereich hoher Frequenzen Einfluss hat. Dies korreliert gut mit der vorgenommenen Änderung am ESB, da die Erweiterung um C_{PAR} eine verbesserte Abbildung der gemessenen Spektren mit dem ESB bei hohen Frequenzen zur Folge hat (vgl. Abbildung A.2). Deutlich anders verhält sich hingegen der Verlauf von $Q_0(CPE_{DL})$, das die Änderung der EDL modelliert. Bei einer blanken Goldelektrode weist es einen Wert von $20,3\text{ nF} \cdot \text{s}^{(n-1)}$ auf. Durch die Beschichtung mit PPy:PSS steigt dieser Wert um mehr als zwei Größenordnungen auf Werte zwischen $2,77\text{ }\mu\text{F} \cdot \text{s}^{(n-1)}$ und $3,37\text{ }\mu\text{F} \cdot \text{s}^{(n-1)}$ an (vgl. Tabelle C.1). Dieser Anstieg in der Kapazität kann mit der vergrößerten Oberfläche durch die poröse Beschaffenheit der Elektrode erklärt werden, die sich auch aus den REM- und AFM-Bildern ableiten lässt (vgl. Kapitel 4.2.1.1). Es bildet sich eine Volumenkapazität aus [247–249]. Die Verringerung der Impedanz im Bereich niedriger Frequenzen, die in Abbildung 4.6 für alle PPy:PSS-Schichten im Vergleich zu Gold deutlich erkennbar ist, ist auf diesen Anstieg der Doppelschichtkapazität $Q_0(CPE_{DL})$ zurückzuführen. Betrachtet man zusätzlich den Exponenten $n(CPE_{DL})$, so ist eine deutliche Abnahme mit zunehmender transferierter Ladung Q zu erkennen (vgl. Abbildung 4.8(b)). Der Exponent $n(CPE_{DL})$ ist ein Maß für die Rauigkeit der Elektrode. Ein Wert von $n=1$ steht dabei für eine ideal glatte Oberfläche, während kleinere Werte für zunehmende Rauigkeit stehen [171–174]. Auch hier besteht eine gute Übereinstimmung zwischen der Änderung der bauteilspezifischen Größen und den Rauigkeitsmessungen mittels AFM. Abbildung 4.8(c) zeigt den Verlauf der resistiven Elemente des ESBs. Der



(a) Verlauf der kapazitiven Elemente des ESBs

(b) Verlauf des Exponenten n des CPEs

(c) Verlauf der resistiven Elemente des ESBs

Abbildung 4.8.: Verlauf der Bauteilgrößen des elektrischen ESBs für Gold ($0\mu\text{C}$) und PPy:PSS-Elektroden in PB über der transferierten Ladung

Lösungswiderstand R_{SOL} ändert sich dabei nur geringfügig und spiegelt damit wieder, dass bei allen Messungen die gleiche Pufferlösung (PB) verwendet wurde. Im Gegensatz dazu verändert sich der Widerstand R_{ZU} . Dieser steigt bei zunehmender transferierter Ladung Q zunächst leicht an. Bei $Q=220\text{ }\mu\text{C}$ ist eine deutliche Steigerung von $652,5\text{ }\Omega$ auf $4,2\text{ k}\Omega$ zu erkennen. Es ist davon auszugehen, dass die Widerstände der Koaxialkabel, der Kontakte und der Goldleiterbahn auf dem Chip sich nicht stark ändern, sodass die Zunahme auf den steigenden Widerstand der PPy:PSS-Schicht zurückzuführen ist. Diese Zunahme des elektrischen Widerstandes spiegelt sich in Abbildung 4.6 als Anstieg des resistiven Plateaus wieder und liegt maßgeblich im Wachstumsmechanismus von PPy:PSS begründet. Eine schematische Darstellung des im Rahmen dieser Arbeit vorgeschlagenen Schichtwachstums ist in Abbildung 4.9 dargestellt.

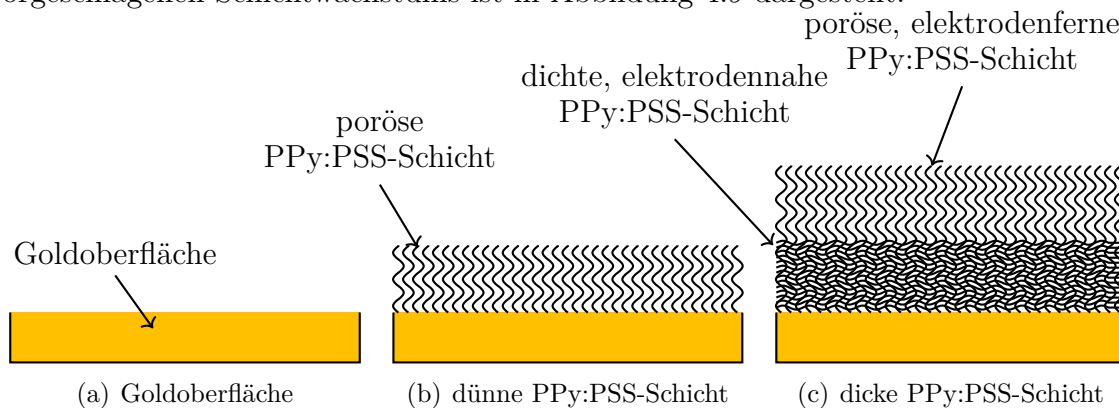


Abbildung 4.9.: Schematische Darstellung der zwei unterschiedlichen Wachstumsmechanismen einer PPy:PSS-Beschichtung auf Goldelektroden

Ausgehend von einer gesputterten Goldelektrode (vgl. Abbildung 4.9(a)) wird die PPy:PSS-Schicht durch Elektropolymerisation aufgebracht. Dabei liegt initial ein vorzugsweises Wachstum in die Richtung des Normalenvektors der Goldoberfläche vor [237]. Es bildet sich eine poröse Schicht aus (vgl. Abbildung 4.9(b)), die dazu führt, dass durch die erhöhte Oberfläche die Doppelschichtkapazität $Q_0(CPE_{DL})$ vergrößert wird. Im weiteren Verlauf des Elektropolymerisationsprozesses tritt zusätzlich ein Wachstum ausgehend von den Poren auf, wodurch sich Poren im unteren Bereich der Schicht beginnen zu schließen (vgl. Abbildung 4.9(c)) [189]. So entsteht zwischen der Goldelektrode und dem Elektrolyt eine elektrisch leitfähige Schicht und der Zuleitungswiderstand R_{ZU} steigt an. Es ist davon auszugehen, dass die PPy:PSS-Schichten im oberen Teil weiterhin aus neu aufgewachsenen porösen Strukturen bestehen, die noch nicht zusammengewachsen sind. Das bestätigt der gleichbleibend hohe Wert von $Q_0(CPE_{DL})$ und damit die geringe Übergangsimpedanz im Bereich niedriger Frequenzen (vgl. Abbildung 4.6). In diesem Frequenzbereich, der bei kapazitiven Impedanzsensoren bevorzugt ausgewertet wird (vgl. Kapitel 5.4), erfüllen die PPy:PSS-Schichten mit einer transferierter Ladung $Q \leq 170\text{ }\mu\text{C}$ die Anforderungen einer GE, da sie einen deutlich geringeren Wi-

derstand als die Gold-AE aufweisen (vgl. Tabelle C.1) und somit ausreichend Strom in die 3-Elektrodenanordnung einprägen können. Aus Gründen der Stabilität der Schicht wird im Rahmen dieser Arbeit für die GE eine PPy:PSS-Schicht mit $Q=170\text{ }\mu\text{C}$ für die weiteren Messungen verwendet.

4.2.2. Pseudo-Referenzelektrode

Die Anforderungen an eine RE in einer 3-Elektrodenanordnung unterscheiden sich leicht von den Anforderungen an eine GE. So ist hierbei von großer Bedeutung, dass das RE-Elektrodenpotential während der Messung stabil ist. Diese Eigenschaft kann mit Hilfe der Messung des OCPs charakterisiert werden. Der Herstellungsprozess der RE wurde bereits in Kapitel 3.1.2.1 vorgestellt. Zur Festlegung der transferierten Ladung von $300\text{ }\mu\text{C}$ wurde folgendermaßen verfahren. Es wurden PPy:PSS-Schichten mit Werten für die Ladung Q von $50\text{ }\mu\text{C}$ bis $675\text{ }\mu\text{C}$ mit Abständen von $125\text{ }\mu\text{C}$ abgeschieden. Für eine blanke Goldelektrode wird die Ladung mit $Q=0\text{ }\mu\text{C}$ angegeben. Wie für die GE beschrieben, kommt es auch bei der Abscheidung der RE zu Delamination des PPy:PSS-Films. Diese Ablösung setzt bei $Q\geq 550\text{ }\mu\text{C}$ ein. Aufgrund der größeren Fläche der RE im Gegensatz zur GE ist dieser Wert entsprechend höher als bei der Beschichtung der GE. Aus diesem Grund werden die folgenden Betrachtungen auf Schichten beschränkt, bei denen eine Ladung von unter $550\text{ }\mu\text{C}$ transferiert wurden.

Das OCP wird in einer 3-Elektrodenanordnung am Potentiostat/ Galvanostat Model 283 (EG&G Instruments, Princeton Applied Research, Berwyn, PA, USA) gemessen. Eine Ag/AgCl *double-junction* Elektrode dient dabei als RE und ein Ag/AgCl-Pellet als GE. Die beschichtete Elektrode ist als AE verschaltet. Das OCP wird über eine Dauer von zwei Stunden in PB (pH 7,4) aufgezeichnet und ist Abbildung 4.10 zu entnehmen.

Die Potentialverläufe unterscheiden sich deutlich. Die Goldelektrode zeigt zunächst eine starke Veränderung und nähert sich nach einem Überspringen etwa einem Wert von -160 mV an. Deutlich zu erkennen ist ein starkes Rauschen des OCPs über die komplette Dauer von 2 h. Bei einer dünnen Beschichtung mit PPy:PSS mit geringer transferierter Ladung von $Q=50\text{ }\mu\text{C}$ zeigt das OCP weniger zeitliche Veränderung und kein Überspringen. Die Schwankungen sind jedoch ebenfalls zu erkennen, allerdings mit einer kleineren Frequenz. Wird die Elektrode mit dickeren PPy:PSS-Schichten beschichtet, entfallen die zeitlichen Schwankungen. Lediglich ein Einschwingvorgang ist zu erkennen. Insgesamt nähern sich die OCPs aller PPy:PSS-Schichten nach ungefähr einer Stunde einem ähnlichen Wert an.

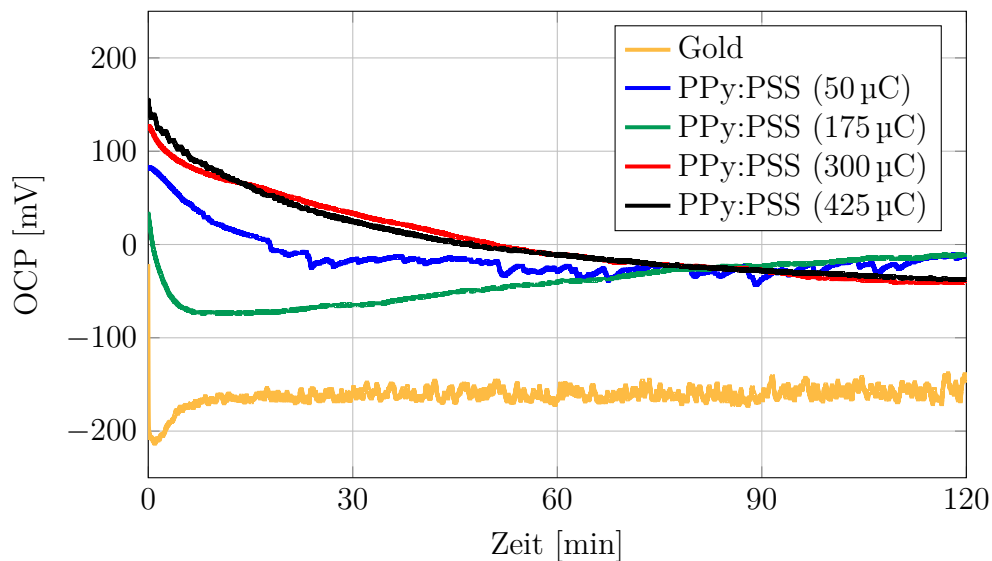


Abbildung 4.10.: OCP einer unbeschichteten Goldelektrode und Elektroden nach der Beschichtung mit PPy:PSS mit verschiedenen transferierten Ladungen bei der Abscheidung

4.2.3. Bedeutung eines stabilen OCPs für die EIS

In der EIS ist oft der Absolutwert des OCPs einer RE von untergeordneter Bedeutung als dessen zeitliche Änderung während einer Messung. Durch eine 3-Elektrodenanordnung wird dabei der Stromfluss durch die RE minimiert, um den Spannungsabfall gering zu halten. Entscheidend ist somit die Stabilität des OCPs der RE, das im Leerlauf definiert ist [164]. Generell kommt es zu Beginn einer Messung zu elektrochemischen Ausgleichsvorgängen bis sich ein Gleichgewicht einstellt. Wird allerdings während der Messung das Gleichgewicht gestört, können große Änderungen des OCPs auftreten, gefolgt von einem erneuten Annähern an das elektrochemische Gleichgewicht. Um ein solches Verhalten genauer zu untersuchen, wurde das OCP erneut für eine Goldelektrode und eine mit PPy:PSS beschichtete Elektrode (GE , $Q=170\text{ }\mu\text{C}$) gemessen. Dabei wurde die Elektrode jeweils trocken in PB eingetaucht und das OCP analog zu Kapitel 4.2.2 für 30 min gemessen. Anschließend wurde die Elektrode kurzzeitig aus der Lösung entfernt, mit deionisiertem (DI)-Wasser gespült, mit Stickstoff getrocknet und erneut für 30 min in die Lösung eingetaucht. Die Messung wurde 3-mal für Gold und 3-mal für die PPy:PSS beschichtete Elektrode durchgeführt. Da die Änderung und nicht der Absolutwert für eine driftarme Messung entscheidend ist, sind die Messungen auf den Startwert normiert und pro Material gemittelt. Die resultierende relative Änderung ist in Abbildung 4.11 dargestellt.

Übereinstimmend mit Abbildung 4.10 sind deutliche Schwankungen des OCPs für die unbeschichtete Goldelektrode trotz Mittelwertbildung über drei Messungen zu erken-

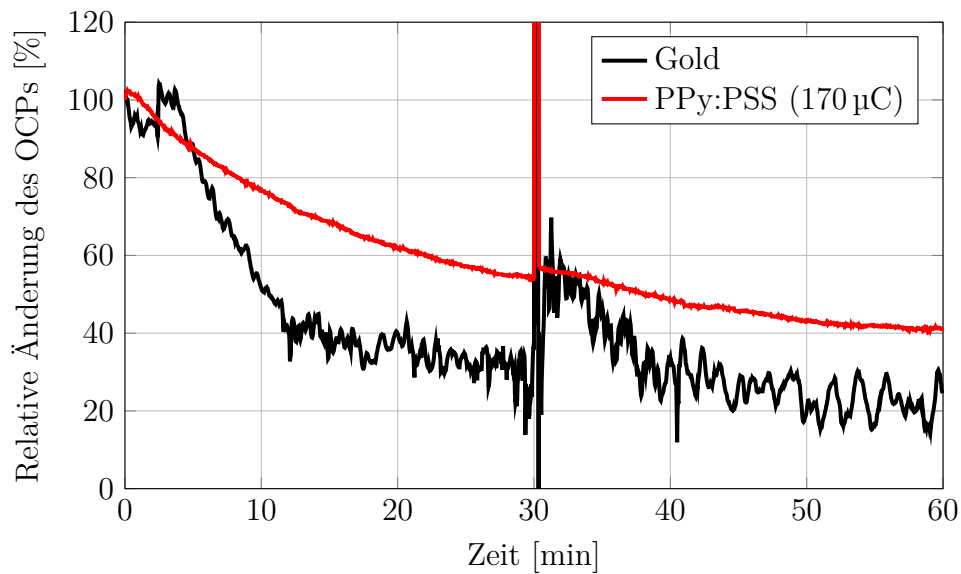


Abbildung 4.11.: OCP-Messung für Gold und PPy:PSS mit einer Störung des elektrochemischen Gleichgewichts nach 30 min

nen. Nach 30 min scheint sich das OCP für Gold einem stabilen Zustand anzunähern. Dieses wird durch den Spülvorgang mit DI-Wasser und das anschließende Trocknen der Elektrode gestört. Bei der erneuten Benetzung mit dem selben Medium (PB) steigt das OCP für alle drei Messungen und somit auch im Mittel deutlich. Anschließend kann ein erneutes Absinken auf einen ähnlichen Wert im eingeschwungenen Zustand beobachtet werden. Weiterhin wird das OCP von starken zeitlich variierenden Schwankungen überlagert.

Gegensätzlich dazu verhält sich die PPy:PSS beschichtete Elektrode. Es zeigt sich ein glatter Kurvenverlauf. Beim Medienwechsel nach 30 min ist ein Anstieg des OCPs zu erkennen. Dieses Verhalten bildet allerdings lediglich die Zeit des Spülvorgangs ab, bei der die Elektroden in undefiniertem Zustand sind. Sobald die Elektrode erneut in PB für die zweite halbe Stunde eingetaucht wurde, nimmt das OCP nahezu den Wert an, den es vor dem Spülvorgang angenommen hatte. Es ist lediglich eine kleine Potentialänderung zu erkennen. Der weitere Verlauf zeigt erneut einen Ausgleichsvorgang an das elektrochemische Gleichgewicht. Bis auf die Unterbrechung rund um den Medienwechsel ist der Verlauf kontinuierlich und kann nicht merklich von einem durchgehend gemessenen OCP-Verlauf unterschieden werden, bei dem die Elektrode nicht aus der Lösung entfernt wird (vgl. Abbildung 4.10). Der OCP-Verlauf der beschichteten Elektrode nach dem Medienwechsel scheint von den vorherigen Bedingungen abhängig zu sein.

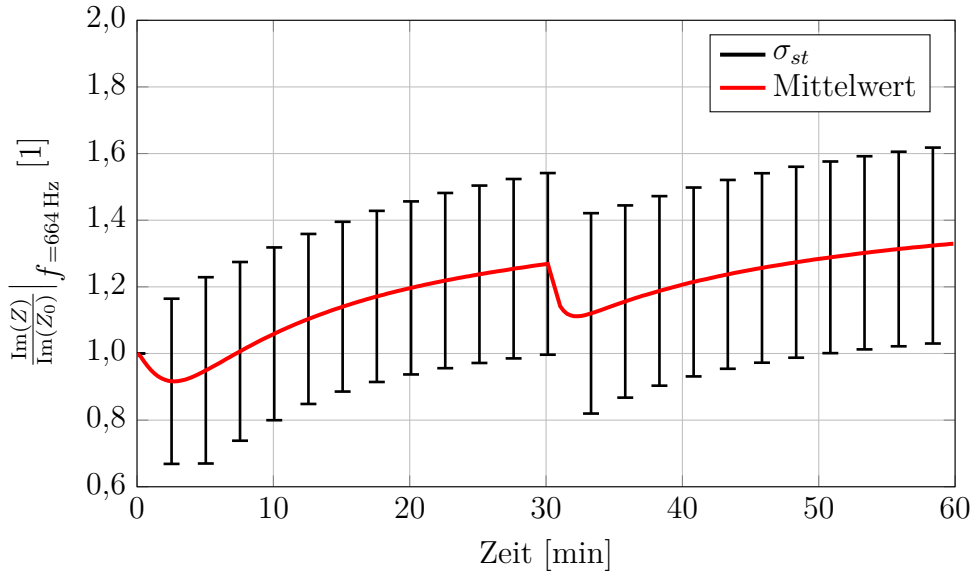
Dieses Phänomen kann an der Möglichkeit liegen, dass die Poren in der PPy:PSS-Elektrode Ionen aus der PB-Lösung fangen. Diese verbleiben auch während des Spülvorgangs in der Schicht. Nach dem erneuten Kontakt mit der Lösung ist die Ionenkon-

zentration in der Nähe der Elektrode nahezu unverändert. Daher ändert sich der Wert des OCPs nur marginal.

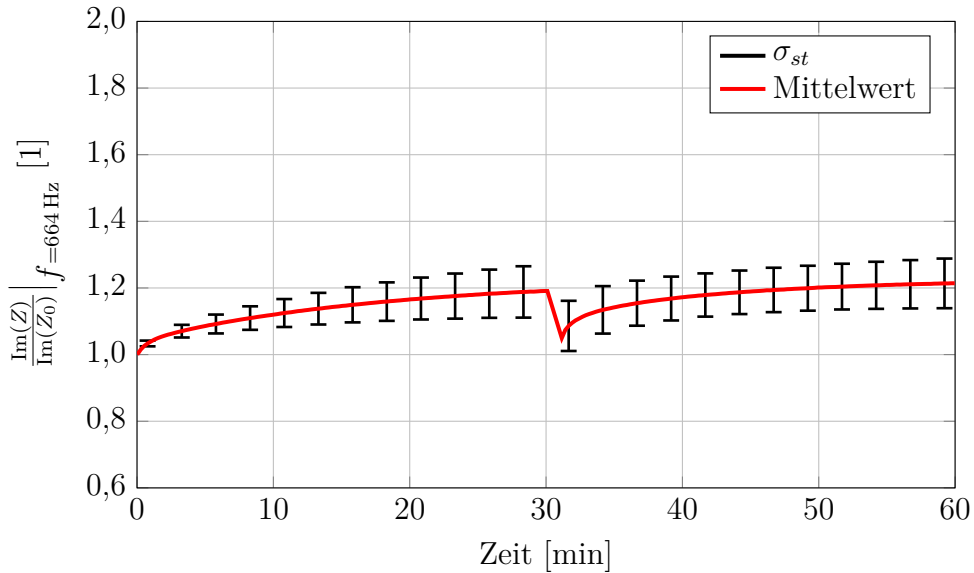
Die Beschichtung von Goldelektroden mit PPy:PSS kann somit nicht nur die Übergangsimpedanz von Elektrode zu Elektrolyt erheblich verringern (vgl. Kapitel 4.2.1.2), sondern auch das OCP stabilisieren (vgl. Kapitel 4.2.2). Zusätzlich konnte ein Effekt nachgewiesen werden, der dazu führt, dass das OCP auch während Medienwechseln weniger stark schwankt. Dies stellt einen Vorteil bei der Nutzung in einer EWOD-Plattform dar. Hier besteht die Möglichkeit, dass kleine Flüssigkeitsmengen über längere Zeit im *virtual microwell* auf dem EIS-Sensor verweilen, sodass mit der Zeit eine Aufkonzentration (z.B. Ionen in einer salzhaltigen Lösung) durch Verdunstung stattfindet. Wird der Inhalt des *virtual microwells* anschließend mit einem Tropfen anderer Konzentration verdrängt, ändert sich das OCP nur geringfügig.

Neben dem stabileren OCP der RE wird auch durch die verringerte Übergangsimpedanz der GE und deren konstanteres Elektrodenpotential eine stabilere EIS-Messung erreicht. Zur Untersuchung des Einflusses der beschichteten im Vergleich zu einer unbeschichteten GE wird ein Tropfen PB für 30 min auf einer IDE-Struktur mit AE und GE aus Gold bzw. AE aus Gold und GE mit PPy:PSS beschichtet inkubiert (Au-Au bzw. Au-PPy:PSS). Das Material der AE bleibt dabei Gold, da dieses eine Bindung von Biomolekülen über Thiolgruppen erlaubt und somit ein Einsatz als Biosensor weiterhin möglich ist [250]. Die Messung wird in einer 2-Elektrodenanordnung durchgeführt, um lediglich den Einfluss der Beschichtung auf der GE zu adressieren und nicht die Überlagerung mit dem bereits vorgestellten stabileren Verlauf des OCPs zu messen. Messtechnisch wird dafür der Eingang für die GE mit dem Eingang für die RE am Impedanzmessgerät kurzgeschlossen, um sowohl Strom in die 2-Elektrodenanordnung einzuprägen, als auch die Spannung gegenüber AE zu messen. Nach 30 min wird der Tropfen, wie oben beschrieben, mit DI-Wasser abgespült, der Sensor getrocknet und ein neuer Tropfen PB inkubiert. Abbildung 4.12 zeigt den auf den Anfangswert normierten Verlauf des Imaginärteils der Impedanz Z bei einer Frequenz f von 664 Hz. Die Frequenz wurde so gewählt, dass die Entwicklung der Doppelschichtkapazität mit dem Sensorsignal korreliert. In einem späteren Biosensor kann diese Änderung der Anlagerung von Biomolekülen zugeordnet werden. Die Inkubation einer typischen Pufferlösung wie PB stellt somit eine Negativkontrolle dar und dient dazu, eine Basislinie aufzunehmen, die idealerweise wenig Änderung des Messsignals zeigt, da keine zusätzlichen Biomoleküle auf der Goldelektrode immobilisiert werden. In jeder Elektrodenkonfiguration werden jeweils fünf Messungen durchgeführt, gemittelt und die Standardabweichung aufgetragen.

Für eine Messung mit der Au-Au-Elektrodenkonfiguration (vgl. Abbildung 4.12(a))



(a) 2-Elektrodenanordnung mit AE und GE aus Gold



(b) 2-Elektrodenanordnung mit AE aus Gold und PPy:PSS beschichteter GE

Abbildung 4.12.: Zeitlicher Verlauf des Imaginärteils der Impedanz Z bei $f=664 \text{ Hz}$

zeigt sich bei der Inkubation des ersten PB-Tropfens eine starke Drift. Der hohe Wert der Standardabweichung zeigt dabei an, dass die Drift wenig vorhersagbar ist. Nach dem Spülen und Trocknen des Sensors kommt es erneut zu Ausgleichsvorgängen. Auch hier ist eine starke Drift zu erkennen. Eine deutliche Verbesserung dieses Verhaltens ist Abbildung 4.12(b) für eine Messung mit der Au-PPy:PSS-Elektrodenkonfiguration zu entnehmen. Hierbei zeigt sich ein leicht ansteigendes Signal. Das System strebt ein elektrochemisches Gleichgewicht an. Die deutlich kleineren Fehlerbalken zeigen eine sehr gute Reproduzierbarkeit des Messsignals. Der Einsatz einer mit PPy:PSS beschichteten

GE verbessert somit die Stabilität der Messung, sogar in einer 2-Elektrodenanordnung.

Neben der Verbesserung der Stabilität kann durch die verwendete PPy:PSS-Beschichtung ein weiterer Effekt erzielt werden. Abbildung 4.13 zeigt die gemittelten Impedanzspektren zum Zeitpunkt $t=0$ min, d.h. die Spektren, die jeweils der Normierung in Abbildung 4.12 zugrunde liegen für die Au-Au-Elektrodenkonfiguration und die Au-PPy:PSS-Elektrodenkonfiguration.

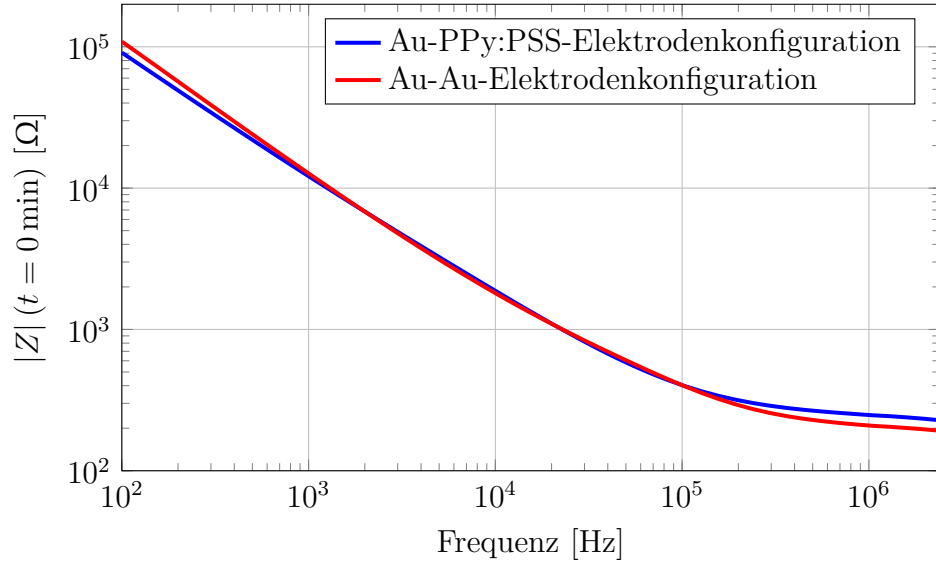
Beim Vergleich der gemittelten Spektren für eine unbeschichtete Elektrode und eine mit PPy:PSS beschichtete GE, die unmittelbar nach der Benetzung mit PB gemessen wurden ($t=0$ min), fällt auf, dass deren Mittelwerte in einem weiten Frequenzbereich übereinstimmen (Abbildung 4.13(a)). In diesem Bereich ($\approx 1 \text{ kHz} < f < 250 \text{ kHz}$) hat die Doppelschichtkapazität den wesentlichen Einfluss auf die Impedanz Z . Im Bereich von Frequenzen größer 250 kHz liegt der Absolutbetrag $|Z|$ für die PPy:PSS-beschichtete GE leicht über dem Wert der blanken Gold-GE. Dies korreliert mit dem kleinen zusätzlichen ohmschen Widerstand der PPy:PSS-Schicht (vgl. Kapitel 4.2.1.2). Im Bereich niedriger Frequenzen ($f < 1 \text{ kHz}$) hingegen ist die Impedanz der Au-PPy:PSS-Elektrodenkonfiguration kleiner als der der Au-Au-Elektrodenkonfiguration. Dies resultiert aus der Reihenschaltung des Elektrolyt/Au- und des Elektrolyt/PPy:PSS-Übergangs, wobei die beschichtete Elektrode eine deutlich geringere Übergangsimpedanz als die unbeschichtete Elektrode aufweist (vgl. Abbildung 4.6).

Die Standardabweichung aller fünf pro GE-Elektrodenmaterial aufgenommenen Spektren ist in Abbildung 4.13(b) und Abbildung 4.13(c) aufgetragen. Neben einer geringeren Drift des normierten Impedanzsignals über die gesamte Zeit des Versuches (vgl. Abbildung 4.12) zeigt sich zusätzlich eine deutlich geringe Abweichung im Absolutbetrag der Impedanz Z für die Au-PPy:PSS-Elektrodenkonfiguration. Durch diese geringe Abweichung könnte in Zukunft eine zeitaufwändige Kalibrationsmessung vermieden werden.

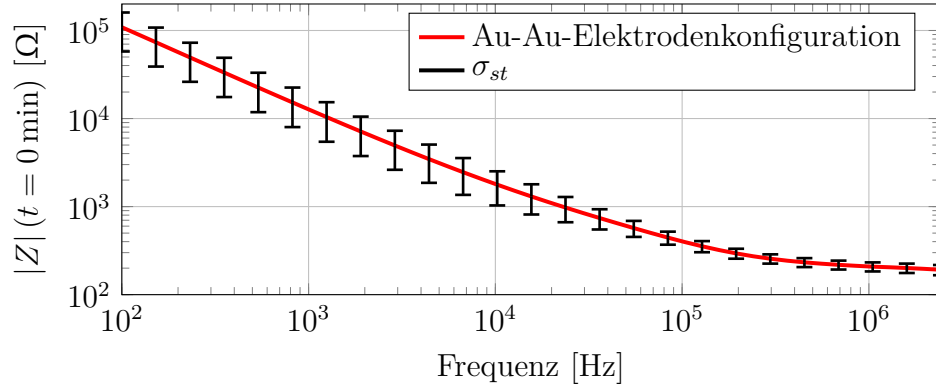
Durch eine dritte Elektrode mit stabilem OCP (vgl. Kapitel 4.2.2) wird diese Stabilität weiter verbessert, da damit die Spannungsmessung von dem Pfad des eingepprägten Stroms entkoppelt wird und somit kein zusätzlicher Spannungsabfall über der beschichteten Pseudo-RE auftritt [164].

4.3. EWOD-Plattformen

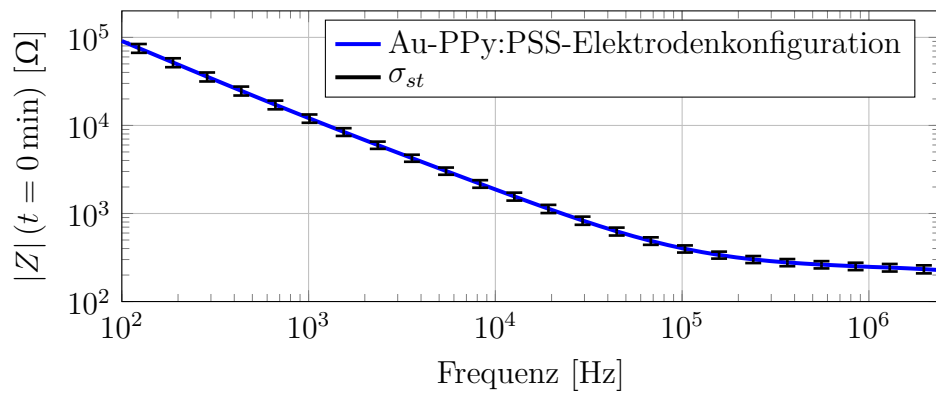
Im Rahmen dieser Arbeit wurden zwei EWOD-Plattformen entwickelt (vgl. Kapitel 3.2 und Kapitel 3.3), deren Leistungsvermögen im Folgenden evaluiert werden soll. Bei der LabView- und relaisbasierten EWOD-Plattform wird dabei lediglich auf die Erzeugung der Hochspannung durch die verbaute *Dickson-Chargepump* sowie auf die Schaltzeiten eingegangen, da diese beiden Punkte, neben der komplizierten Möglichkeit zum Um-



(a) Vergleich der gemittelten Impedanzspektren für die Au-Au-Elektrodenkonfiguration und die Au-PPy:PSS-Elektrodenkonfiguration



(b) Gemittelttes Impedanzspektrum und Standardabweichung σ_{st} für die Au-Au-Elektrodenkonfiguration



(c) Gemittelttes Impedanzspektrum und Standardabweichung σ_{st} für die Au-PPy:PSS-Elektrodenkonfiguration

Abbildung 4.13.: Impedanzspektren für die Au-Au- bzw. Au-PPy:PSS-Elektrodenkonfiguration bei $t=0$ s (Referenzspektrum)

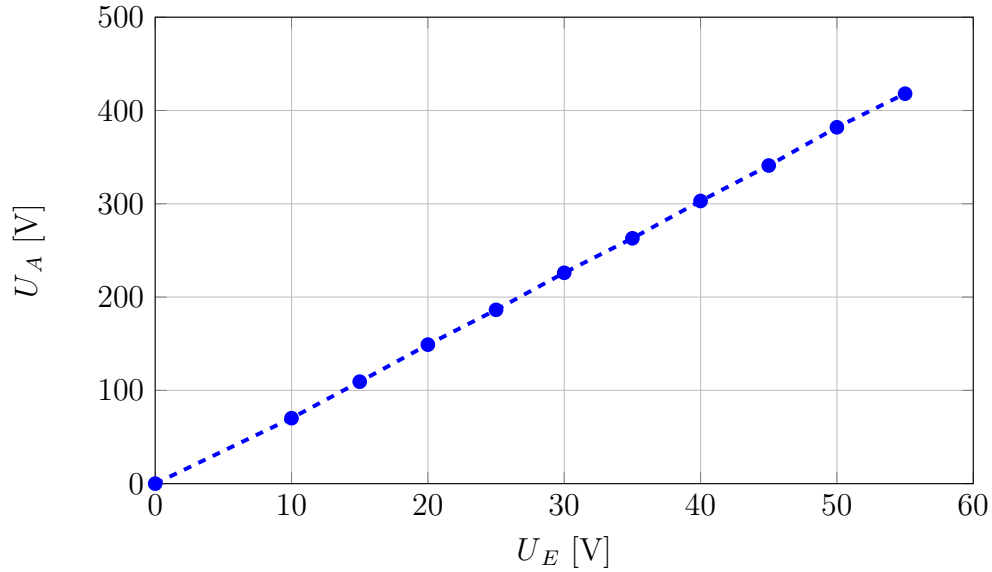
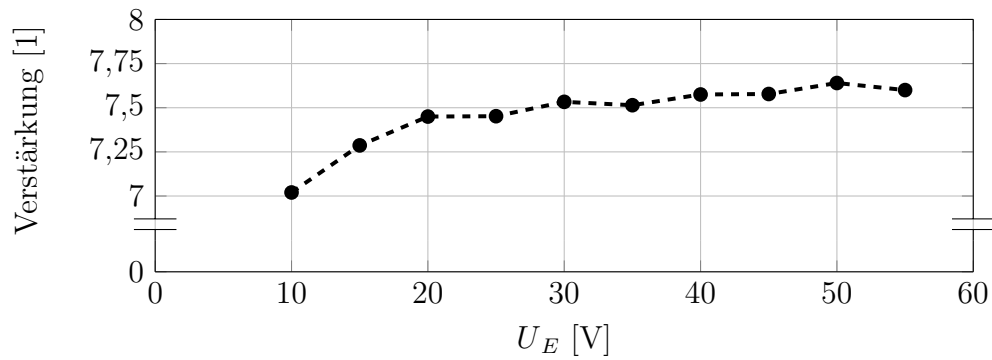
schalten zwischen EWOD- und EIS-Betrieb, die entscheidenden Nachteile gegenüber der weiterentwickelten portablen EWOD-Plattform PortaDrop sind. PortaDrop wird anschließend genauer charakterisiert und die entscheidenden Verbesserungen gegenüber der LabView- und relaisbasierten EWOD-Plattform vergleichend diskutiert.

4.3.1. LabView- und relaisbasierte EWOD-Plattform

Die Erzeugung der Hochspannung, die für das EWOD benötigt wird, erfolgt über eine *Dickson-Chargepump*. Diese erzeugt aus der Eingangsspannung U_E die Ausgangsspannung U_A . Dabei besteht zwischen den beiden Spannungen im unbelasteten Fall ein konstanter Faktor, der sich aus der Anzahl der verbauten Stufen ergibt (vgl. Abbildung 3.8). Dieser Faktor liegt bei der hier verbauten *Dickson-Chargepump* bei 8, wenn keine Verluste z.B. über den verbauten Dioden auftreten würden. Der gemessene Zusammenhang zwischen Eingangsspannung U_E und Ausgangsspannung U_A im unbelasteten Fall und der errechnete Verstärkungsfaktor sind in Abbildung 4.14 aufgetragen.

Zwischen der Eingangsspannung und der Ausgangsspannung der *Dickson-Chargepump* ist ein nahezu linearer Verlauf zu erkennen. Die Verstärkung der Schaltung liegt zwischen 7 und 7,64 und somit unter der theoretischen Verstärkung von 8, da über den Siliziumdioden (vgl. Abbildung 3.8) ein Spannungsabfall in Vorwärtsrichtung auftritt. Dieser hat, relativ gesehen, einen höheren Einfluss bei kleineren Ausgangsspannungen, was dazu führt, dass die resultierende Verstärkung mit zunehmender Spannung leicht ansteigt. Einen erheblichen Nachteil dieser Schaltung stellt die Lastabhängigkeit der Ausgangsspannung dar. Wird der Ausgangskondensator C_A zunehmend belastet, z.B. durch das Anschalten von Pfadelektroden oder die Erhöhung der Frequenz des Rechtecksignals, sinkt die Ausgangsspannung U_A , da die Pumpfrequenz und die Eingangsspannung U_E konstant sind. Eine Regelung der Spannung ist daher nur durch Einstellen der Eingangsspannung möglich und muss manuell vorgenommen werden.

Ein weiterer Nachteil der LabView- und relaisbasierten EWOD-Plattform ist die begrenzte Umschaltgeschwindigkeit der verbauten mechanischen Relais und die verhältnismäßig lange Programmlaufzeit des LabView-Programms zwischen den Aktuierungsschritten. Diese wurde zu 19,3 ms bestimmt und stellt die Laufzeit dar, die zwischen dem Anschalten benachbarter Pfadelektroden unabhängig von der Anschaltdauer dieser liegt. Abbildung 4.15 zeigt das Aufschalten und das Trennen einer exemplarischen Spannung von 20 V mittels der verwendeten Relais. Die Versorgungsspannung der Relais von 12 V wird mittels eines N-Kanal-MOSFETs, dessen Gate über einen Pin an der LabView-Karte NI USB-6501 angesteuert wird, auf die Spule des Relais geschaltet. Der Schaltvorgang wurde mittels eines Oszilloskops aufgezeichnet, wobei Kanal 1 (CH1) mit dem LabView-Pin verbunden ist während Kanal 2 (CH2) an der Sekundär-

(a) Zusammenhang zwischen Eingangsspannung U_E und Ausgangsspannung U_A 

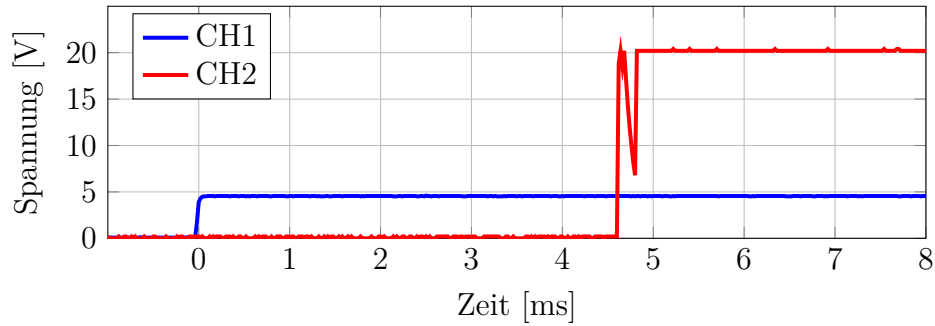
(b) Verstärkungsfaktor

Abbildung 4.14.: Gemessene Ausgangsspannung U_A und der Verstärkungsfaktor der *Dickson-Chargepump* im unbelasteten Fall

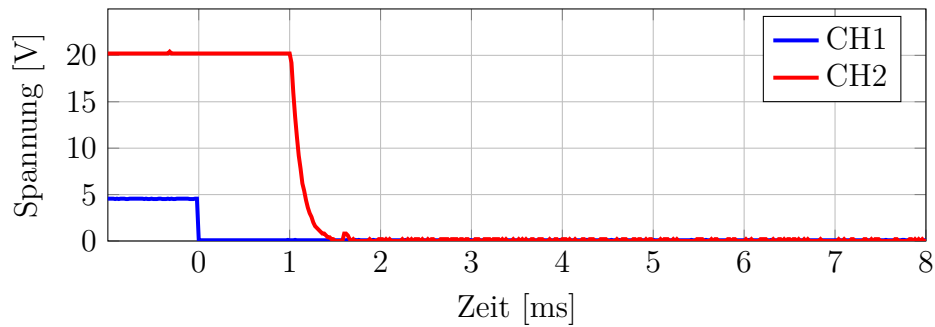
seite des Relais die geschaltete Spannung abgreift.

Beim Durchschalten der Spannung ist ein starkes Prellen zu beobachten (vgl. Abbildung 4.15(a)). Das führt dazu, dass die gewünschte Spannung nur zeitweise anliegt. Erst 4,82 ms nach dem Umschalten des Transistors stellt sich eine stabile Spannung hinter dem Relais ein. Des Weiteren ist ein Zeitversatz zwischen der Änderung des Steuersignals am Pin der LabView-Karte und der initialen Reaktion des Relais von etwa 4,6 ms zu erkennen. Abbildung 4.15(b) zeigt das Trennen der angelegten Spannung. Deutlich zu erkennen ist, dass das Relais bei diesem Schaltvorgang nicht so stark prellt. Die Verzögerung zwischen dem Steuersignal und der Reaktion des Relais ist mit 1 ms etwas kürzer als beim Aufschalten der Spannung.

Die LabView- und relaisbasierte EWOD-Plattform hat somit den Nachteil, dass die Bewegung der Tropfen durch die Laufzeiten der Software, die Ansprechzeit der mecha-



(a) Spannung durchschalten



(b) Spannung trennen

Abbildung 4.15.: Schaltvorgang eines Relais

nischen Relais und das relaisbedingte Prellen deutlich limitiert ist. Addiert man die Laufzeit der Software von 19,3 ms mit 4,82 ms, d.h. der Zeit, nachdem sich eine stabile Spannung am Relais einstellt, erhält man mit 24,12 ms die kürzeste zeitliche Verzögerung bei der Ansteuerung einer Pfadelektrode. Selbst bei einer unendlich schnellen Bewegung des Tropfens über eine dieser Pfadelektroden mit der Länge 1,3 mm und dem Abstand zwischen zwei Pfadelektroden von 40 μm ergibt sich eine maximal erreichbare Geschwindigkeit v der LabView- und relaisbasierten EWOD-Plattform von

$$v = \frac{s}{\Delta t} = \frac{1,3 \text{ mm} + 40 \mu\text{m}}{24,12 \text{ ms}} \approx 55,6 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1} \quad (4.1)$$

wobei s die Wegstrecke und Δt die Zeitdifferenz sind. Diese Geschwindigkeit ist jedoch in der Praxis nicht zu erreichen, da erst nach der errechneten und für die Berechnung zu Grunde liegenden Zeitdifferenz $\Delta t=24,12 \text{ ms}$ eine stabile Spannung zwischen Pfadelektrode und Gegenelektrode anliegt und erst dann die volle Kraftwirkung auf den Tropfen einsetzt.

4.3.2. Portable EWOD-Plattform „PortaDrop“

In der portablen EWOD-Plattform PortaDrop wird zur Spannungserzeugung ein *Boost-Converter* anstelle der *Dickson-Chargepump* verwendet (vgl. Kapitel 3.3). Die Steuer-

größe des verwendeten P-Reglers ist der *duty cycle* des PWM-Signals am Transistor des *Boost-Converters*. Die Ausgangsspannung des *Boost-Converters* kann somit über die Rückkopplung der geschlossenen Regelschleife gemessen und über den Regler, der auf dem attiny45 Mikrocontroller implementiert ist, angepasst werden. Ein zeitliches Profil der Ausgangsspannung U_{aus} des *Boost-Converters* ist in Abbildung 4.16 dargestellt. Dabei wurden nacheinander die Sollspannungswerte von 30 V, 50 V, 150 V, 100 V, 200 V, 30 V und 100 V an den Spannungsregler durch ein Rezept übertragen und abschließend der *Boost-Converter* ausgeschaltet. Das Rezept wurde drei Mal unabhängig voneinander ausgeführt und die Ausgangsspannung des unbelasteten *Boost-Converters* mittels eines Oszilloskops gemessen.

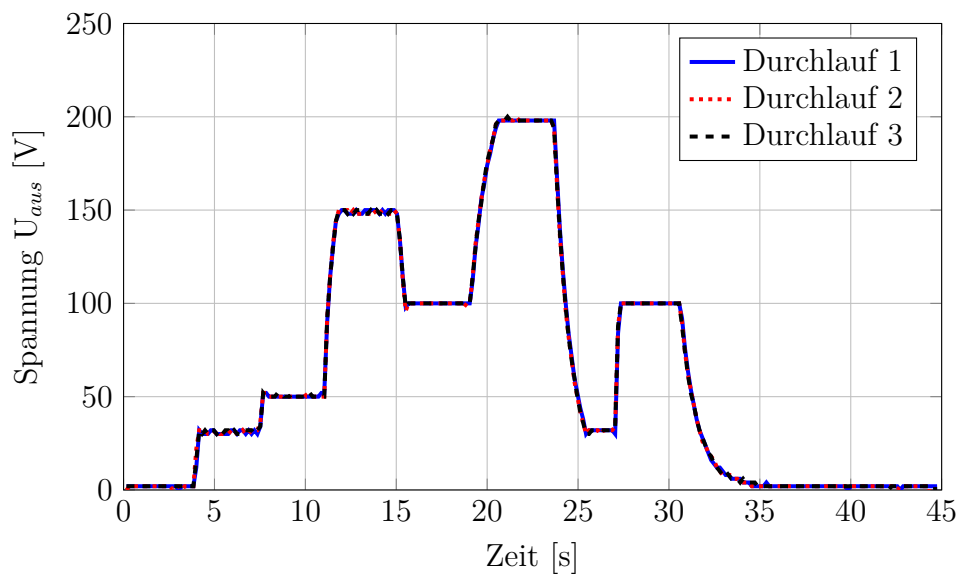


Abbildung 4.16.: Ausgangsspannungsprofil des *Boost-Converters*

Deutlich zu erkennen ist eine große zeitliche Übereinstimmung. Dies hat unter anderem damit zu tun, dass die Regelung aus der auf dem Raspberry Pi implementierten Software ausgelagert und auf dem attiny45 Mikrocontroller implementiert ist. Dadurch hat eine eventuelle Auslastung des Betriebssystems keinen Einfluss auf die Regelung der Ausgangsspannung. Dabei ist die Änderung des PWM-Steuersignals über einen *Timer Interrupt* implementiert, sodass auch auf der Seite des Mikrocontrollers eine Ansteuerung in Echtzeit unabhängig von der Belegung des *Call-Stacks* gewährleistet wird. Die Sollwerte werden nach kurzer Zeit erreicht. Beim Erhöhen der Spannung wird der *duty cycle* des PWM-Signals auf maximal 80 % erhöht. Eine weitere Erhöhung ist nicht sinnvoll, da die Induktivität ansonsten zu wenig Zeit hat, ihre Energie über die Diode in die Ausgangskapazität abzugeben. Das Entladen auf eine niedrigere Spannung wird durch ein kurzzeitiges Einschalten des Entladenetzwerks beschleunigt (vgl. Abbildung 3.15), da ein Entladen über die angeschlossene Last eine deutlich höhere

Zeitkonstante aufweist. Im Gegensatz zu der *Dickson-Chargepump* besitzt PortaDrop somit die Möglichkeit, einen Sollwert für die Spannung vorzugeben, der unabhängig von der Last über die geschlossene Regelschleife konstant gehalten wird.

Die über den *Boost-Converter* erzeugte Spannung wird für den EWOD-Betrieb an die H-Brücke geschlossen, um AC-EWOD zu ermöglichen (vgl. Kapitel 3.3). Die resultierende Ausgangsspannung der H-Brücke ist in Abbildung 4.17 für Spannungen zwischen 50 V und 200 V bei einer Frequenz von 10 Hz gezeigt. Die angelegte DC-Spannung wird über die verbauten Relais von einer externen Spannungsquelle eingespeist. Die Messungen wurden mittels eines Oszilloskops (Eingang: $R_{Ein}=1\text{ M}\Omega$, $C_{Ein}=18\text{ pF}$) und einem angeschlossenen Vorwiderstand von $9\text{ M}\Omega$ aufgenommen.

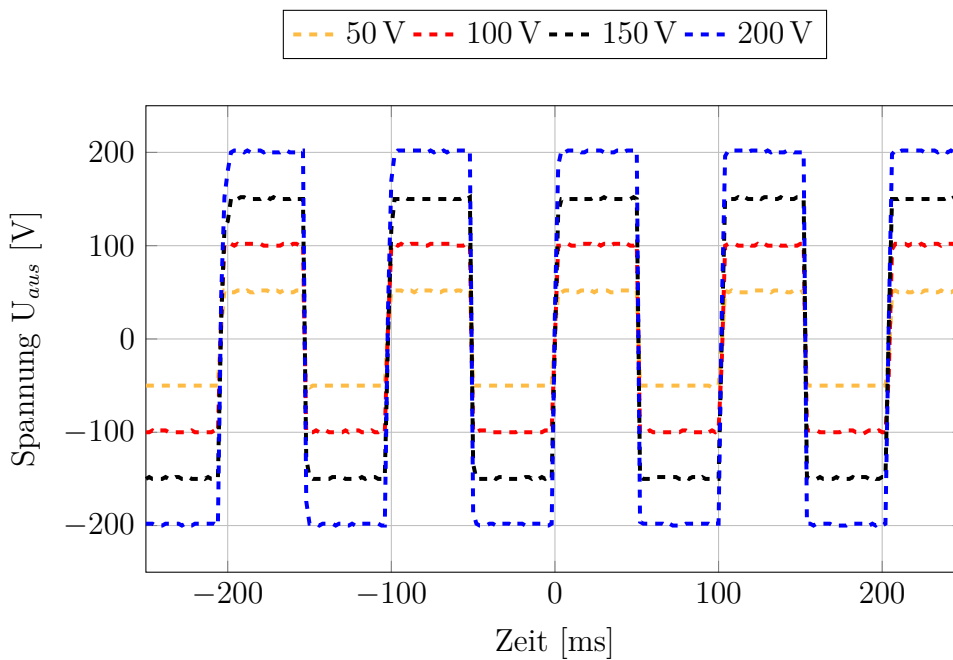


Abbildung 4.17.: Ausgangsspannung der H-Brücke

Abbildung 4.17 ist zu entnehmen, dass die angeschlossene DC-Spannung mit der eingestellten Frequenz moduliert wird. Die verhältnismäßig niedrige Frequenz von 10 Hz wurde gewählt, da durch den Eingang des Oszilloskops und den angeschlossenen Spannungsteiler eine Zeitkonstante $\tau=R\cdot C=10\text{ M}\Omega\cdot 18\text{ pF}=0,18\text{ ms}$ entsteht und die Charakteristik des Rechtecksignals verzerrt. Die Zeitkonstante der gemessenen Flanke wurde zu $0,19\text{ ms}$ bestimmt. Daraus ist zu entnehmen, dass die Laufzeit hauptsächlich durch die angeschlossene Last des Oszilloskops zustande kommt. Für den Einsatz im EWOD-Betrieb sind somit deutlich höhere Frequenzen möglich, wobei als begrenzende Größe dabei die Kapazität der angeschalteten Pfadelektrode mit der Gegenelektrode existiert. Die Ansteuerung der Pfadelektroden erfolgt über das in Abbildung 3.13 gezeigte *Pull-Down*- und *Pull-Up*-Netzwerk (vgl. Kapitel 3.3). Im ausgeschalteten Zustand wird

die Pfadelektrode auf das Potential der Gegenelektrode AC- gezogen. Soll ein Tropfen bewegt werden, wird durch das Umschalten des Potentials auf AC+ eine Spannung zwischen Pfadelektrode und Gegenelektrode erzeugt, die der Ausgangsspannung der H-Brücke entspricht. Abbildung 4.18 zeigt die Ansteuerung einer Pfadelektrode mit einem Hochspannungsrechtecksignal mit 150 V Amplitude und einer Frequenz von 10 Hz. Dabei ist die DC-Eingangsspannung der H-Brücke die Ausgangsspannung des *Boost-Converters*. Die Pfadelektrode wird dabei jede 500 ms an- bzw. ausgeschaltet.

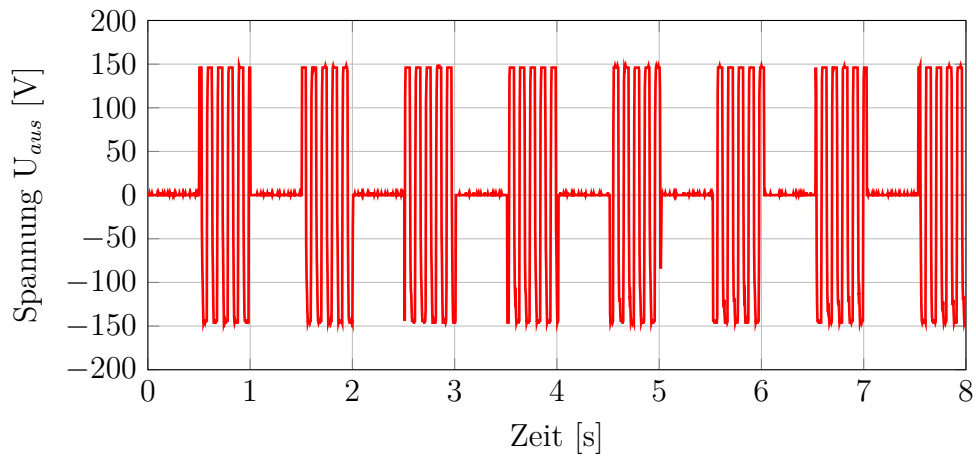


Abbildung 4.18.: Ansteuerung einer Pfadelektrode mit bipolarem Hochspannungsrechtecksignal

Es ist abwechselnd eine Spannung U_{aus} von 0 V und dem gewünschten Rechtecksignal ($\hat{U}_{aus}=150\text{ V}$ und $f=10\text{ Hz}$) zu erkennen. Entscheidend hierbei ist, dass die Ausgangsspannung des *Boost-Converters* im Anschaltmoment nicht einbricht, damit im EWOD-Betrieb die gewünschte Spannung, die zur Bewegung eines Tropfens benötigt wird, exakt und ohne große zeitliche Verzögerung an den Pfadelektroden anliegt.

4.3.3. Reproduzierbarkeit des active dispensings

Eine wichtige Anforderung an eine EWOD-Plattform ist die Möglichkeit, reproduzierbar Tropfen mit einem Volumen im nL-Bereich zu erzeugen. Dies geschieht mittels *active dispensing* aus einem Reservoir auf dem Bodenchip. Zur Erzeugung von Einheitstropfen, die genau den Bereich einer Pfadelektrode bedecken, wird ein Aktuierungssignal mit der Frequenz $f=10\text{ Hz}$ und der Spannungsamplitude $\hat{U}=200\text{ V}$ verwendet. Die Dicke der Parylene C-Schicht des verwendeten Bodenchips beträgt $4,95\text{ }\mu\text{m}$. Ein $5\text{ }\mu\text{L}$ Tropfen DI-Wasser wird mittels einer Eppendorf-Pipette in ein Reservoir geladen und der Deckelchip mit einem Abstandshalter aus Parafilm-M auf dem Bodenchip fixiert. Somit wird der Abstand der beiden Chips auf $130\text{ }\mu\text{m}$ eingestellt. Die

Erzeugung des Tropfens wird in zwei Schritten mit jeweils einer Anschaltdauer von $t_{an}=1000$ ms durchgeführt, dessen Muster in Abbildung 4.19 dargestellt ist. Dabei entspricht ein grün eingezeichnetes Feld einer angeschalteten und ein schwarzes Feld einer ausgeschalteten Elektrode.

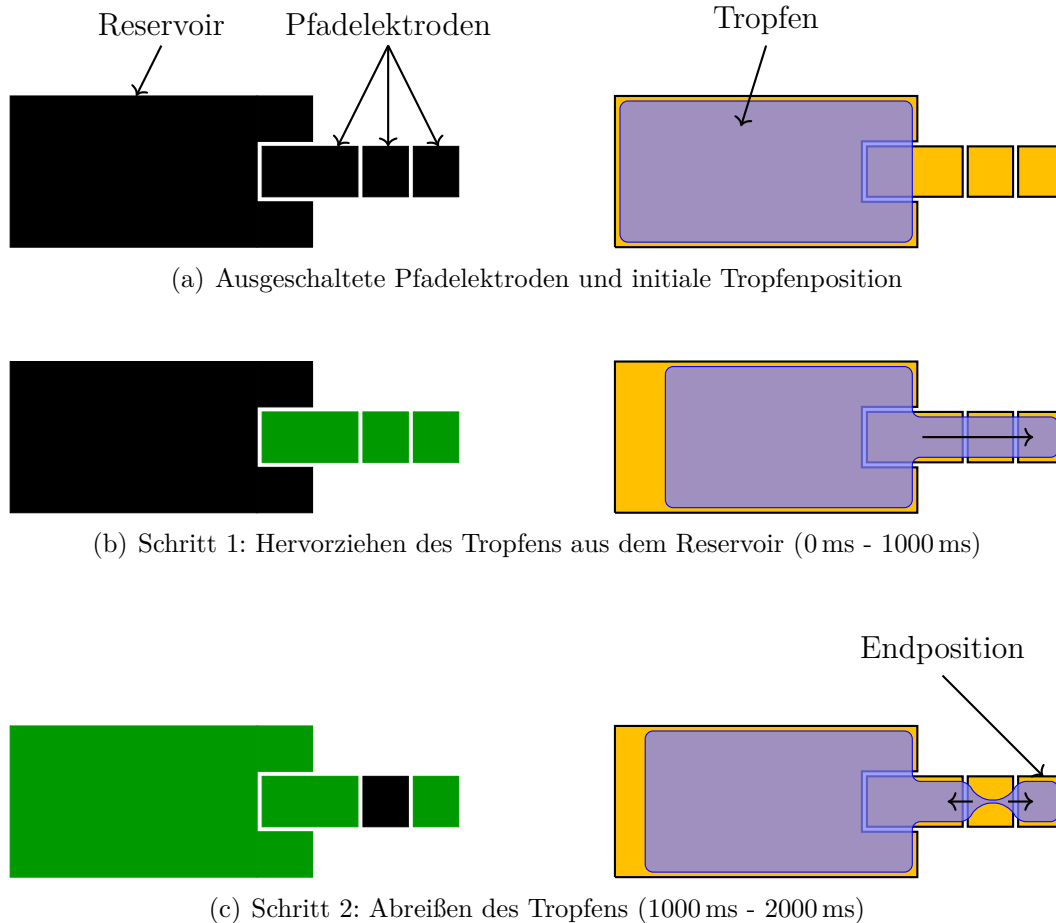
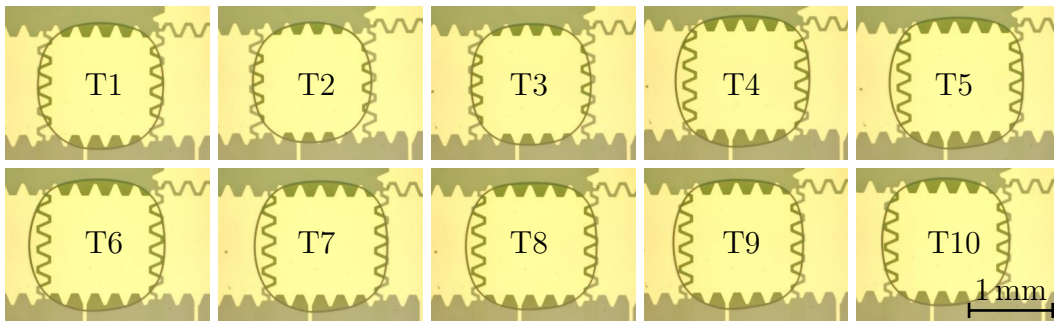


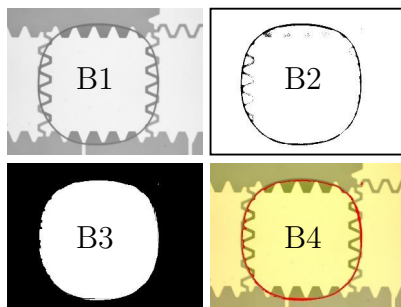
Abbildung 4.19.: Schematischer Ablauf des *active dispensings*

Zunächst befindet sich der Tropfen im Reservoir und alle Pfadelektroden sind deaktiviert (vgl. Abbildung 4.19(a)). Im ersten Schritt (vgl. Abbildung 4.19(b)) wird der sich im Reservoir befindliche Tropfen in die Länge gezogen. Dazu werden die längliche Pfadelektrode und zwei weitere Pfadelektrode angeschaltet. Der Tropfen formt eine, aus dem Reservoir hervorstehende, Zunge aus. Im nächsten Schritt wird die Pfadelektrode, auf der der erzeugte Tropfen verbleiben soll, und das Reservoir samt der länglichen Pfadelektrode angeschaltet. Eine Elektrode unter dem Tropfen bleibt deaktiviert, um eine Krafteinwirkung in Richtung des Reservoirs und eine Kraft in Richtung der Zielelektrode (Endposition) sicherzustellen. Die Zunge wird somit über der in Abbildung 4.19(c) schwarz eingezeichneten Elektrode getrennt. Die lange Pfadelektrode vor dem Reservoir stellt dabei sicher, dass der im Reservoir verbleibende Tropfen sich nicht komplett zurückzieht und somit nachfolgend nicht mehr aktuiertbar ist. Zur Be-

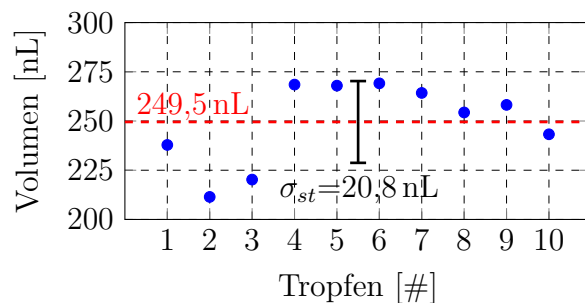
stimmung der Reproduzierbarkeit des erzeugten Tropfenvolumens wurden 10 Tropfen (T1-T10) einzeln erzeugt und jeweils im Lichtmikroskop untersucht. Aus den aufgenommenen Bildern wurde anschließend mittels einer in Matlab entwickelten Bildverarbeitung die Tropfengrenzen extrahiert und eine Bestimmung der jeweiligen Volumina durchgeführt. Dazu wird das Originalbild zunächst in Graustufen umgewandelt (B1, vgl. Abbildung 4.20(b)). Deutlich zu erkennen ist, dass der Rand des Tropfens eine dunklere Farbe als die Umgebung aufweist. Daher wird in einem weiteren Schritt eine Schwellwertfilterung angewendet, um die Kontur des Tropfens zu verstärken (B2). Das so erzeugte Bild wird in einem nächsten Schritt in ein Schwarz/Weiß-Bild umgewandelt, indem die Bereiche im Inneren des Tropfens weiß und die Bereiche außerhalb des Tropfens schwarz eingefärbt werden (B3). Aus diesem Bild wird die zweidimensional projizierte Fläche des Tropfens in Pixeln bestimmt (Anzahl weißer Pixel), die anschließend über eine bekannte Länge im Bild, wie z.B. die Länge einer Elektrode, in eine Fläche umgerechnet wird. Final wird der Rand des Tropfens als rote Kontur in das Originalbild eingefügt (B4). Abbildung 4.20 zeigt die Aufnahmen der einzelnen 10 Tropfen und die einzelnen Schritte der Bildverarbeitung am Beispiel von Tropfen T1. Außerdem sind alle berechneten Tropfenvolumina und deren statistische Auswertung dargestellt.



(a) Mikroskopfotografien der 10 individuell erzeugten Tropfen



(b) Ablauf der Bildverarbeitung



(c) Tropfenvolumina

Abbildung 4.20.: Bestimmung der Volumina einzelner durch *active dispensing* erzeugter Tropfen

Optisch sind lediglich geringe Abweichungen in der Größe der Tropfen zu beobachten (vgl. Abbildung 4.20(a)). Genauere Werte liefert hingegen die Bildauswertung (vgl. Abbildung 4.20(b)). Das Volumen des Tropfens wird durch Multiplikation der erhaltenen Fläche mit der Höhe des Abstandshalters von 130 μm berechnet und ist für alle 10 Tropfen in Abbildung 4.20(c) aufgetragen. Im Mittel ergibt sich ein Volumen $\bar{V}$ von 249,5 nL bei einer Standardabweichung $\sigma_{st}=20,8$ nL. Die relative Standardabweichung σ_{rel} ergibt sich zu:

$$\sigma_{rel} = \frac{\bar{V}}{\sigma_{st}} = 8,3\% \quad (4.2)$$

Die verwendete Elektrodengeometrie zur Tropfenerzeugung (vgl. Abbildung 4.19) ist nach Nikapitiya et al. als konventionell anzusehen [103, 251]. Dabei ist die zugrunde liegende Form aller Elektroden rechteckig. In konventionellen Anordnungen wird ein Tropfenabriss durch eine oder mehrere ausgeschaltete Elektroden in der Mitte des aus dem Reservoir herausgezogenen Tropfens und gleichzeitigem Anschalten von Elektroden an der Spitze des herausgezogenen Reservoiertropfens erreicht. Dabei hat sich gezeigt, dass relative Fehler größer 31 % auftreten können [103]. Nikapitiya et al. stellen eine TCC-Elektrodenanordnung vor, bei denen der relative Fehler auf 3,7 % bis 0,083 % gesenkt werden kann. Ren et al. stellen ähnliche Ergebnisse vor und zeigen für eine konventionelle Elektrodengeometrie eine Reproduzierbarkeit im Tropfenvolumen von $\pm 13\%$ [252]. Um eine genauere Dosierung zu erreichen, wird eine alternative Möglichkeit vorgestellt, die auf einer Messung der Impedanz des befüllten Pads beruht. Mittels der Rückführung dieser Messgröße wird eine Reproduzierbarkeit $\pm 1,2\%$ erreicht. Generell gilt, dass beim *active dispensing* eine größere Abweichung der erzeugten Tropfenvolumina als beim *passive dispensing* vorliegt (vgl. Kapitel 4.3.5) [37]. Abschließend ist festzuhalten, dass mit der entwickelten portablen EWOD-Plattform PortaDrop (vgl. Kapitel 3.3) reproduzierbare Tropfengrößen auf dem Chip erzeugt werden können und anschließend für eine weitere Aktuierung bereit stehen.

4.3.4. Tropfenbewegung

Die bedeutendste Anforderung an eine EWOD-Plattform ist die Fähigkeit, Tropfen mittels Anlegen elektrischer Spannungen zu bewegen. Aufgrund der kapazitiven Einkopplung der Spannung ist die Wahl des Dielektrikums über den Pfadelektroden von entscheidender Bedeutung. Parylene C und Aluminiumoxid wurden als Dielektrikum näher untersucht. Die Erzeugung der benötigten AC-Spannung in der portablen EWOD-Plattform PortaDrop wurde bereits diskutiert (vgl. Kapitel 4.3.2). Zur Tropfenaktuierung wird die Amplitude der Aktuierungsspannung variiert. Die Frequenz des Hochspannungsrechtecksignals beträgt $f=100$ Hz. Für jede eingestellte Spannungsamplitude

$\hat{U}$ wird die Zeit, die eine Pfadelektrode angeschaltet ist, verringert bis der Tropfen dem über ein Rezept vorgegebenen Pfad von 24 Elektroden nicht mehr folgen kann. Zur effizienten Bestimmung der kleinst möglichen Zeit wird nach dem Teile-und-herrsche-Verfahren vorgegangen. Kann der Tropfen z.B. einer Anschaltdauer von 1000 ms folgen, so wird als nächstes überprüft, ob er einer Anschaltdauer von 500 ms (Mittelwert des betrachteten Intervalls) folgen kann, wobei als untere Grenze zunächst 0 ms angesetzt wird. Die Grenzen des Intervalls werden dann iterativ eingeschränkt, wobei jedes Mal lediglich die Entscheidung zu treffen ist, ob der Tropfen der eingestellten Geschwindigkeit folgen kann oder nicht. Diese Entscheidung führt zur Anpassung der oberen bzw. unteren Intervallgrenze und wird solange vorgesetzt, bis die Breite des Intervalls 1 ms beträgt. Die letzte Anschaltzeit, der der Tropfen über alle Pfadelektroden folgen kann, wird zur Berechnung der maximalen Geschwindigkeit v_{max} verwendet. Diese ergibt sich über die Anschaltzeit t_{an} und die Länge einer Elektrode (1,3 mm) sowie deren Abstand zur Nachbarelektrode (40 μm) zu:

$$v_{max} = \frac{l}{t_{an}} = \frac{1,3 \text{ mm} + 40 \mu\text{m}}{t_{an}} = \frac{1,34 \text{ mm}}{t_{an}} \quad (4.3)$$

Der vorgegebene Pfad folgt der Form einer Acht (vgl. Abbildung B.1), wobei der Tropfen ausgehend von der Pfadelektrode in der Mitte zwischen R1 und R2 zur Mitte zwischen R5 und R6, in Richtung R6, R4 und R3 und anschließend über die Pfadelektrode vor R1 zurück zum Ausgangspunkt verläuft. Die verwendete Dicke des Dielektrikums beträgt 4,95 μm (Parylene C) bzw. 200 nm (Al_2O_3) und die Dicke der abschließenden hydrophoben Teflonschicht jeweils etwa 50 nm. Der Boden- und der Deckelchip sind durch einen 130 μm dicken Abstandshalter aus Parafilm-M getrennt. Abbildung 4.21 zeigt den Verlauf der maximalen Geschwindigkeit v_{max} eines DI-Wassertropfens über der angelegten Spannung $\hat{U}$.

Bei beiden Dielektrika muss zunächst eine Schwellspannung ($\approx 100 \text{ V}$ für Parylene C) überschritten werden, da zunächst die systemimmanenten Reibungs- und Trägheitskräfte überwunden werden müssen [6]. Bei Spannungen, die größer als die Schwellspannung sind, kann der Tropfen transportiert werden. Festzuhalten ist, dass in Abbildung 4.21 die gemittelte Tropfengeschwindigkeit über die komplette Pfadelektrode aufgetragen ist. Die tatsächliche Geschwindigkeit des Tropfens ändert sich während eines Aktuierungsschrittes stetig. So wird der Tropfen zunächst nur auf der Seite der aktivierten Pfadelektrode beschleunigt. Erst anschließend wird das Ende des Tropfens hinterhergezogen [102, 253]. Bei der maximalen mittleren Geschwindigkeit ist zunächst ein parabolischer Anstieg mit zunehmender Spannung zu erkennen, der auf die quadratische Abhängigkeit zur elektrischen Spannung des EWOD-Effektes über die Young-Lippmann-Gleichung (vgl. Gleichung 2.6) zurückzuführen ist [5, 102, 254, 255]. Bei

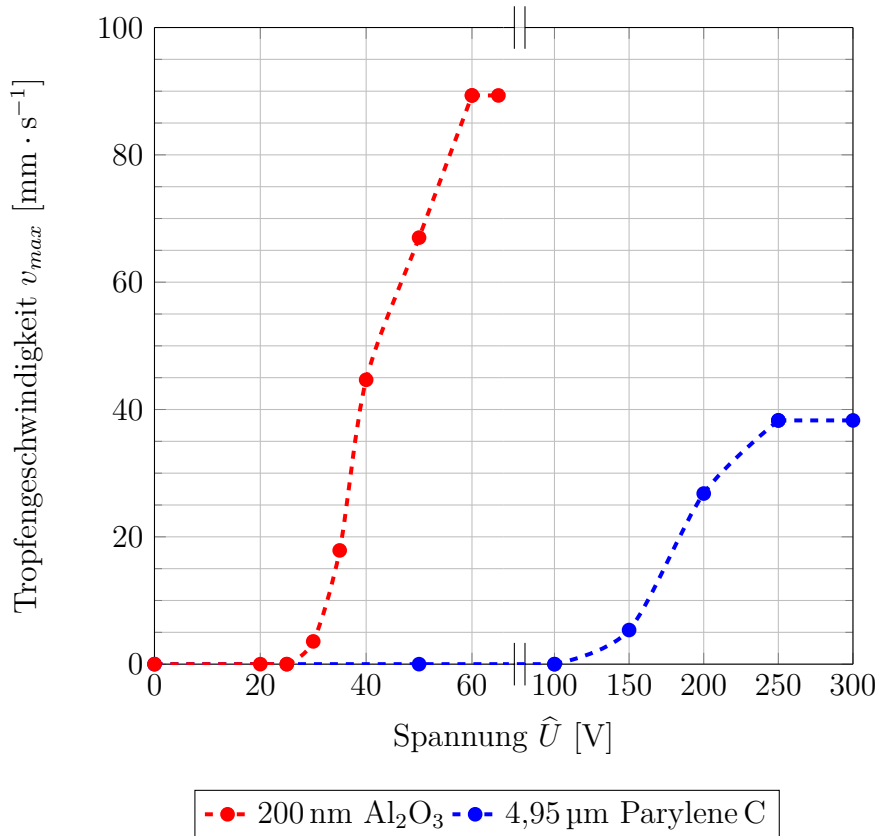


Abbildung 4.21.: Maximale Tropfengeschwindigkeit über der angelegten Spannung bei einer Aktuierungsfrequenz von 100 Hz für zwei verschiedene dielektrische Schichten

größeren Spannungen flacht die Kurve ab und es erfolgt keine weitere Zunahme der Geschwindigkeit, da die sogenannte Kontaktwinkelsättigung einsetzt [22, 23, 77, 81–84, 107, 256]. Die maximal erreichte Geschwindigkeit beträgt $38,3 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$ für Parylene C als Dielektrikum.

Beim Einsatz von Aluminiumoxid als Dielektrikum besteht die Möglichkeit dünnerer Schichten mit hoher relativen Permittivität. Nach der Young-Lippmann-Gleichung (vgl. Gleichung 2.6) ist damit bei deutlich kleinerer Spannung eine gleiche Änderung des Kontaktwinkels erzielbar (vgl. Kapitel 3.1.1.1). Entsprechend bewegt sich der Tropfen schon bei Spannungen größer 25 V. Zusätzlich ist davon auszugehen, dass die Al₂O₃-Schicht eine geringere Oberflächenrauigkeit als Parylene C aufweist. Dadurch wird die Rückstellkraft des Tropfens in Form von Reibung weiter reduziert. Auch beim Einsatz von Al₂O₃ als Dielektrikum ist zunächst ein parabolischer Verlauf gefolgt von einem Abflachen der Kurve bei höheren Spannungen zu erkennen, das ebenfalls auf die Kontaktwinkelsättigung zurückzuführen ist. Die maximale Tropfengeschwindigkeit ist bei 60 V erreicht und beträgt $v=89,3 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$. Erwähnenswert ist hierbei, dass diese Geschwindigkeit nur durch den Einsatz der portablen EWOD-Plattform PortaDrop

erzielt werden kann, da die theoretisch maximale Geschwindigkeit der LabView- und relaisbasierten Plattform lediglich bei $55,6 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$ liegt (vgl. Kapitel 4.3.1). Weiterhin festzuhalten ist, dass die Schaltzeiten von PortaDrop nicht den Engpass für schnellere Tropfenbewegungen darstellen, sodass die maximal mögliche Geschwindigkeit durch die verwendeten Oberflächen sowie die Trägheit des Tropfens begrenzt wird.

Die erreichte maximale Tropfengeschwindigkeit von $v=89,3 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$ ist vergleichsweise hoch. Fobel et al. haben bei ihrem System *DropBot* eine maximale Spitzengeschwindigkeit von $80 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$ beschrieben [113]. Diese wurde auf einem Bodenchip mit dem Dielektrikum Parylene C erreicht. Im Gegensatz zu den Ergebnissen von Fobel et al., ist im Rahmen dieser Arbeit die gemittelte Geschwindigkeit über einen Pfad von 24 Elektroden gemessen worden, der einige 90° Kurven enthält (vgl. Abbildung B.1 im Anhang). Es ist davon auszugehen, dass mit PortaDrop weitaus höhere Spitzengeschwindigkeiten des Tropfens erreicht werden können. Diese treten mit kurzer Verzögerung unmittelbar nach dem Anschalten einer benachbarten Pfadelektrode auf. PortaDrop ist somit eine portable EWOD-Plattform, die hohe Tropfengeschwindigkeiten erlaubt und deren Software und Hardware keine begrenzende Größe für die minimal möglichen Schaltzeiten darstellt.

4.3.5. Passive dispensing

In der portablen EWOD-Plattform PortaDrop besteht die Möglichkeit, EIS-Messungen durchzuführen. Es können externe Impedanzmessgeräte angeschlossen oder der interne Potentiostat EmStat pico verwendet werden. Diese Funktionalität wird im Folgenden untersucht. Dazu wird zum ersten Mal der Medienaustausch im *virtual microwell* während des *passive dispensings* mittels EIS untersucht [257]. Im Deckelchip wird das IDE-Design mit $5 \mu\text{m}$ Fingerbreite sowie $5 \mu\text{m}$ Fingerabstand verwendet (vgl. Kapitel 3.1.2.2). Der Durchmesser des hydrophilen Bereiches beträgt bei dem verwendeten Deckelchip $520 \mu\text{m}$. Boden- und Deckelchip befinden sich in einem Abstand von $130 \mu\text{m}$. Der Vorgang des *passive dispensings* beschreibt das Füllen und den Austausch von Flüssigkeitssäulen unter einem hydrophilen Bereich im Deckelchip [34–37, 52, 105, 124, 125, 208, 258]. Abbildung 4.22 zeigt den schematischen Ablauf.

Der Tropfen wird zunächst von einer Startposition (Abbildung 4.22(a)) durch Ansteuerung benachbarter Pfadelektroden bewegt. Dadurch verringert sich der Kontaktwinkel (Abbildung 4.22(b)) und der Tropfen bewegt sich auf die benachbarte Elektrode (Abbildung 4.22(c)). Mittels dieses Ansteuerungsmusters wird der Tropfen über die kreisförmig strukturierte hydrophobe Fläche im Deckelchip gezogen. An der hydrophilen Fläche reißt der Tropfen ab. Es bildet sich eine Flüssigkeitssäule und das restliche Volumen des Tropfens wird weiter transportiert (Abbildung 4.22(d)).

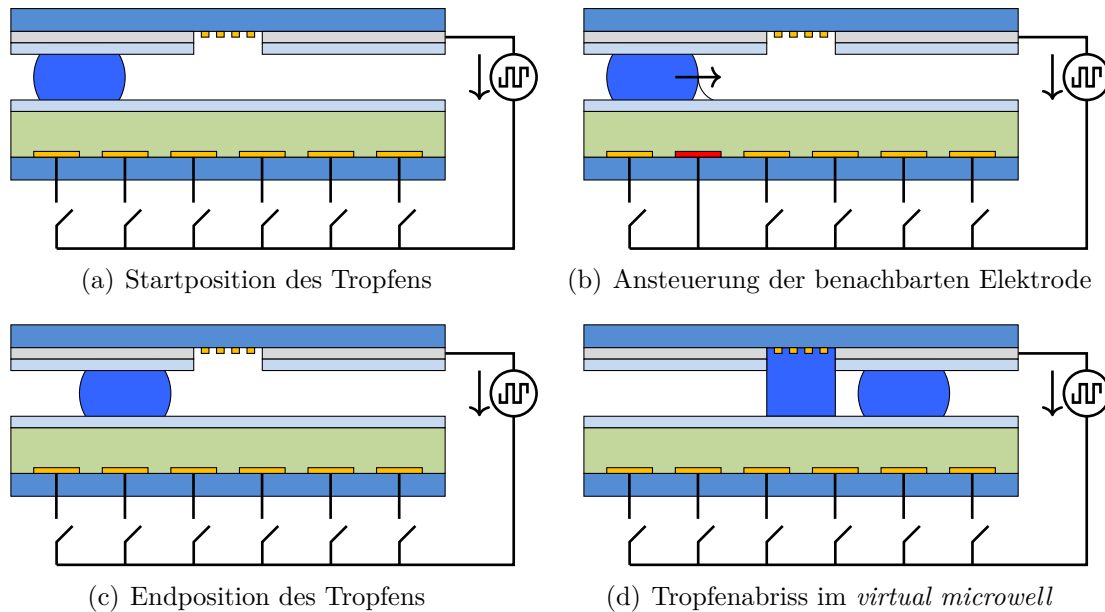


Abbildung 4.22.: Schematischer Ablauf des *passive dispensings*

Für den Versuch wird ein Bodenchip mit Parylene C der Dicke $4,95\ \mu\text{m}$ als Dielektrikum verwendet. Die verwendete Aktuierungsspannung hat eine Amplitude von $\hat{U}=150\ \text{V}$ und eine Frequenz von $f=10\ \text{Hz}$. Zunächst wird ein Tropfen phosphat-gepufferte Salzlösung (PBS) mittels EWOD zum EIS-Sensor aus Kapitel 3.1.2.2 gebracht und bildet eine Säule im *virtual microwell* aus. Dieser Tropfen wird im Folgenden mit der Kennziffer „0“ bezeichnet. Man spricht bei dem vorliegenden Vorgang vom sogenannten „trockenen“ *passive dispensing*, da das *virtual microwell* zum Zeitpunkt der Befüllung leer ist [37]. Anschließend werden nacheinander einzelne Tropfen (1-5) DI-Wasser über die Elektrode geführt, sodass der Inhalt des *virtual microwells* verändert wird. Dieser Austauschprozess wird „nasses“ *passive dispensing* genannt, da das *virtual microwell* bereits mit Medium gefüllt ist [37]. Nach jedem Tropfen wird ein Impedanzspektrum von $50\ \text{Hz}$ bis $1\ \text{MHz}$ aufgenommen. Insgesamt wird dieser Versuch 10 mal durchgeführt (V1-V10). Die aufgenommenen Spektren für Versuch V1 sind exemplarisch Abbildung 4.23 zu entnehmen. Da die Änderung der Spektren mehrere Größenordnungen höher als der Einfluss der Drift ist, wurde das Einzelspektrum sofort nach dem Medien austausch aufgenommen. Nach der Messung wurde der nächste Tropfen unmittelbar zum *virtual microwell* geführt.

Im Bereich niedriger Frequenzen zeigt sich ein kapazitiver Verlauf für alle Messungen, der die EDL repräsentiert. Dagegen bildet sich im Bereich mittlerer bis höherer Frequenzen ein resistives Plateau aus. Der Absolutbetrag der Impedanz in diesem Bereich ist maßgeblich durch die elektrische Leitfähigkeit der Lösung bestimmt und sinkt in Elektrolyten mit zunehmender Salzkonzentration [169, 170]. Deutlich zu erkennen

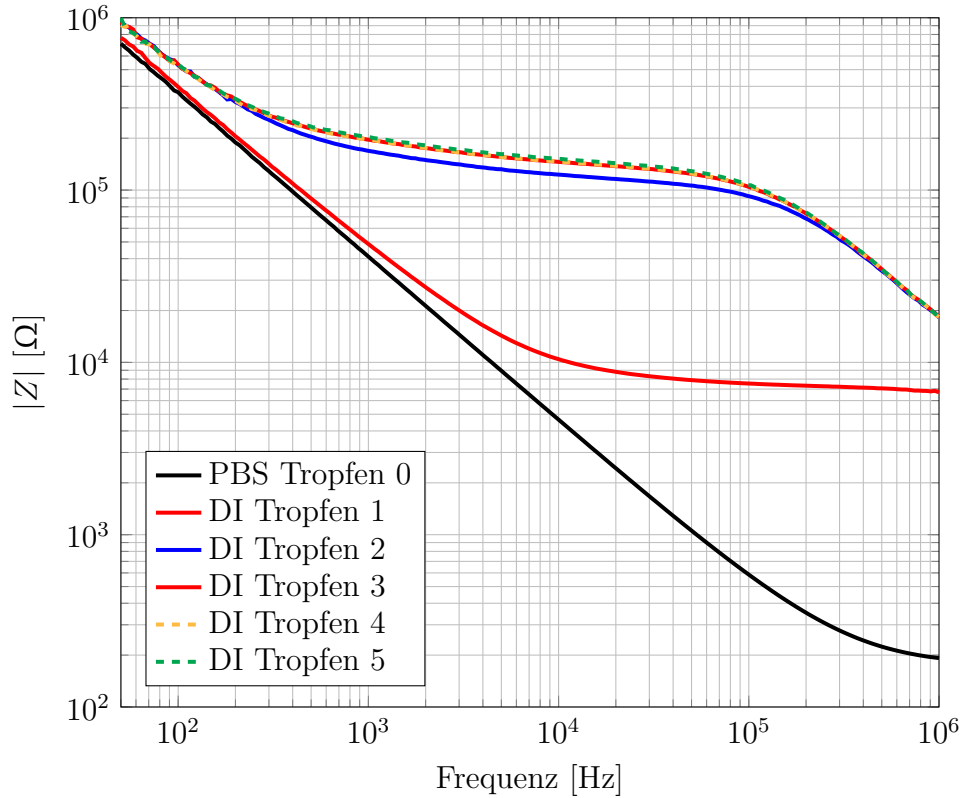


Abbildung 4.23.: Medien austausch beim *passive dispensing* mit simultaner EIS-Messung am Beispiel von Versuch V1

ist, dass der Frequenzbereich, in der die Lösung resistives Verhalten zeigt, bei den verschiedenen Spektren unterschiedlich ist. Ein Punkt, an dem alle Lösungen (zumindestens annähernd) resistives Verhalten zeigen, liegt bei $f=205$ kHz. Für eine genauere Auswertung werden die Spektren an ein ESB gefittet, das den Elektrode/Elektrolyt-Übergang modelliert. Das verwendete ESB ist in Abbildung 4.24 skizziert und besteht aus einem CPE, das die EDL modelliert, einem Lösungswiderstand R_{SOL} bzw. dem Lösungsleitwert G_{SOL} und einem Kondensator C_{DI} , der parasitäre Effekte im Bereich hoher Frequenzen repräsentiert (vgl. Kapitel 4.2) [170, 213]. Diese parasitären Effekte sind in der vorliegenden Messung auf die dielektrischen Eigenschaften der salzhaltigen Lösungen zurückzuführen, da bei hohen Frequenzen die Salzionen dem elektrischen Feld nicht mehr folgen können. Die elektrische Antwort der Lösung entspricht im Bereich hoher Frequenzen der von DI-Wasser mit der relativen Permittivität $\epsilon_r=80$ bei Raumtemperatur [259]. Einen zusätzlichen Beitrag zu den parasitären Effekten trägt der Messaufbau bei. Generell basiert das ESB auf den Überlegungen aus Kapitel 4.2.1.2. Es ist jedoch wichtig zu erwähnen, dass jedes ESB immer an die physikalischen Effekte, die modelliert werden sollen, angepasst werden muss, um eine sinnvolle Zuordnung des verwendeten Bauteils zu einem bestimmten physikalischen Effekt vornehmen zu können.

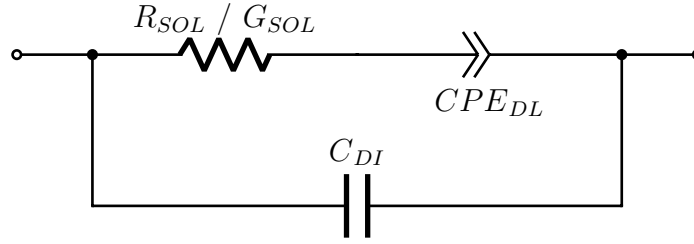


Abbildung 4.24.: Modellierung des Elektrode/Elektrolyt-Übergangs für Goldelektroden und einem salzhaltigen Elektrolyten

Analog zu Kapitel 4.2.1.2 wird zur Bestimmung der Bauteilgrößen der „EIS Analyzer“ eingesetzt [246]. Tabelle 4.2 zeigt die ermittelten Bauteilgrößen samt relativem Fehler exemplarisch für Versuch V1 (vgl. Abbildung 4.23).

Bauelement	Tropfen 0	Tropfen 1	Tropfen 2	Tropfen 3	Tropfen 4	Tropfen 5
R_{SOL} [Ω]	180,58 ($\pm 0,63\%$)	7428,1 ($\pm 0,73\%$)	115 680 ($\pm 1,31\%$)	139 580 ($\pm 1,45\%$)	140 250 ($\pm 1,42\%$)	145 430 ($\pm 1,42\%$)
$Q_0(CPE_{DL})$ [nF $\cdot$ s ⁽ⁿ⁻¹⁾]	6,28 ($\pm 0,23\%$)	7,12 ($\pm 0,71\%$)	12,1 ($\pm 2,01\%$)	12,5 ($\pm 2,35\%$)	12,8 ($\pm 2,33\%$)	13,3 ($\pm 2,35\%$)
$n(CPE_{DL})$ [1]	0,94 ($\pm 0,02\%$)	0,91 ($\pm 0,09\%$)	0,80 ($\pm 0,34\%$)	0,79 ($\pm 0,40\%$)	0,79 ($\pm 0,40\%$)	0,79 ($\pm 0,41\%$)
C_{DI} [pF]	31,8 ($\pm 30,8\%$)	9,19 ($\pm 5,35\%$)	9,14 ($\pm 2,18\%$)	9,15 ($\pm 2,31\%$)	9,18 ($\pm 2,26\%$)	9,16 ($\pm 2,25\%$)

Tabelle 4.2.: Änderung der Bauelementgrößen bei kontinuierlicher Verdünnung eines PBS-Tropfens durch einzelne DI-Wassertropfen mittels *passive dispensing* am Beispiel von Versuch V1

Den kleinen relativen Fehlern ist zu entnehmen, dass das ESB aus Abbildung 4.24 das System gut abbildet. Lediglich für die parasitäre Kapazität C_{DI} ist der relative Fehler hoch. Besonders deutlich ist dieser Effekt bei den Werten für Tropfen 0 und Tropfen 1 zu erkennen. Dies liegt darin begründet, dass der Einfluss dieser Kapazität im Bereich hoher Frequenzen einsetzt und vor allem bei den besagten Messungen im gemessenen Frequenzbereich unterrepräsentiert ist. Sowohl der Verlauf des elektrischen Leitwerts ($G_{SOL} = 1/R_{SOL}$) als auch der elektrischen Admittanz Y bei $f=205$ kHz jeweils normiert auf den Wert für Tropfen 0 (Referenzwert) sind in Abbildung 4.25 in einfach logarithmischer Darstellung aufgetragen. Dabei ist jeweils der Mittelwert aus $n=10$ Versuchen als Datenpunkt und die dazugehörige Standardabweichung σ_{st} aufgetragen.

Die beiden Verläufe des berechneten Leitwertes G_{SOL} sowie der Admittanz Y weisen einen ähnlichen Verlauf auf, wobei der Leitwert direkt von der Salzkonzentration im *virtual microwell* abhängig ist und daher zur Diskussion herangezogen wird. Die leicht-

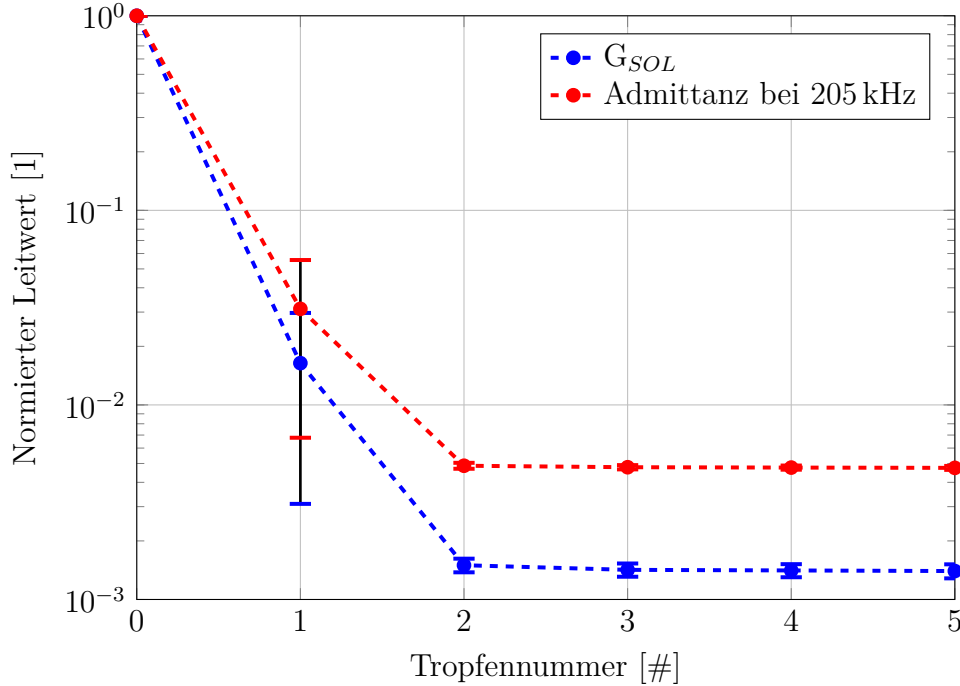


Abbildung 4.25.: Normierter Verlauf des Leitwertes der Lösung über der jeweiligen Tropfennummer (Probengröße: $n=10$)

ten Abweichungen des normierten Admittanzwertes bei fester Frequenz sind dadurch zu erklären, dass es nicht möglich ist, bei allen Spektren eine gemeinsame Frequenz zu finden, die in einem Bereich resistiven Verhaltens liegt. Beim Spektrum des PBS-Tropfens 0 liegt die gewählte Frequenz von $f=205$ kHz im spektralen Einflussbereich der elektrischen Doppelschicht, bei den Spektren der DI-Wassertropfen 2-5 steigt der Einfluss der parasitären Kapazität C_{DI} . Es ist somit nur durch Fitting der gemessenen Spektren an ein geeignetes ESB möglich, die Leitfähigkeit im *virtual microwell* exakt zu bestimmen. Der normierte Leitwert G_{SOL} fällt nach dem ersten DI-Wassertropfen (1) im Mittel auf 1,64 % des Wertes für PBS ab. Nach weiteren DI-Wassertropfen (2+3) sinkt der Wert auf 0,15 % bzw. 0,14 % des Anfangswertes. Auch nach den zwei weiteren Tropfen (4+5) bleibt der Wert bei 0,14 %. Der Inhalt des *virtual microwells* ist somit nach drei Austauschtropfen komplett ausgewechselt. Nach zwei Tropfen ist allerdings auch schon von einem nahezu kompletten Medien austausch ausgehen. Eine ähnliche Beobachtung machten Barbulovic-Nad et al., die einen fluoreszierenden Tropfen nacheinander mit fünf PBS-Tropfen ausgetauscht haben und ebenfalls nach dem dritten Tropfen keine Änderung im Fluoreszenzsignal mehr detektieren konnten [34]. Ähnliche Ergebnisse werden durch Ng et al. bestätigt [125].

Bezogen auf den PBS-Tropfen ist festzuhalten, dass der ursprüngliche Leitwert um fast drei Größenordnungen verringert wurde. Dies entspricht durch den proportionalen Zusammenhang zwischen dem elektrischen Leitwert und der Salzkonzentration somit

auch einer Verdünnung auf das 1:1000-fache [169, 170]. Der Medien austausch im *virtual microwell* ist sehr reproduzierbar. Dies zeigen die relativ kleinen Fehlerbalken. Die Verläufe von G_{SOL} und der elektrischen Admittanz Y bei $f=205$ kHz unterscheiden sich aus oben genannten Gründen leicht. Dadurch, dass G_{SOL} direkt dem physikalischen Effekt der Fähigkeit des Mediums, Strom zu leiten, zugeordnet werden kann, ist diese Kenngröße aussagekräftiger. Durch das relativ zeitintensive und manuelle Fittingverfahren kann eine solche Information allerdings bei Echtzeit-Messungen in einer hohen Frequenz nicht mehr erfolgen. Hierbei kann eine Auswertung schnell über den Wert der Impedanz Z bzw. der Admittanz Y bei einer geeigneten Frequenz erfolgen, die weiterhin qualitative Aussagen über die Veränderungen im gemessenen elektrochemischen System liefert. Die Genauigkeit der EIS-Messung ist vor allem am Referenzwert zu erkennen. Der Mittelwert des Lösungswiderstandes R_{SOL} beträgt für alle 10 Versuche $180,89 \Omega$ bei einer Standardabweichung σ_{st} von lediglich $791 \text{ m}\Omega$. Dies zeigt eine sehr gute Reproduzierbarkeit des Messwertes, der zur Normierung verwendet wurde (vgl. Abbildung 4.25). Die Ursache der Fehlerbalken, die vor allem nach dem ersten Tropfen DI-Wasser zu erkennen sind, können somit auf eine minimal veränderte Tropfenverdrängung beim *passive dispensing* zurückgeführt werden.

Die erreichbare relative Standardabweichung σ_{rel} (vgl. Gleichung 4.2) beim *passive dispensing* hängt maßgeblich davon ab, ob es sich um „trockenes“ oder „nasses“ *passive dispensing* handelt und von dem erzeugten Tropfenvolumen [37]. Dabei ist die relative Standardabweichung σ_{rel} beim „trockenen“ *passive dispensing*, also dem Befüllen eines leeren *virtual microwells*, leicht höher als die des „nassen“ *passive dispensings*. Für größere Volumina durch einen erhöhten Boden-zu-Deckelchip Abstand oder einem größeren Durchmesser des hydrophilen Bereiches ist ebenfalls ein Anstieg der relativen Standardabweichung zu erwarten. Durch die verwendete Geometrie ergibt sich ein Tropfenvolumen von $V=27,6 \text{ nL}$, das in der Größenordnung der von Eydelnant et al. untersuchten Volumina liegt [37]. Dabei ergab sich eine relative Standardabweichung des Volumens von $\sigma_{rel}<1 \%$. Im Gegensatz zu Eydelnant et al., die kleinste Abweichungen im Volumen der erzeugten Tropfensäule beschreiben, wurde in dieser Arbeit die Zusammensetzung des ausgetauschten Tropfens bestimmt. So wurde der Salzgehalt in den ausgetauschten Tropfen im *virtual microwell* nach dem *passive dispensing*-Vorgang mittels EIS gemessen. Die in Abbildung 4.25 eingetragenen Standardabweichungen σ_{st} für den Verlauf von G_{SOL} werden nach dem zweiten DI-Wassertropfen kleiner. Es ergibt sich nach drei Austauschtropfen somit eine Reduktion von G_{SOL} auf $0,14 \%$ des ursprünglichen Leitwertes nach der initialen PBS-Befüllung mit einer relativen Standardabweichung von $\sigma_{rel}=7,8 \%$. Die Ergebnisse von Barbulovic-Nad et al. deuten ein ähnliches Verhalten nach dem Austausch eines fluoreszierenden Tropfens mit PBS an. Die Standardabweichung nach dem ersten Austauschtropfen ist deutlich höher, als die

nach den folgenden Tropfen. Zahlenwerte werden von Barbulovic-Nad et al. leider nicht angegeben, sodass die Ergebnisse dieser Arbeit nur qualitativ verglichen werden können [34].

Für Anwendungen der EWOD-Plattform z.B. im Bereich der Medikamentenforschung, ist das Volumen der Tropfen, die im *virtual microwell* inkubieren, von großem Interesse. Von Eydelnant et al. wurde gezeigt, dass dieses sehr reproduzierbar durch *passive dispensing* erzeugt werden kann und nach dem Medienaustausch nahezu konstant bleibt [37]. Weitere Untersuchungen von Barbulovic-Nad et al. haben gezeigt, dass der Austausch des Mediums nach dem dritten Austauschtropfen abgeschlossen ist [34]. Die Untersuchungen in dieser Arbeit geben genauen Aufschluss über die Entwicklung der Konzentration einer bestimmten Spezies (hier Salzionen). Die Erkenntnisse können beim zukünftigen Einsatz einer EWOD-Plattform zur Medikamentenforschung dazu genutzt werden, die verbleibende Wirkstoffkonzentration im *virtual microwell* abzuschätzen.

5. Nachweis von Biomolekülen mit Hilfe der EWOD-Plattform

Die entwickelte portable EWOD-Plattform PortaDrop soll als LOC zum Nachweis von Immobilisationsvorgängen von Biomolekülen an der Gold-AE eingesetzt werden. Dazu sollen verschiedene Analyte nacheinander mittels EWOD in Form von kleinen diskreten Tropfen auf den, in den Deckelchip integrierten, EIS-Sensor gebracht werden. Die Tropfen reißen durch den Effekt des *passive dispensings* (vgl. Kapitel 4.3.5) am Sensor ab und die enthaltenen Biomoleküle inkubieren im *virtual microwell* und somit auf dem EIS-Sensor. Im Vorfeld müssen jedoch folgende Punkte genauer untersucht werden:

- Einfluss von Netzmitteln auf die Oberflächenspannung und somit den Kontaktwinkel der Tropfen
- Einfluss von Netzmitteln auf die Bindungsaffinität von Biomolekülen
- Reinigung der Elektroden zur Mehrfachnutzung und Einfluss der Reinigung auf die Reproduzierbarkeit des Schichtaufbaus
- Nachweis eines komplexen Schichtaufbaus mittels transienter EIS-Messungen

Zunächst wird der Einfluss einer Zugabe von Pluronic F-68, das zur Vermeidung des sogenannten *Biofouling*s eingesetzt wird, auf den Kontaktwinkel einer Flüssigkeit (vgl. Kapitel 5.1) untersucht. Im Weiteren werden zwei *Assays* in einer MTP entwickelt. Dabei wird auf die besondere Herausforderung des *Biofouling*s eingegangen, bei dem es zur unerwünschten Adsorption von Biomolekülen auf hydrophoben Oberflächen kommt [260, 261].

Als gängiges Modellsystem wird ein in der Biotechnologie verbreitetes Biotin-Streptavidin (STR)-System auf Gold immobilisiert [262]. Hierbei wird der Einfluss des verwendeten Pluronic F-68 auf die Biomoleküle und deren Interaktion untereinander untersucht. Dazu wird der *Assay* in verschiedenen Kombinationen mit und ohne Pluronic F-68 durchgeführt (Kapitel 5.2). Des Weiteren wird untersucht, ob es zu unerwünschten zusätzlichen Bindungen der Biomoleküle an PPy:PSS, mit dem die GE und die RE beschichtet sind, kommt (vgl. Kapitel 3.1.2.1).

Durch den aufwändigen Herstellungsprozess des Deckelchips, der die EIS-Sensorik enthält, ist eine Mehrfachnutzung der Elektroden von Vorteil. Daher wird kurz auf die Entwicklung eines Reinigungsprotokolls für die Goldelektroden eingegangen.

Als weitere perspektivische Anwendung für die EWOD-Plattform gilt die Krebsdiagnose. Es ist bekannt, dass Affinitäten von Biomolekülen zueinander, wie z.B. Antigen

und Antikörper oder Glykan und Lektin, für die medizinische Diagnostik relevant sind [263]. Von sehr hoher Relevanz ist hier die frühe Diagnose und Behandlung von Krebs, bei dem sich Krebszellen durch die veränderten Glykanepitope der in der Zellmembran verankerten Glykoproteine von gesunden Zellen unterscheiden [264]. In dieser Arbeit wird zunächst ein Neo-Glykoprotein (NGP) auf Gold immobilisiert und anschließend fukosyliert (Kapitel 5.4). Die spätere Zielsetzung ist die Überwachung der Bindungskinetik während der Inkubation mittels EIS in einer EWOD-Plattform. Daher wird auch hier der Einfluss von Pluronic F-68 auf das Protokoll untersucht.

5.1. Einfluss von Pluronic F-68 auf die Benetzbarkeit

Der Einsatz von Biomolekülen, wie z.B. von Proteinen, in einer EWOD-Plattform birgt das Risiko des *Biofouling*s. Dabei lagern sich Moleküle auf den hydrophoben Beschichtungen des Boden- und des Deckelchips ab und führen dazu, dass eine weitere Aktuierung der Tropfen unmöglich wird [8, 265–267]. Bei dieser Anlagerung handelt es sich um unspezifische Adsorption (Physiosorption). Dabei wirken mehrere Kräfte auf intermolekularer Ebene zusammen: hydrophobe Interaktionen, van-der-Waals-Kräfte, ionische Interaktionen und Wasserstoffbrückenbindungen [268]. Die Folge einer solchen Anlagerung ist, dass lokal die Oberflächenenergie steigt und die Oberflächen der Chips dadurch an der Foulingstelle lokal hydrophil werden [220]. Tropfen bleiben durch den geringeren Kontaktwinkel an dieser Stelle unerwünschterweise hängen [269].

Zur Vermeidung von *Biofouling* kann die Oberflächenbeschaffenheit verändert werden. Dazu werden superhydrophobe Oberflächen, bei denen der Kontaktwinkel zu Wasser sich 180° annähert, verwendet [256, 270, 271]. Des Weiteren werden sogenannte *Slippery lubricant infused surfaces* (SLIPS) verwendet, bei denen poröse Schichten mit einem Schmiermittel getränkt werden [78, 272]. Diese Schichten binden das Schmiermittel und es entsteht eine hydrophobe Oberfläche, die eine geringe Kontaktwinkelhysteresis aufweist. Eine direkte Folge davon ist ein geringeres Anhaften der Kontaktlinie und somit eine Reduktion der Benetzbarkeit. Weitere Konzepte zur Verringerung von *Biofouling* beruhen auf der Nutzung von Oberflächen basierend auf einem Co-Polymer aus einem perfluorierten Methacrylat und fluoriertem Polyethylenglycol (PEG) [220]. Neben der Modifikation der Oberfläche ist ebenfalls eine Zugabe von Graphenoxid (GO)-Flocken in die Tropfen zur Reduzierung von *Biofouling* und zur zuverlässigen sowie wiederholten Manipulation des Kontaktwinkels über das EWOD-Prinzip möglich [273].

Eine weitere, sehr verbreitete Methode, ist die Möglichkeit, den Analyten Blockpolymere, wie das nicht-ionische Tensid Pluronic F-68, beizumischen [265, 267]. Dabei

bildet sich sowohl an der Grenzfläche zwischen der wässrigen Phase (dem Tropfen) und der Luft, als auch dem Tropfen und der hydrophoben Oberfläche ein dünner Film des Blockpolymers [274, 275]. Dieser verhindert das *Biofouling* an der Oberfläche.

Da beim EWOD der Kontaktwinkel von entscheidender Bedeutung ist, wird zunächst der Einfluss von Pluronic F-68 auf den Kontaktwinkel einer wässrigen Lösung zu Teflon untersucht. Dazu werden je ein Tropfen PBS und ein Tropfen PBS mit 0,05% w/v Pluronic F-68 (im Folgenden PBSp genannt) auf eine frische Teflonoberfläche pipetiert und der Kontaktwinkel mittels eines im Rahmen dieser Arbeit weiterentwickelten Kontaktwinkelmessstands bestimmt. Die aufgenommenen Seitenansichten sind in Abbildung 5.1 dargestellt. Die Oberfläche und der Kontaktwinkel sind jeweils in die Abbildungen eingezeichnet.

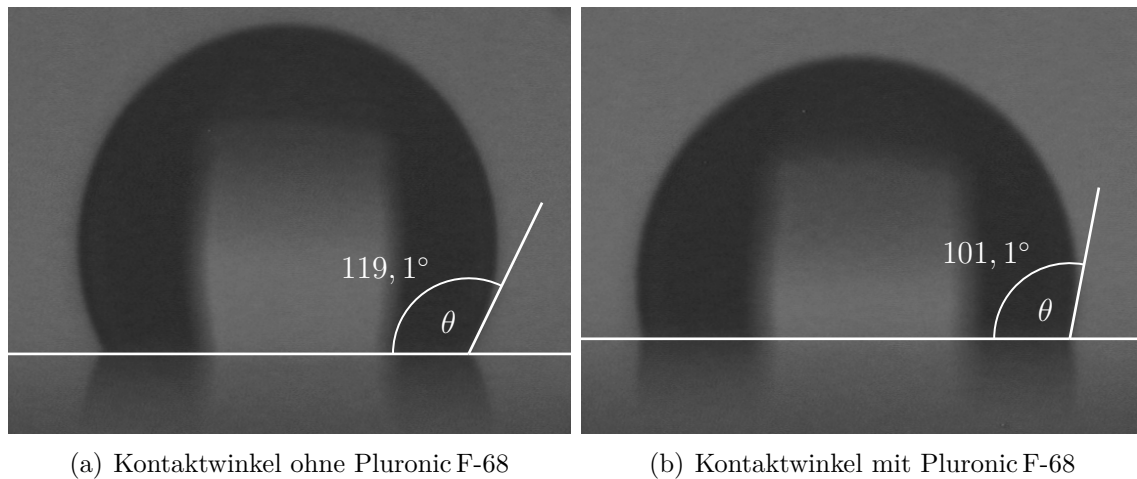


Abbildung 5.1.: Kontaktwinkeländerung eines PBS-Tropfens durch die Zugabe von Pluronic F-68 (0,05% w/v) auf einer Teflonoberfläche

Ohne Zugabe von Pluronic F-68 liegt der Kontaktwinkel von PBS bei $\approx 119,1^\circ$ (vgl. Abbildung 5.1(a)) und liegt damit im Rahmen, der in Literatur angegebenen Werte für den Kontakt einer wässrigen Lösung zu einem Fluorpolymer in Luft [72, 79]. Bei Zugabe von 0,05% w/v Pluronic F-68 verringert sich der Kontaktwinkel auf etwa $101,1^\circ$. Die Verringerung des Kontaktwinkels korreliert mit der sinkenden Oberflächenspannung [276]. Dabei ist der Kontaktwinkel allerdings weiterhin deutlich größer als 90° und somit eine Tropfenaktuierung per EWOD weiterhin möglich [78].

5.2. Biotin-Streptavidin-Assay

Als Modellsystem wird zunächst ein biotinylierter *Self-assembled monolayer* (SAM) auf Gold aufgebracht, der über seine Thiolgruppe mit der Oberfläche kovalent-ionische

Gold-Schwefelbindungen eingeht [277–279]. Zur Vermeidung unspezifischer Bindungen im späteren Schichtaufbau wird ein Blockierschritt mit Rinderserumalbumin (engl.: *Bovine serum albumin*) (BSA) durchgeführt [280, 281]. Nach dem Blockierschritt wird STR auf der durch den SAM biotinylierten Goldoberfläche immobilisiert. Neben reinen STR-Lösungen können hier auch z.B. fluoreszierende STR-Konjugate gebunden werden [282, 283]. Abschließend wird auf das STR eine biotinylierte HRP aufgebracht. Zur Auswertung mittels eines Photometers wird ein *ready-to-use* Substrate mit TMB und Wasserstoffperoxid zugegeben. Die HRP oxidiert das TMB von farblos zu blau [284]. Die Reaktion wird durch Zugabe von 3 M Salzsäure gestoppt. Es bildet sich eine gelbe Färbung aus, deren Intensität im Photometer ausgewertet wird. Diese skaliert mit der Menge an gebundener HRP. Der komplette Schichtaufbau ist Abbildung 5.2 zu entnehmen.

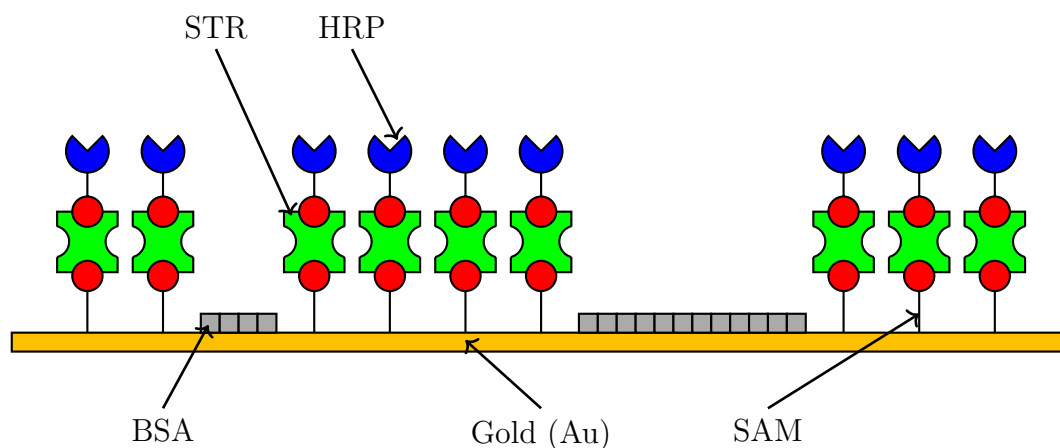


Abbildung 5.2.: Biotin-STR-Modellsystem auf einer Goldoberfläche

Die Experimente werden in einer Standard *96-well* MTP durchgeführt. Um die Immobilisierung auf Gold zu untersuchen, werden $3,5 \cdot 3,5 \text{ mm}^2$ große Chips aus einem mit 30 nm Titan und 100 nm Gold beschichteten oxidierten Siliziumwafer herausgesägt und in die *wells* der MTP eingebracht. Zunächst wird der Sägeschutzlack mit Aceton und Isopropanol entfernt. Eine weitere Oberflächenbehandlung ist nicht nötig, da die Au-S Bindung des SAMs zur Goldoberfläche stärker ist als z.B. Au-O Bindungen mit der Umgebungsluft [285]. Der Chip wird zuerst in 50 μL 0,5 mM SAM (Produktnr. 746622, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München) für 30 min inkubiert. Der SAM ist in einer Lösung aus 50 % Ethanol und 50 % DI-Wasser gelöst und bereits im *well* der MTP vorgehalten. Um starke Verdunstung zu vermeiden, wird eine Folie über die *wells* geklebt. Nach jedem Inkubationsschritt werden die Chips mit einer Pinzette aus der Lösung entfernt und drei mal mit je 500 μL PB mit 0,05% w/v Pluronic F-68 aus einer Spritze gespült. Der Zusatz von Pluronic F-68 ersetzt in diesem Fall den Einsatz von Tween 20. Tween 20 ist ebenfalls ein nicht-ionisches Tensid, dass in der Biotechnologie

oft dazu verwendet wird, beim Spülen unspezifische Bindungen zu entfernen.

Die folgenden Biomoleküle (BSA, STR und HRP) sind in PB gelöst. Der Puffer besteht aus 50 mM NaH_2PO_4 und 150 mM NaCl und weist einen pH-Wert von 7,4 auf. Nach den jeweiligen Spülschritten werden die Chips nacheinander für ebenfalls je 30 min in $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ BSA, $10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ STR bzw. $62,5 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ HRP inkubiert. Nach dem letzten Inkubationsschritt werden die Chips erneut gespült und in ein *well* mit bereits 70 μL vorgelegtem TMB überführt. Die Reaktion drückt sich durch einen Farbwechsel des TMBs von transparent nach blau aus. Sie wird gestoppt, indem 50 μL TMB aus dem jeweiligen *well* abpipettiert und in ein benachbartes *well*, das mit 50 μL 3 M HCl befüllt ist, überführt werden. Die blau gefärbte TMB-Lösung wird dadurch gelblich.

Der komplette Schichtaufbau aus Abbildung 5.2 wird nun auf den Einfluss der Zugabe des nicht-ionischen Tensids Pluronic F-68 untersucht. Dazu werden zu bestimmten Lösungen im Schichtaufbau 0,05% w/v Pluronic F-68 hinzugegeben, dessen Zugabe durch ein kleines 'p' hinter der jeweiligen Lösung dargestellt wird (SAMP, BSAP, STRp bzw. HRPp). Zusätzlich werden verschiedene Negativkontrollen durchgeführt, bei denen je eine Schicht ausgelassen wurde. Stattdessen wurde die jeweilige Inkubation im dazugehörigen Puffer durchgeführt. Der BSA-Blockierschritt wird dabei nicht ausgelassen, da vor allem das nachfolgende STR zu unspezifischen Bindungen neigt und dies zu falsch positiven Resultaten führt [286–288]. Die Resultate der Photometermessungen sind Abbildung 5.3 zu entnehmen.

Die Werte der Absorption für die Positivkontrolle (Komplett (Au)) liegen zwischen 0,23 und 0,29. Dabei wurde das gesamte Modellsystem aus Abbildung 5.2 auf der Goldoberfläche immobilisiert. Unabhängig von der Pluronic F-68 Zugabe ist eine erfolgreiche Immobilisierung des biotinylierten-SAMs auf der Goldoberfläche und die nachfolgende spezifische Bindung des STR und der biotinylierten-HRP zu erkennen. Der Blockierschritt mittels BSA hat dementsprechend keinen Einfluss auf die Möglichkeit der spezifischen Bindung nachfolgender Proteine zum SAM. Das bestätigen auch die Ergebnisse von Kazuma et al., die mittels LSPR zeigen, dass BSA nicht an den SAM selber bindet, sondern lediglich die unbesetzte Oberfläche absättigt und somit nachfolgende STR-Moleküle nicht daran hindert, an das Biotin des SAMs spezifisch zu binden [289].

Neben der Positivkontrolle, der sequentiellen Inkubation aller Schichten, wurden Negativkontrollen durchgeführt, bei denen jeweils eine Schicht ausgelassen wurde (kein SAM (Au), kein STR (Au), kein HRP (Au)). Da der Schichtaufbau auf spezifischen Bindungen beruht, ist ein kompletter Aufbau des Modells aus Abbildung 5.2 hierbei nicht erwünscht. Die Werte der nach allen Inkubationsschritten gemessenen Absorption (vgl. Abbildung 5.3) zwischen 0,00 und 0,02 bestätigen diese Annahme. Der Aufbau kann somit zu einem spezifischen Nachweis von einzelnen Proteinen genutzt werden.

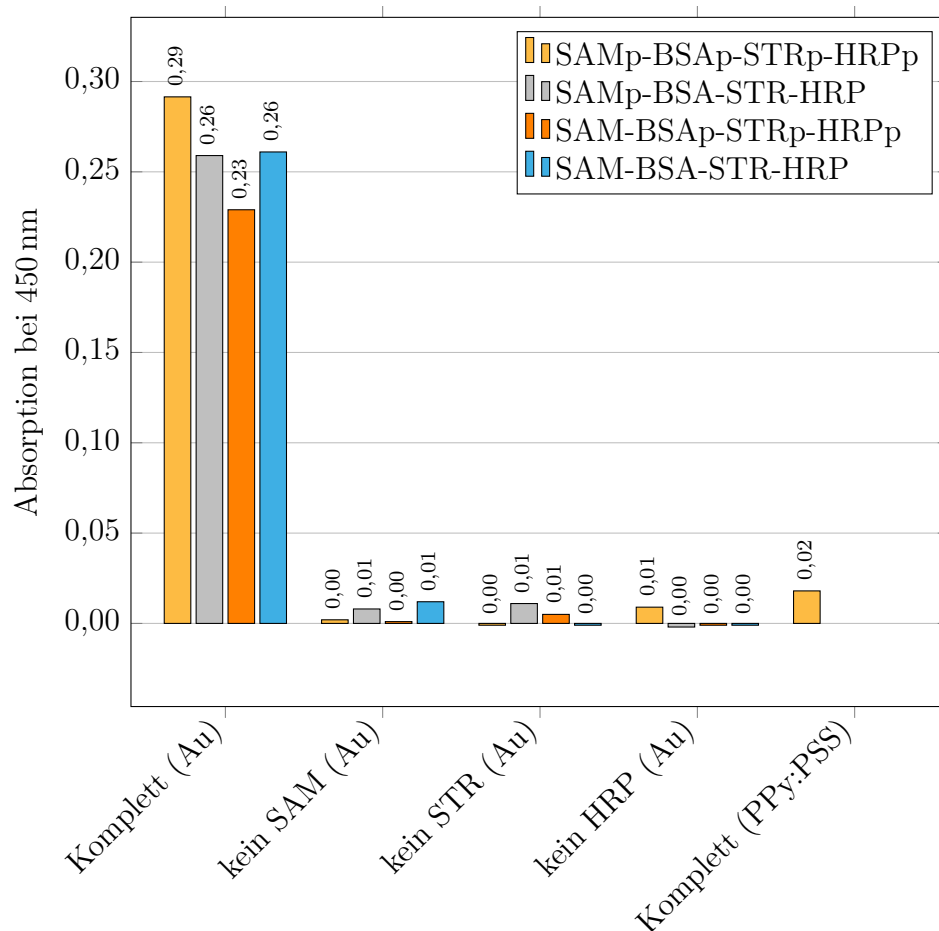


Abbildung 5.3.: Absorptionswerte bei 450 nm für Positiv- und Negativkontrollen des Biotin-Streptavidin-Assays

Der Vollständigkeit ist hinzuzufügen, dass bei den Negativkontrollen Werte der Absorption in der dritten Nachkommastelle unter Null liegen können. Das hat damit zu tun, dass eine Messung eines *wells* der MTP mit frischem TMB als sogenannter *blank* (Leermessung) aufgenommen wurde und von allen Ergebnissen abgezogen wurde. Diese Messung dient zur besseren Vergleichbarkeit und elimiert das Hintergrundrauschen. Minimale Probe-zu-Probe Variationen können allerdings nicht komplett vermieden werden.

Eine weitere Negativkontrolle ist der Aufbau des kompletten Modells auf einer PPy:PSS-beschichteten Goldoberfläche (Komplett (PPy:PSS)). Dabei wurde allen Lösungen Pluronic F-68 beigemischt, da der angestrebte Einsatz in einer EWOD-Plattform diese Zugabe zwingend erfordert. Die Absorptionswerte dieses Versuchs sind ebenfalls Abbildung 5.3 zu entnehmen. Deutlich zu erkennen ist, dass die Werte im Bereich der anderen Negativkontrollen liegen, obwohl alle Schichten des Modells aus Abbildung 5.2 aufgebracht wurden. Durch die Beschichtung der Goldoberfläche mit PPy:PSS

kann der SAM dementsprechend nicht mit seinen Thiolgruppen an der Oberfläche binden und ein weiterer Aufbau der nachfolgenden Schichten aufgrund fehlender spezifischer Bindungsmöglichkeiten kann nicht erfolgen. Elektrochemisch betrachtet ist dies von entscheidender Bedeutung, da bei der Charakterisierung von Immobilisationsvorgängen von Biomolekülen mittels EIS die GE und die RE mit PPy:PSS beschichtet sind (vgl. Kapitel 3.1.2.1 und Kapitel 4.2). Eine Bindung von Molekülen an einer dieser beiden Elektroden kann im Allgemeinen zu unerwünschten Änderungen des OCPs führen und damit zu einem Drift der EIS-Signale [290].

Der Aufbau des Biotin-STR-Modellsystems wurde mittels EIS transient aufgenommen. Dabei wurde der Blockierschritt mit BSAP auf den bereits mit SAM-beschichteten EIS-Sensoren durchgeführt und anschließend STRp und HRPp inkubiert. Zur Messung wurde dabei lediglich eine 2-Elektrodenanordnung mit einer Gold-AE und einer PPy:PSS-beschichteten GE/RE verwendet (vgl. Kapitel 4.2.3). Der gemittelte Verlauf des Imaginärteils der Impedanz Z bei einer Frequenz $f=664$ Hz ist in Abbildung 5.4 aufgetragen, wobei auf den Wert nach der BSAP-Inkubation normiert wurde. Dieser Wert wurde gewählt, da der Sensor im Folgenden (1) durch die SAM-Beschichtung spezifische Bindungen von STR an den biotinylierten SAM erlaubt und (2) vor unspezifischen Bindungen durch die Absättigung der Sensoroberfläche mit BSA geschützt ist.

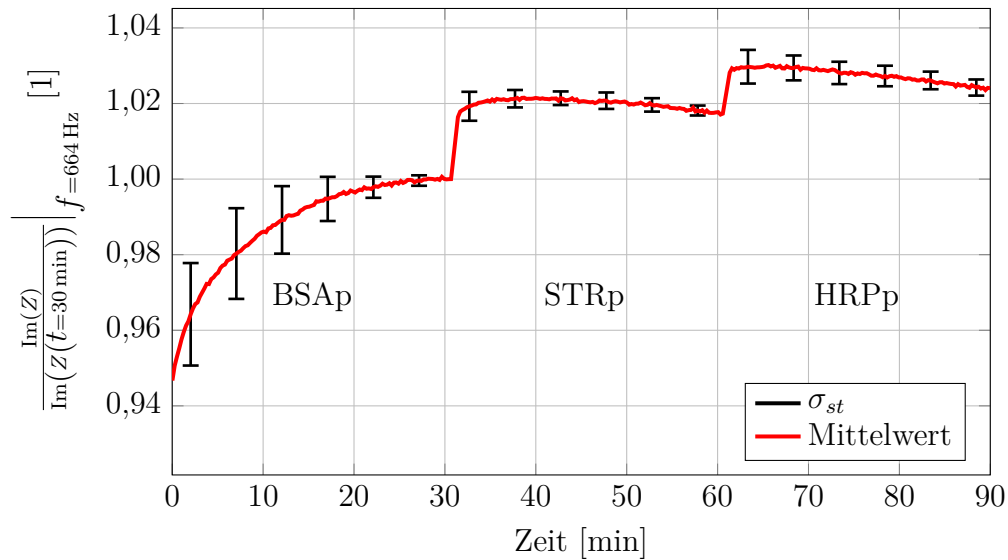


Abbildung 5.4.: Zeitlicher Verlauf des Imaginärteils der Impedanz Z bei $f=664$ Hz während der BSAP-, STRp- und HRPp-Inkubation auf einer Au-PPy:PSS-Elektrodenkonfiguration ($n=3$)

Zu erkennen ist ein Anstieg des normierten Imaginärteils in den einzelnen Inkubationsschritten. Dies deutet auf einen vollständigen Aufbau des Biotin-STR-Modellsystems hin. Die Beschichtung der GE/RE mit PPy:PSS führt dazu, dass zwischen den

Inkubationsschritten das OCP der Elektrode nicht gestört wird (vgl. Abbildung 4.11).

Analog zu Abbildung 5.4 wird der Modellaufbau auf einer Au-Au-Elektrodenkonfiguration durchgeführt. Der Verlauf des normierten Signals ist in Abbildung 5.5 dargestellt.

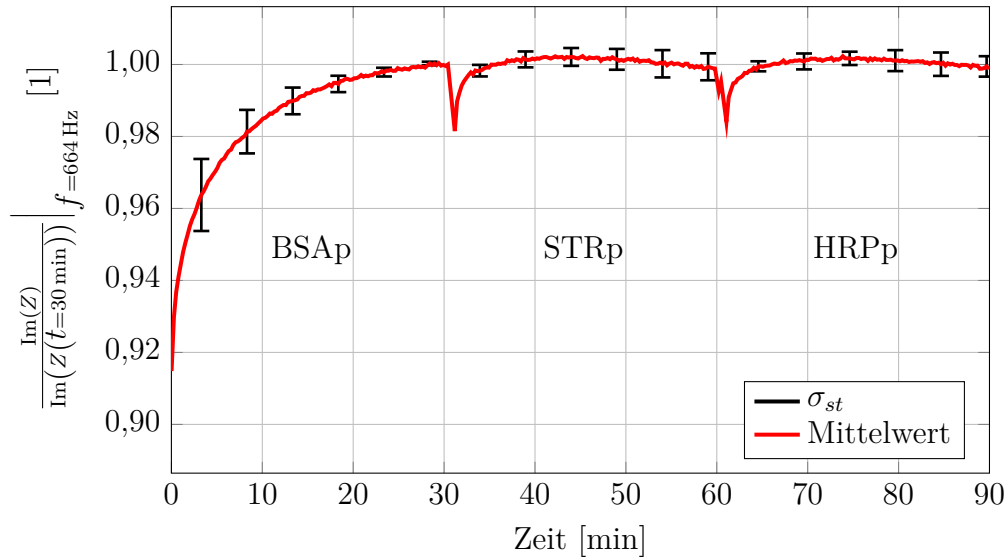


Abbildung 5.5.: Zeitlicher Verlauf des Imaginärteils der Impedanz Z bei $f=664 \text{ Hz}$ während der BSAP-, STRp- und HRPp-Inkubation auf einer Au-Au-Elektrodenkonfiguration ($n=3$)

Hier ist deutlich zu erkennen, dass das Signal nach dem Medienwechsel absinkt. Aus den Absorptionswerten bei 450 nm im Photometer (vgl. Abbildung 5.3) ist allerdings zu entnehmen, dass der Aufbau des kompletten Modellsystems vollständig ist. Es ist davon auszugehen, dass die Änderungen im Signal auf eine messtechnische Instabilität zurückzuführen sind. Ausgehend von den Untersuchungen zum Verlauf des OCPs auf Gold- und auf PPy:PSS-Elektroden bei einer Störung des elektrochemischen Gleichgewichtes (vgl. Abbildung 4.11), das hier durch den Spülschritt zwischen den verschiedenen Inkubationsschritten hervorgerufen wird, ist anzunehmen, dass während der EIS-Messungen der Einfluss des Spülschrittes bzw. generell eines Medienwechsels ein irreproduzierbares Sensorverhalten hervorruft. Durch die Beschichtung einer Fingerelektrode (GE) mit PPy:PSS kann dieses Verhalten bereits in einer 2-Elektrodenanordnung deutlich stabilisiert werden. Zur Verifizierung dessen, dass die gezeigten Signalsprünge den Schwankungen im OCP geschuldet sind, ist der Verlauf des normierten Imaginärteils exemplarisch für eine Messung auf einer Au-Au-Elektrodenkonfiguration bei verschiedenen Frequenzen im Anhang in Abbildung A.3 aufgetragen. Zur Normierung des Signals wurde dabei der erste gemessene Wert bei $t=0 \text{ min}$ verwendet. Deutlich zu erkennen ist, dass das Absinken des Signals nach dem Medienwechsel zwischen den einzelnen Inkubationsschritten bei zunehmender Frequenz geringer wird. Dies ist damit zu erklären, dass der Einfluss des OCPs auf EIS-Messungen generell im Bereich niedriger

Frequenzen eine dominantere Rolle spielt, da die Dauer einer Messung an einem Punkt niedriger Frequenz länger dauert, als bei höheren Frequenzen und die Veränderungen im OCP daher relativ und absolut gesehen höher ist.

5.3. Reinigungsprotokoll für EIS-Elektroden

Um eine Mehrfachbenutzung der EIS-Sensorchips zu erreichen, wird eine Reinigungsmethode benötigt, die die gebundenen Biomoleküle von der Goldoberfläche des Sensors entfernt. Kim et al. beschreiben eine Methode, bei der Thiolbindungen von Goldoberflächen durch die Verwendung einer Lösung aus Ammoniumhydroxid (NH_4OH), Wasserstoffperoxid (H_2O_2) und Wasser (H_2O) im Volumenverhältnis (2:1:7) entfernt werden [291]. Lazar et al. haben mittels EIS gezeigt, dass die Nutzung einer vergleichbaren Reinigungsmethode eine elektrochemisch saubere Goldoberfläche zur Folge hat [292].

Zur Verifizierung dieser Reinigungsmethode werden zwei Versuchsansätze auf oxidierten Silizium-Chips ($3,5 \cdot 3,5 \text{ mm}^2$) mit Goldbeschichtung durchgeführt:

1. Das Biotin-STR-Modellsystem wird auf einen thiolterminierten SAM, der auf der Goldoberfläche immobilisiert ist, aufgebracht (vgl. Kapitel 5.2) und die Umsetzung des TMBs per Photometer analysiert. Anschließend werden die Chips für 1 h in der Reinigungslösung bei Raumtemperatur gelagert. Nach der Reinigung wird erneut die Umsetzung des TMBs nach der SAM-Immobilisierung gemessen. Dieser Versuchsansatz dient dazu, die erfolgreiche Entfernung der Biomoleküle nachzuweisen.
2. Auf der Goldoberfläche wird lediglich der thiolterminierte SAM immobilisiert und anschließend direkt über ein STR-HRP-Konjugat und anschließender TMB-Umsetzung der Aufbau des SAMs nachgewiesen. Analog zu (1) erfolgt ein Reinigungsschritt für 1 h bei Raumtemperatur. Nach der Reinigung wird erneut der SAM auf die Chips aufgebracht, das STR-HRP-Konjugat gebunden und die Umsetzung des TMBs im Photometer gemessen. Dieser Versuchsansatz soll den erneuten erfolgreichen Aufbau des SAMs auf einer gereinigten Goldoberfläche bestätigen.

Bei beiden Versuchsansätzen wird nach der SAM-Applikation die freie Oberfläche mit $20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ BSA blockiert, um unerwünschte unspezifische Bindungen zu verhindern. Abbildung 5.6 zeigt die Absorptionswerte bei einer Wellenlänge von 450 nm im Photometer.

Nach dem Aufbau des vollen Modellsystems bei Versuchsansatz 1 und der Immobilisierung des SAMs und des STR-HRP-Konjugats (Versuchsansatz 2) sind die Absorptionswerte hoch (0,46 bzw. 0,45). Nach der Reinigung und erneuter SAM-Beschichtung

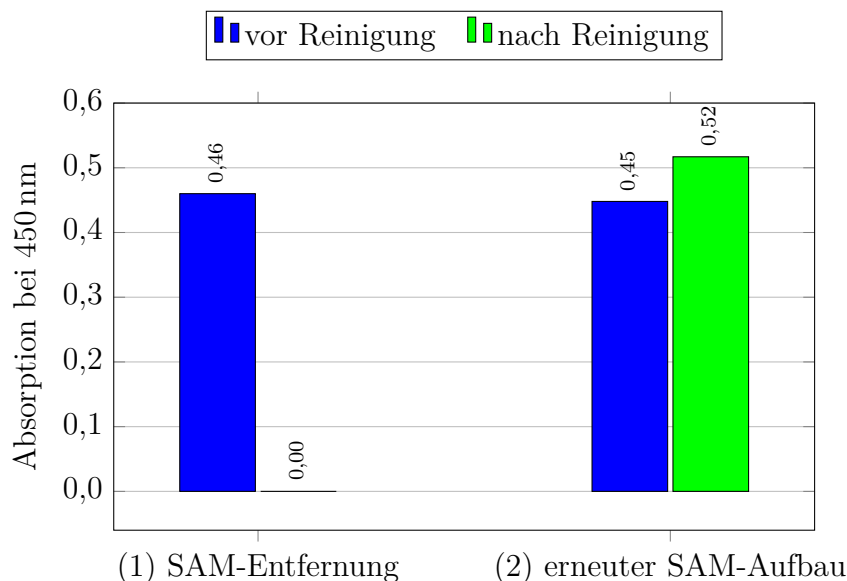


Abbildung 5.6.: Absorptionswerte bei 450 nm vor und nach der Reinigung

kann bei (1) kein Signal mehr gemessen werden. Dies indiziert, dass die Sensoroberfläche nach der einstündigen Reinigung nicht mehr mit dem kompletten Schichtaufbau belegt ist. Die Entfernung des SAMs kann mit diesem Ansatz nicht bestätigt werden, allerdings liegt diese Entfernung auf Grund der Ergebnisse von Kim et al. nahe [291]. Bei der Untersuchung, ob ein erneuter Schichtaufbau auf dem SAM möglich ist (Versuchsansatz 2), ist Abbildung 5.6 ein Absorptionswert von 0,52 zu entnehmen. Dieser liegt in der selben Größenordnung wie der Wert, der vor der Reinigung gemessen wurde. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass eine Reinigung und eine erneute Nutzung der Sensoroberfläche möglich ist.

Zur Verbesserung der Stabilität der EIS-Messungen ist sowohl die RE als auch die GE mit dem leitfähigen Polymer PPy:PSS beschichtet (vgl. Kapitel 3.1.2.1). Somit ist eine Untersuchung der Auswirkungen der Reinigungslösung auf die Elektrodenbeschichtung von großer Bedeutung. Abbildung 5.7 zeigt den Einfluss der Reinigungslösung auf die Elektroden.

Nach der Beschichtung mit PPy:PSS weist die Elektrode (in diesem Fall die GE) eine bräunliche Färbung auf, die Abbildung 5.7(a) deutlich entnommen werden kann (vgl. Kapitel 3.1.2.1). Nach der einstündigen Reinigung hingegen hat sich die Elektrodenbeschichtung von der Elektrode abgelöst bzw. aufgelöst (Abbildung 5.7(b)). Somit muss für jede neue Versuchsdurchführung der Sensor gereinigt und anschließend die entsprechenden Elektroden neu mit PPy:PSS beschichtet werden. Dies hat neben dem Nachteil der benötigten Zeit den entscheidenden Vorteil, dass die Elektrode zu Beginn eines jeden Versuchs einen ähnlichen Zustand aufweist und die Versuche somit untereinander vergleichbarer werden.

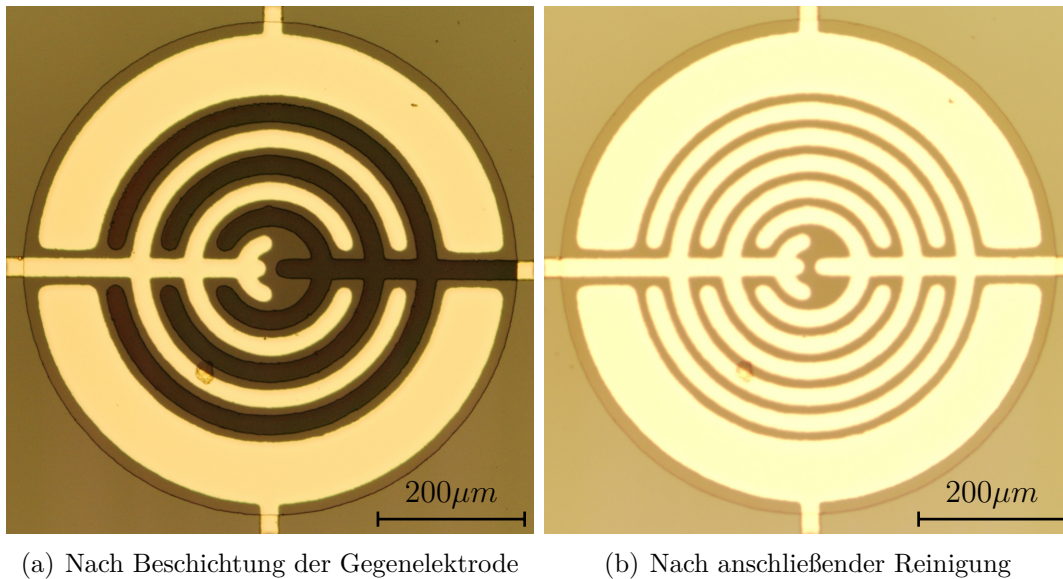


Abbildung 5.7.: Reinigung des Sensorchips mit einer Lösung aus Ammoniumhydroxid (NH_4OH), Wasserstoffperoxid (H_2O_2) und Wasser (H_2O) im Volumenverhältnis (2:1:7)

5.4. Glykosyltransferase-Assay

Eine weitere mögliche Anwendung der EWOD-Plattform ist die Krebsdiagnose, bei der die Bindungskinetik von Glykanen von entscheidender Bedeutung ist. Es ist bekannt, dass bei Krebszellen Glykoproteine, die in der Zellmembran verankert sind, veränderte Glykanepitope im Gegensatz zu gesunden Zellen aufweisen [264]. Das führt dazu, dass sich die Bindungskinetik von möglichen Bindungspartnern an die Glykoproteine ebenfalls verändert. Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein *Assay* zur Charakterisierung dieser Kinetiken entwickelt. Dabei wurde zunächst eine Entwicklung in der MTP mit photometrischer Analyse durch die Projektpartner aus der Biotechnologie (Institut für Biotechnologie & Helmholtz-Institut für Biomedizinische Technik, Lehr- und Forschungsgebiet Biomaterialien, RWTH Aachen, Prof. Elling) betrieben und die erfolgreiche Glykosylierung eines NGPs durch eine Fukosyltransferase (FucT) gezeigt. Eine detaillierte biotechnologische Betrachtung ist [293] zu entnehmen. Entscheidend für die Charakterisierung der sukzessiven Immobilisationsvorgänge mittels EIS ist eine Bindung der NGPs auf der Gold-AE. Dazu wird ein Azid-SAM inkubiert, der über Thiolgruppen auf dem Gold immobilisiert wird. Das NGP wird anschließend mittels Klickchemie aufgebracht und durch die FucT mit einer Guanosindiphosphat (GDP)-Fukose (FUC) fukosyliert. Das GDP ist ein Nukleotid, das sich an der FUC befindet und die FUC aktiviert. Bei der Reaktion wird die GDP-FUC gespalten und lediglich die FUC auf den Zucker des NGPs übertragen. Es entsteht eine glykosidische Bindung.

Das *Aleuria aurantia*-Lektin (AAL) detektiert in der Folge die immobilisierte FUC. Durch finale Zugabe von FUC wird das AAL erneut mobilisiert und in die Lösung abgegeben. Die gesamte Abfolge der einzelnen Schichten ist in Abbildung 5.8 skizziert. Die verwendeten Pufferlösungen und die resultierenden Konzentrationen der einzelnen Biomoleküle sind Tabelle 5.1 zu entnehmen.

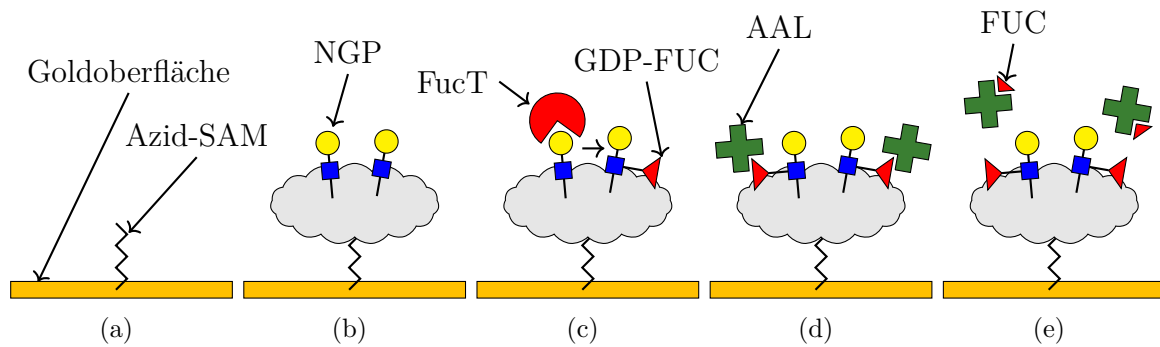


Abbildung 5.8.: Glykosyltransferase auf einer Goldoberfläche

Biomolekül	Pufferlösung	Konzentration
NGP	PBSp 5 mM Natriumascorbat 0,5 mM THPTA 0,1 mM CuSO ₄	10 µM
FucT	50 mM Tris/HCl pH 7 25 mM KCl 25 mM MgCl ₂ 1 mM GDP-FUC 20 µL · mL ⁻¹ FastAP 150 µg · mL ⁻¹ FucT	150 µg · mL ⁻¹
AAL	PBSp	0,5 µg · mL ⁻¹
FUC	DI-Wasser	400 mM
AAL+FUC	PBSp + DI-Wasser (1:1)	0,5 µg · mL ⁻¹ + 400 mM

Tabelle 5.1.: Pufferlösungen und Konzentrationen der verwendeten Biomoleküle

Um für den späteren Einsatz in der EWOD-Plattform nutzbar zu sein, wurde allen Lösungen Pluronic F-68 zugegeben. Ein negativer Einfluss auf die Reaktionen und Bindungen konnte, vergleichbar zum Biotin-STR-System (vgl. Kapitel 5.2), nicht festgestellt werden. Des Weiteren wurde eine detaillierte Analyse des Einflusses von Pluronic F-68 auf die Kontaktwinkel der einzelnen Lösungen zu einer Teflonoberfläche durchgeführt. Die gemessenen Kontaktwinkel sind in Tabelle 5.2 aufgetragen. Der Azid-SAM

wird im späteren Einsatz in der EWOD-Plattform vorher inkubiert und muss entsprechend nicht aktuiert werden.

Lösung	Kontaktwinkel
NGP	99,0°
FucT	96,9°
AAL	97,2°
FUC	98,8°
AAL+FUC	98,6°

Tabelle 5.2.: Kontaktwinkel der einzelnen Lösungen mit 0,05% w/v Pluronic F-68 auf einer Teflonoberfläche

Für alle Lösungen konnte nach einer Zugabe von 0,05% w/v Pluronic F-68 ein Kontaktwinkel größer 90° gemessen werden. Somit ist eine Aktuierung der Tropfen per EWOD-Prinzip möglich [78].

Da die Versuche in der MTP immer nur eine Endpunktdetektion darstellen, wurde das *Assay* in die portable EWOD-Plattform PortaDrop (vgl. Kapitel 3.3) überführt, um mit dem integrierten EIS-Sensor transiente Messungen durchführen zu können. Aufgrund von fehlenden Chips und defekten Geräten, die zur Herstellung neuer Chips notwendig waren, konnte leider keine Tropfenbewegung durchgeführt werden. Die Tropfen wurden daher händisch auf den Bodenchip pipettiert. Der Deckelchip wird im Abstand von 130 µm so über den Tropfen platziert, dass sich der EIS-Sensor mit einer PPy:PSS-Beschichtung auf der RE und der GE (vgl. Kapitel 3.1.2.1) in Kontakt mit dem Medium befindet (vgl. Kapitel 4.3.3). Die komplette Ansteuerung der Messungen wurde über die in dieser Arbeit entwickelte portable EWOD-Plattform PortaDrop durchgeführt [257]. Ein entscheidender Vorteil der Nutzung von miniaturisierten Messsystemen ist der geringe Verbrauch an Analyten. So werden im Gegensatz zu den Versuchen in der MTP jeweils nur 5 µL statt 50 µL pro Inkubationsschritt benötigt. Prinzipiell ermöglicht PortaDrop Tropfengrößen im Bereich von ≈ 250 nL, wenn die Proben durch das EWOD-Prinzip aktuiert werden (vgl. Kapitel 4.3.3). Für die Impedanzmessungen wurde ein Hewlett Packard 4294A Impedanzspektrometer mit Hilfe von PortaDrop angesteuert. Impedanzmessungen wurden in der 3-Elektrodenanordnung mit einer Abtastrate von einer Messung pro Sekunde durchgeführt und die Veränderung des Imaginärteils der Impedanz bei $f=400$ Hz als Maß für die Anlagerung an der AE ausgewertet. Es wurde der Versuchsplan aus Abbildung 5.9 verfolgt, wobei pro Inkubationsschritt die Inkubationszeit auf jeweils 1 h festgelegt wurde.

Generell werden zwei verschiedene Experimente durchgeführt: (1) die sequentielle Inkubation von NGP, FucT, AAL und FUC und (2) die sequentielle Inkubation von

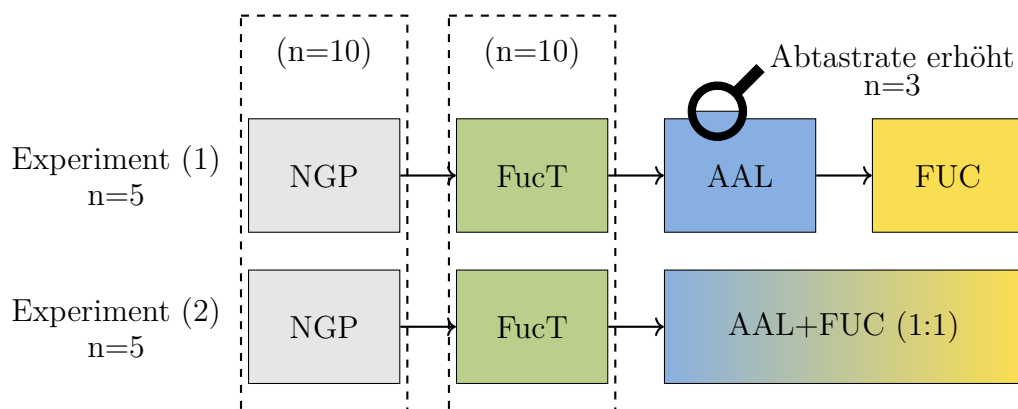


Abbildung 5.9.: Versuchsplan: EIS-Messung der Glykosyltransferase

NGP, FucT und einer Mischung aus AAL und FUC im Verhältnis 1:1. Die Experimente (1) und (2) werden je fünf mal ($n=5$) wiederholt. Für die Auswertung der NGP- und FucT-Inkubation werden die Messungen beider Experimente zusammengefasst, da sie identisch sind. Somit erweitert sich die Probengröße hierbei auf $n=10$. Die Inkubation des AALs wird mit einer erhöhten Abtastrate zusätzlich drei mal aufgezeichnet (siehe unten, $n=3$).

Ziel der Versuche ist die Messung der transienten Verläufe der Bindungsvorgänge der einzelnen Schichten an die Sensoroberfläche. Zunächst wird der Azid-SAM (Abbildung 5.8(a)) für 1 h auf der Elektrode inkubiert. Um ein stabiles Sensorsignalverhalten zu erhalten, wird ein 5 μL Tropfen des für das NGP verwendeten Puffers inkubiert und die Impedanz gemessen. Dieser Schritt dient dazu, dass ein stabiles Elektrodenpotential erreicht wird und die Messung im Folgenden weniger Drift aufweist (vgl. Kapitel 4.2.2). Nachfolgend wird das NGP (Abbildung 5.8(b)) gefolgt von der FucT (Abbildung 5.8(c)) inkubiert. Pro Inkubationsschritt wird der Imaginärteil der Impedanz auf den ersten Wert normiert. Zur besseren Veranschaulichung des gesamten Aufbaus wird der erste Wert für die FucT-Inkubation mit dem letzten Wert der NGP-Inkubation multipliziert. Abbildung 5.10 zeigt den gemittelten Verlauf der NGP- und FucT-Inkubation (Experiment (1) und (2), $n=10$) und die Standardabweichung σ_{st} . Dabei entspricht ein roter Punkt jeweils dem Mittelwert aller 10 Messungen an dem aufgetragenen Zeitpunkt in der Versuchsdurchführung. Die vereinzelt Verläufe sind in Abbildung A.4 und Abbildung A.5 im Anhang aufgetragen. In alle Einzelverläufe sind exponentielle Fitfunktionen eingetragen, die später diskutiert werden.

Dem Graph ist ein Anstieg des Signals zu entnehmen. Dieser ist auf eine Verkleinerung der Doppelschichtkapazität zurückzuführen. Bei der Bindung von Molekülen an der Elektrode oder in Elektrodennähe kommt es zu einer Verschiebung der Gegenionen in der EDL von der Elektrode weg, die zu einem größeren Abstand der Ionen

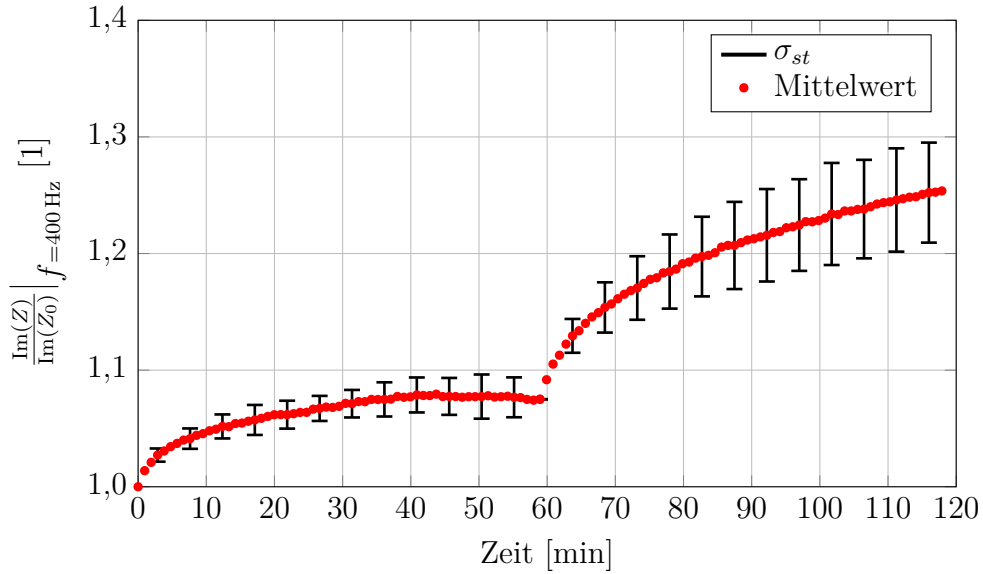


Abbildung 5.10.: Zeitlicher Verlauf des Imaginärteils der Impedanz Z bei $f=400\text{ Hz}$ während der NGP- und FucT-Inkubation ($n=10$)

zur Elektrode und somit einer kleineren Kapazität führen (vgl. Kapitel 2.2.1). Der Wert steigt während der NGP-Inkubation auf 1,075 und weiter auf 1,254 am Ende der FucT-Inkubation. Beide Verläufe weisen während der Inkubation auf den ersten Blick einen exponentiellen Verlauf auf. Während nach der NGP-Inkubation eine Sättigung auftritt, scheint der Sensor nach der FucT-Inkubation noch nicht gesättigt zu sein. Die fehlende Sättigung deutet auf eine zu niedrige FucT-Konzentration hin, die nicht zur kompletten Fukosylierung des bereits immobilisierten NGPs ausreicht.

In Experiment (1) wird an das fukosylierte NGP das AAL gebunden (vgl. Abbildung 5.8(d)). Während der Inkubation ist ein konstantes Impedanzsignal zu beobachten (siehe Abbildung A.6 im Anhang). Um die Bindung des AAL an das fukosylierte NGP aufzulösen, wurde die Abtastrate erhöht und zusätzliche Versuche durchgeführt (vgl. Abbildung 5.9). Der Verlauf des auf den Startwert normierten Imaginärteils während der ersten fünf Minuten der AAL-Inkubation ist Abbildung 5.11 zu entnehmen.

Es zeigt sich ein schneller Anstieg auf einen Wert von etwa 1,064 in der ersten Minute und eine anschließende Sättigung. Bei den ursprünglichen Messungen mit einer Abtastrate von $\approx 1\text{ min}^{-1}$ kann somit der schnelle Anstieg nicht aufgelöst werden und lediglich die Sättigung gemessen werden (konstantes Signal). Analog zur NGP- und FucT-Inkubation (vgl. Abbildung 5.10) kann ein Anstieg des Signals mit einer Bindung des Lektins an das fukosylierte NGP korreliert werden.

In einem weiteren Schritt wird die AAL-Bindung an das NGP durch Zugabe von FUC inhibiert (Abbildung 5.8(e)). Dabei wird eine Verdrängung der gebundenen Lektine erwartet. Der zeitliche Verlauf der normierten Impedanzwerte während der FUC-

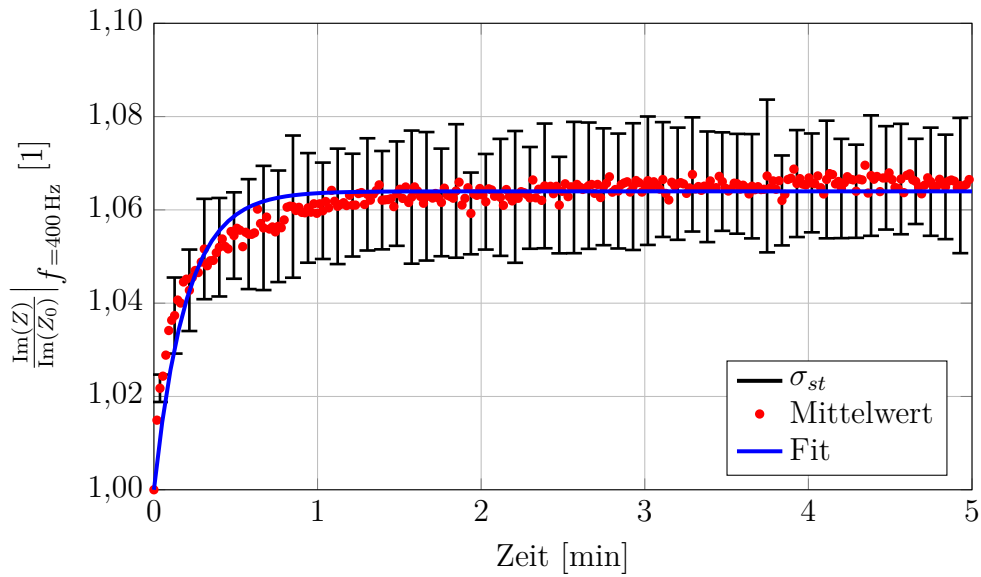


Abbildung 5.11.: Zeitlicher Verlauf des Imaginärteils der Impedanz Z bei $f=400$ Hz während der AAL-Inkubation ($n=3$)

Inkubation ist Abbildung 5.12 zu entnehmen.

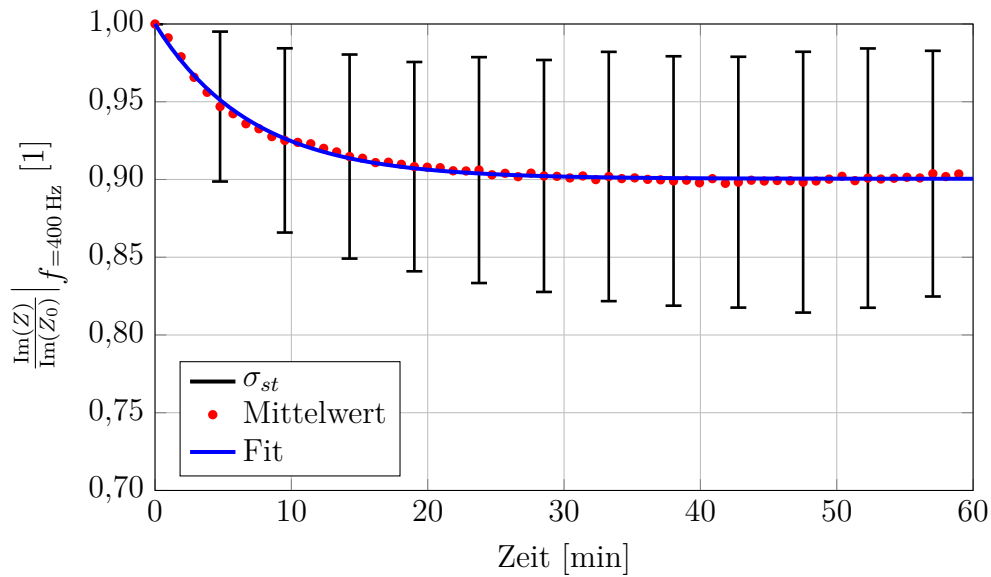


Abbildung 5.12.: Zeitlicher Verlauf des Imaginärteils der Impedanz Z bei $f=400$ Hz während der FUC-Inkubation ($n=5$)

Anders als bei den vorausgegangenen zeitlichen Verläufen des Imaginärteils der Impedanz ist während der FUC-Inkubation ein exponentieller Abfall des Signals auf etwa 0,9 zu erkennen was mit einem Ablösen von immobilisierten Molekülen von der Elektrode zu erklären ist.

In Experiment (2) werden im Gegensatz zu einer sequentiellen Inkubation von AAL und FUC die beiden Lösungen zunächst im Verhältnis 1:1 gemischt und auf dem Sen-

sor inkubiert. Die Inkubation erfolgt ebenfalls für 1 h auf den bereits mit Azid-SAM und fukolysiertem NGP beschichteten Sensor. Der resultierende zeitliche Verlauf der Impedanz ist Abbildung 5.13 zu entnehmen.

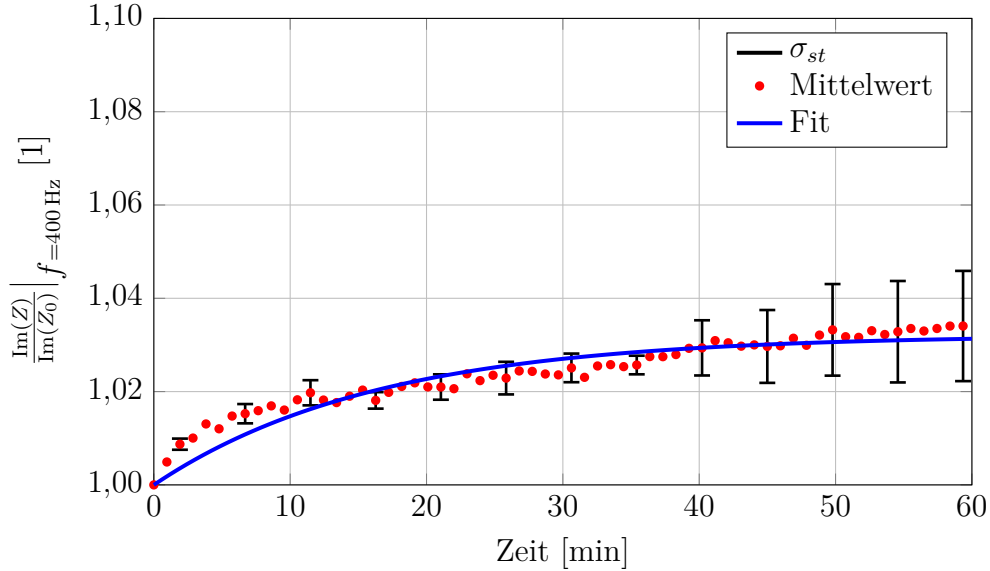


Abbildung 5.13.: Zeitlicher Verlauf des Imaginärteils der Impedanz Z bei $f=400 \text{ Hz}$ während der Inkubation von AAL in Konkurrenz mit FUC ($n=5$)

Es ist ein leichter, relativ langsamer Anstieg des normierten Signals auf 1,034 nach 60 min zu erkennen. Während die Oberfläche nach der alleinigen AAL-Inkubation nach bereits 1 min gesättigt ist, steigt bei einer Inkubation von AAL in Konkurrenz mit FUC das Signal auch nach der vollen Inkubationszeit von 1 h weiter an. Von einer Sättigung kann daher nicht ausgegangen werden. Durch gleichzeitige Zugabe von AAL und FUC bindet das AAL bereits in der Lösung an die freie FUC und kann somit nicht mehr an das immobilisierte fukosylierte NGP binden. Diese Absättigungsreaktion scheint allerdings nicht vollkommen abgeschlossen, da einzelne Bindungsreaktionen an der bereits auf dem Sensor immobilisierten Schicht dennoch stattfinden, was sich durch den leichten Anstieg im Impedanzsignal zeigt.

Zur Bestimmung der Bindungskonstanten wird der normierte Verlauf des Imaginärteils der Impedanz für jeden Inkubationsschritt an eine Exponentialfunktion erster Ordnung in Abhängigkeit von der Zeit t gefittet. Der Kurvenverlauf wird durch

$$f(t) = 1 + A \cdot \left(1 - e^{-k \cdot t}\right) \quad (5.1)$$

beschrieben. Dabei beschreibt A die relative Änderung des Signalverlaufes bis zur Sättigung und k die Bindungskonstante. Diese wird beim Entstehen neuer Bindungen k_{on} sowie beim Lösen von bestehenden Verbindungen k_{off} genannt [294]. Im Funktions-

ansatz aus Gleichung 5.1 entspricht k_{on} einer relativen Änderung $A > 0$ (ansteigendes Signal) bzw. k_{off} einer relativen Änderung $A < 0$ (abfallendes Signal). Zur anschaulichen Betrachtung wird des Weiteren die Zeitkonstante τ eingeführt:

$$\tau_{on} = \frac{1}{k_{on}} \text{ bzw. } \tau_{off} = \frac{1}{k_{off}} \quad (5.2)$$

Nach einer Zeitspanne τ ist etwa 63,2 % ($1 - e^{-1}$) der Signaländerung abgeschlossen. Die Funktionen sind für alle Inkubationsschritte in Tabelle 5.3 aufgelistet und die jeweiligen Zeitkonstanten τ extrahiert. Dabei ist der Eintrag für eine fallende Funktion bei der FUC-Inkubation in Fettdruck hervorgehoben. Die jeweiligen Determinationskoeffizienten r^2 , die die Bestimmtheit der Funktion zu den jeweiligen Messpunkten angeben, sind der Vollständigkeit halber hinzugefügt.

Inkubationsschritt	Fitfunktion	r^2	Zeitkonst. τ
NGP	$f(t) = 1 + 0,076725 \cdot (1 - e^{-0,0015315 \cdot t})$	0,9652	653,0 s
FucT	$f(t) = 1 + 0.16469 \cdot (1 - e^{-0.00089214 \cdot t})$	0,9787	1120,9 s
AAL	$f(t) = 1 + 0.063973 \cdot (1 - e^{-0.084552 \cdot t})$	0,8758	11,8 s
FUC	$f(t) = 1 - 0.099565 \cdot (1 - e^{-0.0023586 \cdot t})$	0,9937	424,0 s
AAL+FUC	$f(t) = 1 + 0.032128 \cdot (1 - e^{-0.001022 \cdot t})$	0,8887	977,7 s

Tabelle 5.3.: Fitfunktionen und Zeitkonstanten der Glykosyltransferase

Zu erkennen ist, dass die Bindungen unterschiedlich schnell erfolgen. So ergibt sich mit $\tau=653,0$ s und $\tau=1120,9$ s eine relativ lange Inkubationsdauer für das NGP bzw. die FucT. Aus den Zeitkonstanten ist somit auch direkt abzulesen, ob es in der vorgegebenen Inkubationszeit zu einer Sättigung des Signals kommt, von der man nach ca. $3 \cdot \tau$ (95 % Signaländerung) ausgehen kann. In zukünftigen Versuchsansätzen kann somit aus den ersten Minuten schon die nötige Inkubationszeit abgeschätzt werden. Tabelle 5.3 ist weiterhin zu entnehmen, dass das AAL schnell bindet ($\tau=11,8$ s) und durch Zugabe der FUC wieder abgelöst werden kann. Vergleicht man die gemeinsame Zugabe von AAL+FUC mit der alleinigen Zugabe von FUC, liegt eine deutlich langsamere Bindungskinetik vor ($\tau=977,7$ s) und die relative Änderung des Signals ist deutlich kleiner. Durch die transienten EIS-Messungen kann somit nicht nur ein Nachweis der erfolgreichen Bindung geführt werden, vielmehr kann auch die Bindungseffizienz bestimmt werden. Diese Parameter können in späteren Anwendungen z.B. bei der Krebsdiagnose helfen, da bei Krebserkrankungen veränderte Glykanepitope in den Glykoproteinen der Zellmembran vorliegen können und dadurch verändertes Bindungsverhalten zu anderen spezifisch bindenden Biomolekülen vorliegen kann [264].

Messtechnisch betrachtet kann der entwickelte EIS-Sensor genutzt werden, um transiente Immobilisierungen von Biomolekülen, die über Thiol-Gold-Bindungen an die AE binden, zu messen. Dabei zeigt sich, dass durch die Beschichtung der GE und vor allem der RE eine stabile Messung erzielt werden kann. Der verringerte Drift des OCPs (vgl. Kapitel 4.2.3) ist dafür verantwortlich, dass nach der Sättigung der Sensoroberfläche ein konstantes und somit stabiles Verhalten erzielt wird, was zur Endpunktdetektion unabdingbar ist.

Des Weiteren ist festzuhalten, dass alle Messungen auf lediglich zwei Chips durchgeführt wurden. Die Chips wurden zwischen den jeweiligen Experimenten gereinigt (vgl. Kapitel 5.3) und die RE und GE erneut mit PPy:PSS beschichtet (vgl. Kapitel 3.1.2.1). Die Reproduzierbarkeit und die geringen Werte der Standardabweichungen der Messungen zeigen, dass der im Rahmen dieser Arbeit entwickelte Deckelchip die Möglichkeit der Mehrfachnutzung für thiol-basierte Bindungen zu Gold bietet. Damit ist er für die Nutzung als Biosensor in einer EWOD-Plattform geeignet.

In dieser Arbeit wurde zum ersten Mal eine Glykosylierung eines NGPs (Glykosyltransferase) auf einem Biosensor durchgeführt und die Bindungskinetiken mittels EIS charakterisiert. Die Extraktion der Bindungskonstanten liefert damit Einblicke in die Dynamik der Reaktion. Eine Charakterisierung von Galaktosyltransferasen wurde bereits von Xie et al. elektrochemisch mittels EIS- und CV-Messungen durchgeführt [295]. Dabei wurden, im Gegensatz zu dieser Arbeit, lediglich Messpunkte am Ende eines jeden Inkubationsschrittes aufgenommen. Die Möglichkeit des in dieser Arbeit entwickelten EIS-Sensors, die Reaktionsdynamik in Echtzeit zu messen, ist ein perspektivisch vielversprechendes Werkzeug in der Krebsdiagnose [264]. In Kombination mit einer Probenaufbereitung durch das EWOD-Prinzip könnte somit eine vollautomatisierte Krebsdiagnostik *on-chip* mit kleinsten Probenmengen durchgeführt werden.

6. EWOD und simultane EIS-Messung

Im Folgenden wird die Anwendung der portablen EWOD-Plattform PortaDrop mit integrierter EIS-Sensorik betrachtet. Dazu wird ein *proof-of-concept* durchgeführt, bei dem BSA mittels EWOD zum Sensor gebracht wird und unspezifisch an die Elektrode bindet. Dieser Vorgang wird mittels EIS überwacht. Die Überführung der entwickelten *Assays* aus Kapitel 5.2 und Kapitel 5.4 ist aus Gründen von fehlenden Chips und Maschinenausfall leider nicht möglich gewesen.

Zum Nachweis von BSA auf dem EIS-Sensor wird zunächst ein 5 μL Tropfen BSAP ($0,2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) in ein Reservoir auf dem Bodenchip (Dicke Parylene C: $6,00 \mu\text{m}$) geladen. Dieser Tropfen wird von dort aus zunächst zu einem Einzeltropfen *active dispensed* (vgl. Kapitel 4.3.3) und anschließend zum Sensor bewegt (Aktuierungsspannung: $\hat{U}=275 \text{ V}$ bei $f=10 \text{ Hz}$). Die Spannung muss dabei relativ hoch gewählt werden, da zum einen eine relativ dicke Schicht aus Parylene C verwendet wird und zum anderen bei zunehmender BSA-Konzentration die Aktuierbarkeit des Tropfens deutlich abnimmt [296]. Die GE und RE sind mit PPy:PSS beschichtet (vgl. Kapitel 3.1.2.1). Der Tropfen inkubiert 1 h im *virtual microwell*. Simultan werden Impedanzspektren aufgezeichnet. Anschließend wird der Deckelchip entfernt, der Sensor getrocknet und mit DI-Wasser gespült und einer optischen Inspektion unterzogen. Anschließend wird der Sensorchip gereinigt (vgl. Kapitel 5.3) und erneut mit PPy:PSS beschichtet.

Als Negativkontrolle wird nachfolgend ein 5 μL Tropfen PBSp durch das oben beschriebene Verfahren zum *virtual microwell* bewegt, ebenfalls 1 h inkubiert und die Impedanz kontinuierlich gemessen. Abschließend wird die Elektrode erneut optisch untersucht. Nach der optischen Untersuchung nach beiden Inkubationsschritten, kann keine Veränderung an der PPy:PSS-Beschichtung ausgemacht werden. Die Elektrodenbeschichtung aus leitfähigem Polymer bleibt dementsprechend trotz der hohen angelegten Spannungen intakt. Dies ist zu erwarten, da die Spannung im Idealfall über dem Dielektrikum aus Parylene C abfällt.

Abbildung 6.1 zeigt den transienten Verlauf der BSAP- und PBSp-Inkubationen. Dabei wird der Imaginärteil der Impedanz bei der Frequenz $f=400 \text{ Hz}$ ausgewertet und auf den Anfangswert normiert.

Deutlich zu erkennen ist, dass bei beiden Inkubationsschritten jeweils ein Anstieg im normierten Verlauf des Imaginärteils festzustellen ist. BSA bindet unspezifisch auf der Goldelektrode. Die elektrische Doppelschichtkapazität wird somit verringert, da der Abstand der Gegenladung in der EDL zunimmt.

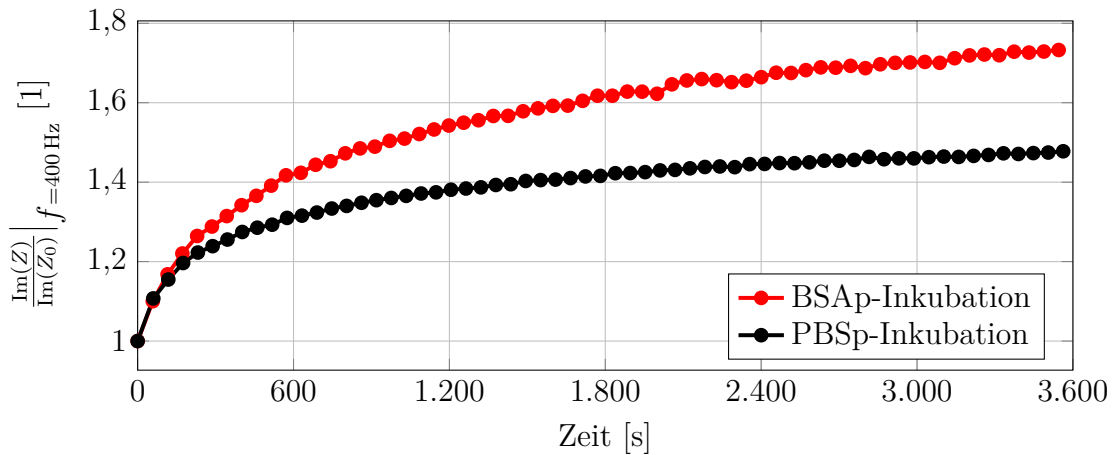


Abbildung 6.1.: Normierter Verlauf des Imaginärteils der elektrischen Impedanz bei der Frequenz $f=400\text{ Hz}$ während der BSAP- bzw. PBSP-Inkubation

Analog zu Kapitel 4.2.1.2 können die einzelnen Spektren an ein ESB gefittet werden. Da zur Detektion von Adsorptionsvorgängen an der Oberfläche einer Elektrode ein Frequenzbereich relevant ist, in dem die EDL dominiert, werden die Spektren von $f=100\text{ Hz}$ bis $f=1\text{ kHz}$ gefittet. In diesem Frequenzbereich sind parasitäre kapazitive Effekte, die im ESB nach Abbildung 4.7 berücksichtigt wurden, zu vernachlässigen. Daher wird das verwendete ESB auf CPE_{DL} und R_{SOL} in Reihe mit R_{ZU} vereinfacht. R_{SOL} und R_{ZU} dominieren im betrachteten Frequenzbereich nicht, stellen aber einen Offset der Kurve dar. Das resultierende ESB ist Abbildung 6.2 zu entnehmen.

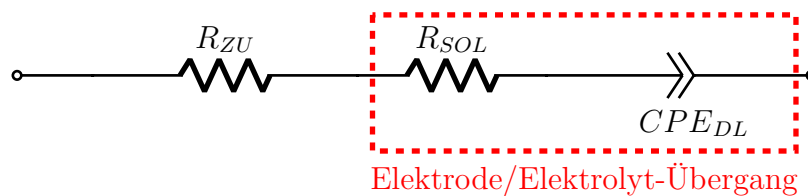


Abbildung 6.2.: Angepasstes ESB zur Modellierung von oberflächennahen Adsorptionsvorgängen

Die Werte der einzelnen Bauelemente im ESB werden analog zu Kapitel 4.2.1.2 mit der freien Software „EIS Analyzer“ bestimmt (Powell-Algorithmus, 500 Iterationen) [246]. Dabei werden Spektren der BSAP- und PBSP-Inkubation im Abstand von 10 min ausgewertet. Die entscheidende Größe ist dabei der Kapazitätswert $Q_0(CPE_{DL})$ (vgl. Gleichung 2.11). Dieser ist normiert auf den Anfangswert beim Zeitpunkt $t=0\text{ s}$ in Abbildung 6.3 aufgetragen.

Wie aus Abbildung 6.3 zu entnehmen, ist eine Verkleinerung der elektrischen Doppelschichtkapazität $Q_0(CPE_{DL})$ für beide Inkubationsschritte zu beobachten. Diese Verringerung korreliert mit dem in Abbildung 6.1 dargestellten Anstieg des normierten

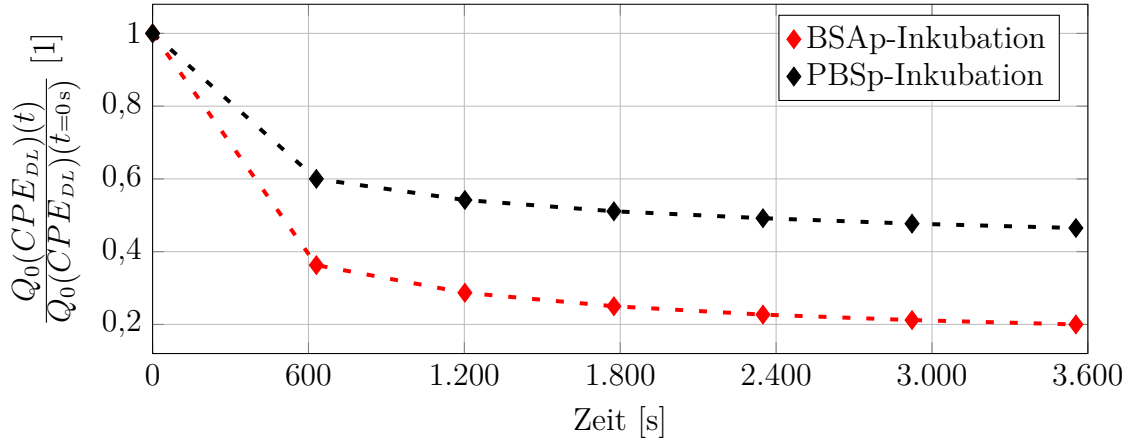


Abbildung 6.3.: Normierter Verlauf der Doppelschichtkapazität $Q_0(CPE_{DL})$

Imaginärteils bei $f=400$ Hz, da die Impedanz des CPEs antiproportional zu $Q_0(CPE)$ ist (vgl. Gleichung 2.11). Auch hier ist die Änderung während der unspezifischen Bindung von BSA höher als die Änderung bei der PBSp-Inkubation, die lediglich durch Anlagerung kleiner Salzionen an der Elektrode und die Ausgleichsvorgänge an den PPy:PSS-beschichteten Elektroden hervorgerufen wird.

Die im Rahmen dieser Arbeit entwickelte EWOD-Plattform kann folglich in Kombination mit einem EIS-Sensor zur Überwachung von Immobilisierungsvorgängen auf der Gold-AE verwendet werden. Die vorgestellten Möglichkeiten zum ESB-Fitting ergänzen hierbei die Auswertung. Für eine simultane Auswertung sind diese allerdings auf Grund des Zeitbedarfs nicht sinnvoll. Für eine schnelle Auswertung in Echtzeit kann allerdings die Impedanz bei einer festgelegten Frequenz ausgewertet werden, bei der das Signal mit den physikalisch vorliegenden Prozessen hinreichend gut korreliert.

7. Zusammenfassung und Ausblick

7.1. Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden zwei EWOD-Plattformen entwickelt und aufgebaut. Für beide Plattformen wurde dabei die Hardware, die Software und ein AVT-Konzept entwickelt und umgesetzt. Die portable EWOD-Plattform PortaDrop ist eine eigenständige Lösung, da keine lizenzierte Software benötigt wird. PortaDrop ist somit flexibel nutzbar und steht somit vielen potentiellen Anwendungsfeldern bereit. Die Herstellungsprozesse für die benötigten Mikrochips wurden im Rahmen dieser Arbeit entwickelt und umgesetzt. Dabei wurde ein Hauptaugenmerk auf die Integration von EIS-Sensoren in den Deckelchip gelegt. Der EIS-Sensor ist mittels eines Sputterprozesses hergestellt und besteht aus Goldelektroden. Gold ist ein gängiges Material, um biologische Proben über Thiolgruppen auf dem Sensor zu immobilisieren. Als Elektrodenmaterial für die EIS ist es nur bedingt geeignet. Daher wurden im Rahmen dieser Arbeit die GE und RE mit dem leitfähigen Polymer PPy:PSS per Elektropolymerisation beschichtet. Die entstandenen Schichten wurden ausführlich auf ihre strukturellen und elektrischen Eigenschaften charakterisiert. Dabei wurde das Schichtwachstum mit den Bauteilgrößen in einem passenden ESB korreliert und die Morphologie der Schicht per AFM und REM untersucht. Darüber hinaus wurde die PPy:PSS-Schicht in Bezug auf den Einsatz in einer 3-Elektrodenanordnung bei der EIS untersucht. Als GE weist die Elektrode eine niedrige Übergangsimpedanz zum Elektrolyten auf, was dazu führt, dass genügend Strom in das System eingeprägt werden kann. Die GE bildet somit wegen der, durch die Poren der PPy:PSS-Beschichtung, zunehmenden Oberfläche bei lateral gleichbleibender Größe keinen Engpass im System. Für die RE hingegen ist ein konstantes Elektrodenpotential notwendig. Messungen des OCPs ergaben einen deutlich verringerten Potentialdrift der beschichteten Elektrode gegenüber der blanken Gold-elektrode. Es konnte gezeigt werden, dass der Einsatz von PPy:PSS-Elektroden sogar die Stabilität bei einer Störung des elektrochemischen Gleichgewichtes z.B. während eines Medienwechsels erhöht.

Die Leistungsfähigkeit der portablen EWOD-Plattform PortaDrop wurde anhand geeigneter Versuche charakterisiert. Mittels einer im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Bildverarbeitung konnte gezeigt werden, dass Tropfen per EWOD-Prinzip aus dem Reservoir präzise und mit geringer Abweichung im Volumen erzeugt werden können. Damit können minimale Tropfenvolumina im Bereich von 250 nL akuiert werden. Es konnte eine maximale Tropfengeschwindigkeit von $89,3 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$ erzielt werden. Die maximale Geschwindigkeit ist stark von der Oberflächenbeschaffenheit der Chips ab-

hängig, ist jedoch nicht durch die entwickelte Ansteuerelektronik beschränkt. Die integrierte EIS-Sensorik wurde im Rahmen dieser Arbeit dazu genutzt, den Austausch eines salzhaltigen PBS-Tropfens mit DI-Wassertropfen zu charakterisieren. Der Austauschvorgang konnte erneut mit einem ESB modelliert werden und der Lösungswiderstand mit dem Salzgehalt der Lösung korreliert werden. Hierbei ergab sich eine hohe Reproduzierbarkeit des Tropfenaustausches im *virtual microwell*.

Für die spätere Anwendung der EWOD-Plattform wurden Bioprotokolle entwickelt. Dabei wurde der Einfluss des nicht-ionischen Tensids Pluronic F-68 auf diese Protokolle untersucht. Es wurde ein Biotin-STR-Modellsystem untersucht und eine Glykosyltransferase. Die Immobilisierung der Biomoleküle wurde über transiente EIS-Messungen nachgewiesen. Für die Glykosyltransferase konnten, dank der verbesserten Stabilität der EIS-Messungen durch die Elektrodenmodifikation mit PPy:PSS, Bindungskinetiken extrahiert werden. Da diese Kinetiken Aufschluss über Affinitäten von Biomolekülen zueinander geben, wie z.B. Antigen zu Antikörper oder Glykan zu Lektin, gilt eine solche Überwachung als perspektivisch leistungsfähige Krebsdiagnostik.

Im Rahmen dieser Arbeit konnte abschließend der Funktionsnachweis aus der entwickelten portablen EWOD-Plattform PortaDrop und dem entwickelten EIS-Sensor gezeigt werden. Dazu wurde BSA per EWOD-Prinzip zum Sensor transportiert und dessen unspezifische Bindung an die Goldelektrode erfolgreich mit EIS gemessen. Im Rahmen dieser Arbeit ist somit ein leistungsfähiges LOC für biomedizinische Anwendungen mit der Möglichkeit zur vollautomatisierten Versuchsdurchführung entstanden.

7.2. Ausblick

Die vorgestellten Ergebnisse haben gezeigt, dass die entwickelte EWOD-Plattform und die integrierte EIS-Sensorik ein großes Potential besitzen, um mit kleinsten Mengen Analyt qualitative Ergebnisse zu erzielen. Sinnvoll ist eine weitere Entwicklung des Herstellungsprozesses für das Dielektrikum auf dem Bodenchip. Hierbei könnten weitere *high-k* Materialien oder z.B. gesputtertes SiO₂ verwendet werden.

Die vorgestellten Messungen zur Glykosyltransferase sind vielversprechend und sollten in Zukunft mit der Möglichkeit des Tropfentransportes per EWOD durchgeführt werden. Andere Bioprotokolle können unter der Voraussetzung, dass ein Zusatz von Pluronic F-68 keinen Einfluss auf das Protokoll hat und gleichzeitig *Biofouling* vermieden wird, auf die EWOD-Plattform transferiert werden.

Generell ist die entwickelte EWOD-Plattform modular aufgebaut. Das heißt, dass der Adapter für die Mikrochips individuell angepasst werden kann. Zusätzlich können in der Software weitere elektrochemische Messmethoden wie z.B. CV-Messungen implementiert werden. Auch ein Einsatz in der optischen Messtechnik ist durch das bereits

implementierte Spektrometer möglich. Dank der implementierten gängigen Schnittstellen, wie z.B. GPIB, ist eine weitgehende Erweiterung ohne großen Aufwand möglich. Die entwickelte EWOD-Plattform PortaDrop kann somit als sehr gute Basis für weitere Forschungsarbeiten im Bereich der DMF genutzt werden.

Anhang

A. Diagramme

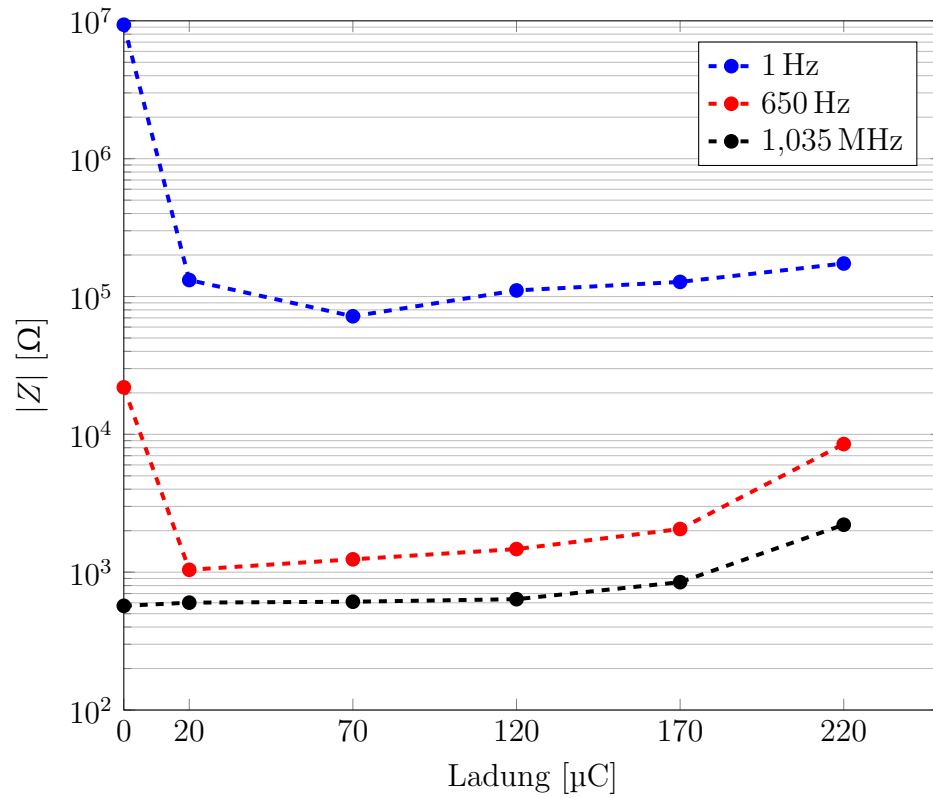


Abbildung A.1.: Badewannenkurven bei verschiedenen Frequenzen der PPy:PSS-Elektrode in PB über der transferierten Ladung. 0 μC repräsentiert dabei die unbeschichtete Goldelektrode

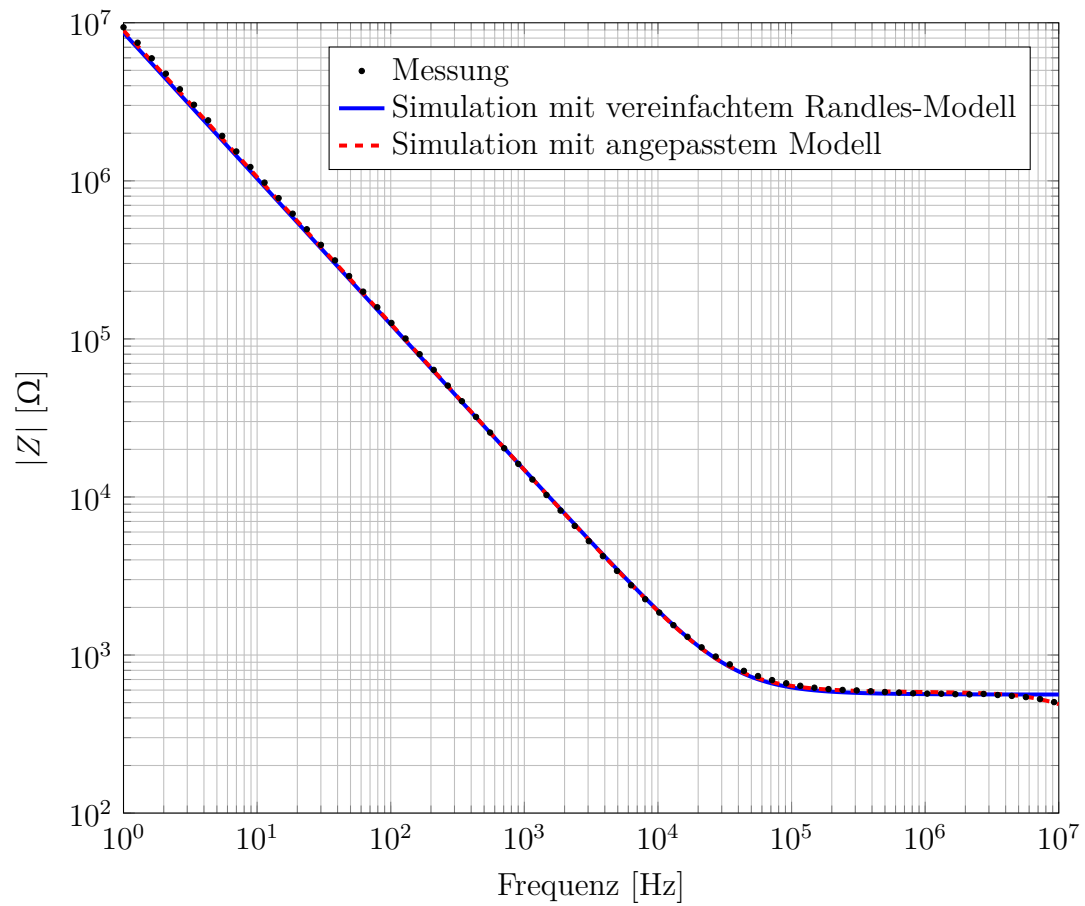


Abbildung A.2.: EIS-Messung des Elektrode/Elektrolyt-Übergangs in PB einer unbeschichteten Gold-GE und Vergleich der Simulationen des Spektrums mit dem vereinfachten Randles-Modell (Abbildung 2.5) und dem angepassten Modell zur Adressierung parasitärer Effekte (Abbildung 4.7)

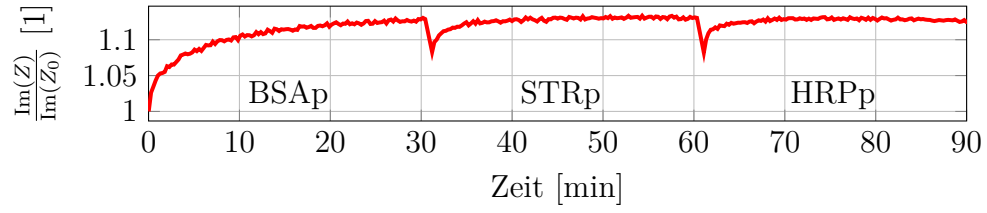
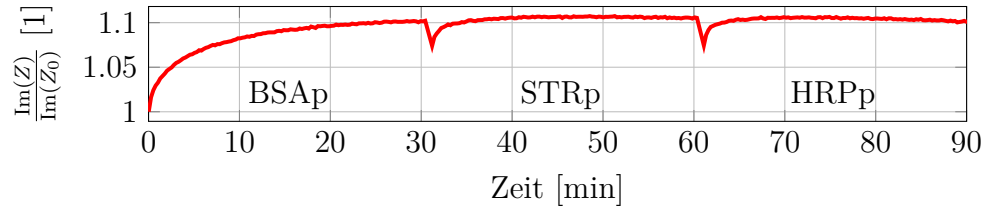
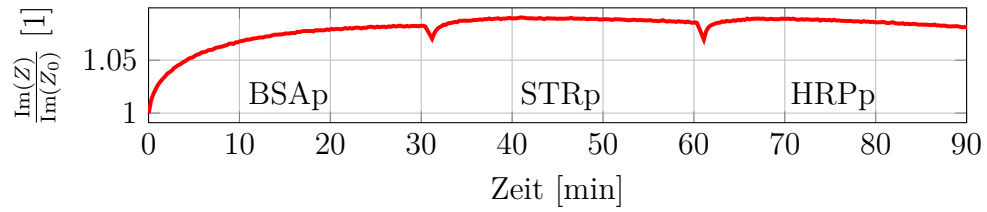
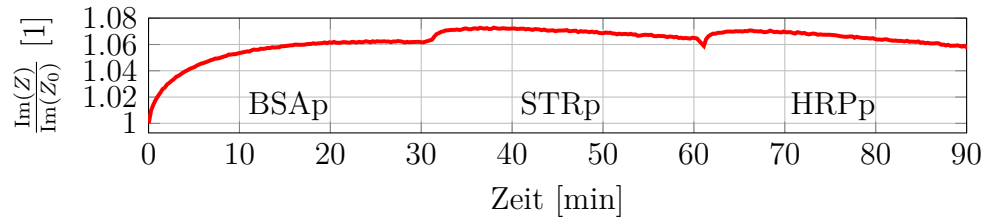
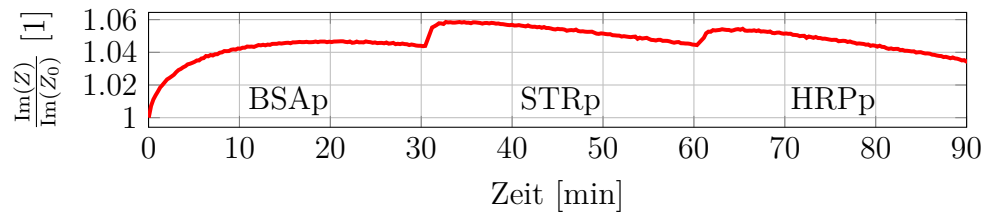
(a) Frequenz $f=232$ Hz(b) Frequenz $f=664$ Hz(c) Frequenz $f=1,902$ kHz(d) Frequenz $f=5,445$ kHz(e) Frequenz $f=15,591$ kHz

Abbildung A.3.: Zeitlicher Verlauf des Imaginärteils der Impedanz Z bei verschiedenen Frequenzen während der BSA-, STR- und HRP-Inkubation auf einer Au-Au-Elektrodenkonfiguration

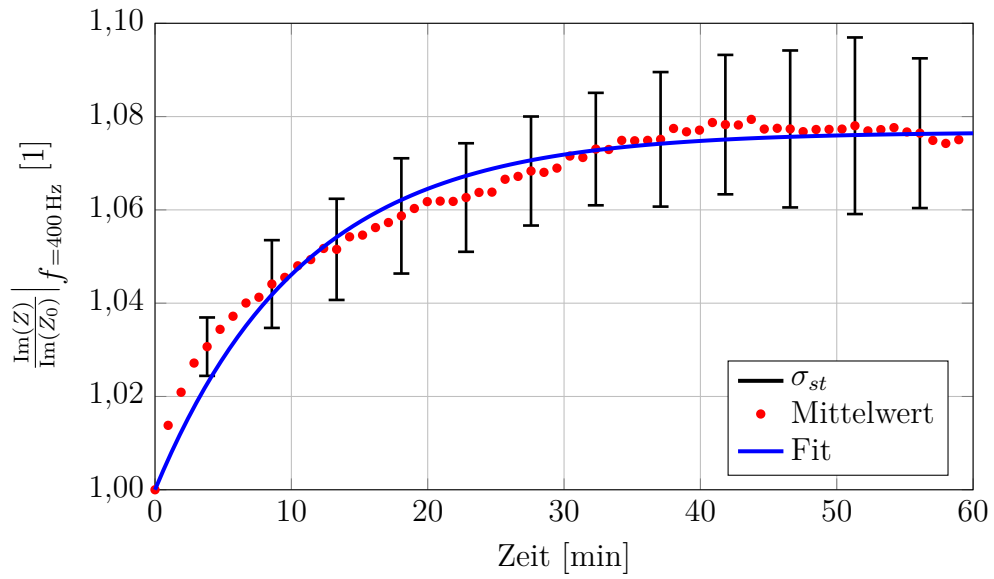


Abbildung A.4.: Zeitlicher Verlauf des Imaginärteils der Impedanz Z bei $f=400$ Hz während der NGP-Inkubation ($n=10$)

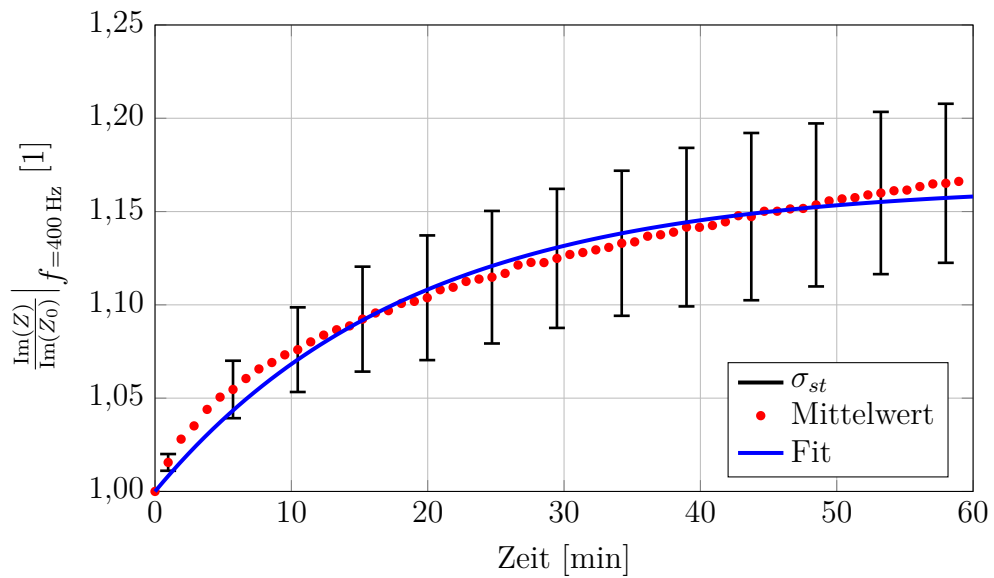


Abbildung A.5.: Zeitlicher Verlauf des Imaginärteils der Impedanz Z bei $f=400$ Hz während der FucT-Inkubation ($n=10$)

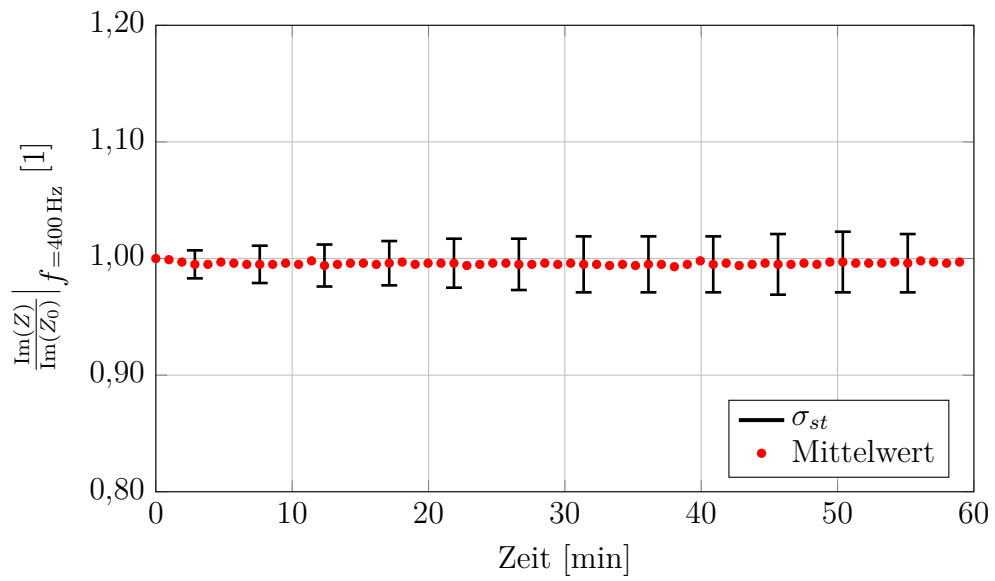


Abbildung A.6.: Zeitlicher Verlauf des Imaginärteils der Impedanz Z bei $f=400 \text{ Hz}$ während der AAL-Inkubation ($n=5$) bei zu kleiner Samplingrate



C. Tabellen

Bauelement	$Q=0\text{ }\mu\text{C}$	$Q=20\text{ }\mu\text{C}$	$Q=70\text{ }\mu\text{C}$	$Q=120\text{ }\mu\text{C}$	$Q=170\text{ }\mu\text{C}$	$Q=220\text{ }\mu\text{C}$
C_{PAR} [pF]	34,9 ($\pm 5,64\%$)	48,4 ($\pm 9,55\%$)	35,9 ($\pm 3,17\%$)	39,5 ($\pm 3,85\%$)	56,7 ($\pm 6,87\%$)	64,9 ($\pm 15,47\%$)
R_{SOL} [Ω]	240,6 ($\pm 1,54\%$)	284,3 ($\pm 1,74\%$)	176,5 ($\pm 1,20\%$)	191,4 ($\pm 1,48\%$)	268,7 ($\pm 2,87\%$)	295,8 ($\pm 19,32\%$)
R_{ZU} [Ω]	339,5 ($\pm 1,11\%$)	352,0 ($\pm 1,45\%$)	448,8 ($\pm 0,48\%$)	469,9 ($\pm 0,62\%$)	652,5 ($\pm 1,27\%$)	4205,4 ($\pm 7,21\%$)
$Q_0(CPE_{\text{DL}})$ [nF $\cdot$ s ⁽ⁿ⁻¹⁾]	20,3 ($\pm 0,65\%$)	$2,77 \cdot 10^3$ ($\pm 0,81\%$)	$5,54 \cdot 10^3$ ($\pm 0,30\%$)	$3,37 \cdot 10^3$ ($\pm 0,30\%$)	$3,22 \cdot 10^3$ ($\pm 0,62\%$)	$3,32 \cdot 10^3$ ($\pm 8,01\%$)
$n(CPE_{\text{DL}})$ [1]	0,93 ($\pm 0,07\%$)	0,77 ($\pm 0,14\%$)	0,65 ($\pm 0,06\%$)	0,68 ($\pm 0,06\%$)	0,65 ($\pm 0,13\%$)	0,5 ($\pm 1,26\%$)

Tabelle C.1.: Entwicklung der Bauelementsgrößen bei verschiedenen Beschichtungen der GE mit PPy:PSS

Abbildungsverzeichnis

2.1	Oberflächenspannungen und Kontaktwinkel, Abbildung nicht maßstabsgetreu	8
2.2	<i>Electrowetting</i> -Effekt, Abbildung nicht maßstabsgetreu	9
2.3	Offene und geschlossene DMF-Konfigurationen, Abbildung nicht maßstabsgetreu. Die Spannung zur Aktuierung von Tropfen wird dabei jeweils zwischen der roten und der schwarz gestreiften Elektrode angelegt.	11
2.4	Elektrochemische Doppelschicht	19
2.5	Vereinfachtes Randles-ESB zur Beschreibung des Elektrode/Elektrolyt-Übergangs	20
2.6	Monomer und Polymer von Pyrrol	21
3.1	Fertig prozessierter Bodenchip mit verzahnten Pfadelektroden	24
3.2	Querschnitt des Bodenchips. Abbildung ist nicht maßstabsgetreu	25
3.3	Querschnitt Deckelchip, Abbildung nicht maßstabsgetreu	26
3.4	Strukturierter ITO-Dünnschicht auf einem Glasobjektträger	27
3.5	Fertig prozessierter Deckelchip	28
3.6	PPy:PSS-beschichtete GE und Pseudo-RE auf Gold	29
3.7	IDEs integriert in den Deckelchip	30
3.8	Schaltplan der <i>Dickson-Chargepump</i> zur Hochspannungserzeugung in der LabView- und relaisbasierten EWOD-Plattform	32
3.9	Gesamtansicht der LabView- und relaisbasierten EWOD-Plattform	33
3.10	Übersicht der portablen EWOD-Plattform PortaDrop	35
3.11	DC-DC Wandler und Regelschleife zur Erzeugung der benötigten Hochspannung	36
3.12	Rechteckgenerator in der portablen EWOD-Plattform	37
3.13	Eine Schalteinheit auf der EWOD-Schaltplatine	39
3.14	Belegung des Steckers zur Padansteuerung	40
3.15	Übersicht über alle verwendeten Relais und deren Verschaltung	41
3.16	I ² C-Pegelwandler	42
3.17	Hauptfenster der GUI	42
3.18	Kompletter Aufbau der portablen EWOD-Plattform PortaDrop	44
3.19	3D-gedruckter Adapter für den Deckelchip zur Justage auf den Bodenchip in der portablen EWOD-Plattform	45

4.1	Sputterrate in Abhängigkeit der Leistung, des Drucks und des Target-Substrat-Abstandes	48
4.2	Diffraktogramme der ITO-Schichten	49
4.3	Transparenz des Glasträgers und der ITO-Schichten bei verschiedenen <i>Annealing</i> -Bedingungen	52
4.4	Schichtwachstum und -erscheinungsbild von PPy:PSS-Schichten mit verschieden transferierter Ladung während der Elektropolymerisation . . .	54
4.5	REM- und AFM-Bilder der blanken Goldelektrode und der mit PPy:PSS-beschichteten Goldelektrode ($Q=170\text{ }\mu\text{C}$)	55
4.6	Änderung der Impedanz der PPy:PSS-Elektrode über der transferierten Ladung in PB	56
4.7	Angepasstes ESB des Elektrode/Elektrolyt-Übergangs für blanke Goldelektroden und PPy:PSS-Elektroden in PB	57
4.8	Verlauf der Bauteilgrößen des elektrischen ESBs für Gold ($0\text{ }\mu\text{C}$) und PPy:PSS-Elektroden in PB über der transferierten Ladung	59
4.9	Schematische Darstellung der zwei unterschiedlichen Wachstumsmechanismen einer PPy:PSS-Beschichtung auf Goldelektroden	60
4.10	OCP einer unbeschichteten Goldelektrode und Elektroden nach der Beschichtung mit PPy:PSS mit verschiedenen transferierten Ladungen bei der Abscheidung	62
4.11	OCP-Messung für Gold und PPy:PSS mit einer Störung des elektrochemischen Gleichgewichts nach 30 min	63
4.12	Zeitlicher Verlauf des Imaginärteils der Impedanz Z bei $f=664\text{ Hz}$. . .	65
4.13	Impedanzspektren für die Au-Au- bzw. Au-PPy:PSS-Elektrodenkonfiguration bei $t=0\text{ s}$ (Referenzspektrum)	67
4.14	Gemessene Ausgangsspannung U_A und der Verstärkungsfaktor der <i>Dickson-Chargepump</i> im unbelasteten Fall	69
4.15	Schaltvorgang eines Relais	70
4.16	Ausgangsspannungsprofil des <i>Boost-Converters</i>	71
4.17	Ausgangsspannung der H-Brücke	72
4.18	Ansteuerung einer Pfadelektrode mit bipolarem Hochspannungsrechtecksignal	73
4.19	Schematischer Ablauf des <i>active dispensings</i>	74
4.20	Bestimmung der Volumina einzelner durch <i>active dispensing</i> erzeugter Tropfen	75
4.21	Maximale Tropfengeschwindigkeit über der angelegten Spannung bei einer Aktuierungsfrequenz von 100 Hz für zwei verschiedene dielektrische Schichten	78

4.22	Schematischer Ablauf des <i>passive dispensings</i>	80
4.23	Medienaustausch beim <i>passive dispensing</i> mit simultaner EIS-Messung am Beispiel von Versuch V1	81
4.24	Modellierung des Elektrode/Elektrolyt-Übergangs für Goldelektroden und einem salzhaltigen Elektrolyten	82
4.25	Normierter Verlauf des Leitwertes der Lösung über der jeweiligen Trop- fennummer (Probengröße: n=10)	83
5.1	Kontaktwinkeländerung eines PBS-Tropfens durch die Zugabe von Plu- ronic F-68 (0,05% w/v) auf einer Teflonoberfläche	89
5.2	Biotin-STR-Modellsystem auf einer Goldoberfläche	90
5.3	Absorptionswerte bei 450 nm für Positiv- und Negativkontrollen des Biotin-Streptavidin-Assays	92
5.4	Zeitlicher Verlauf des Imaginärteils der Impedanz Z bei $f=664$ Hz wäh- rend der BSAP-, STRp- und HRPp-Inkubation auf einer Au-PPy:PSS- Elektrodenkonfiguration (n=3)	93
5.5	Zeitlicher Verlauf des Imaginärteils der Impedanz Z bei $f=664$ Hz wäh- rend der BSAP-, STRp- und HRPp-Inkubation auf einer Au-Au-Elek- trodenkonfiguration (n=3)	94
5.6	Absorptionswerte bei 450 nm vor und nach der Reinigung	96
5.7	Reinigung des Sensorchips mit einer Lösung aus Ammoniumhydroxid (NH_4OH), Wasserstoffperoxid (H_2O_2) und Wasser (H_2O) im Volumen- verhältnis (2:1:7)	97
5.8	Glykosyltransferase auf einer Goldoberfläche	98
5.9	Versuchsplan: EIS-Messung der Glykosyltransferase	100
5.10	Zeitlicher Verlauf des Imaginärteils der Impedanz Z bei $f=400$ Hz wäh- rend der NGP- und FucT-Inkubation (n=10)	101
5.11	Zeitlicher Verlauf des Imaginärteils der Impedanz Z bei $f=400$ Hz wäh- rend der AAL-Inkubation (n=3)	102
5.12	Zeitlicher Verlauf des Imaginärteils der Impedanz Z bei $f=400$ Hz wäh- rend der FUC-Inkubation (n=5)	102
5.13	Zeitlicher Verlauf des Imaginärteils der Impedanz Z bei $f=400$ Hz wäh- rend der Inkubation von AAL in Konkurrenz mit FUC (n=5)	103
6.1	Normierter Verlauf des Imaginärteils der elektrischen Impedanz bei der Frequenz $f=400$ Hz während der BSAP- bzw. PBSp-Inkubation	108
6.2	Angepasstes ESB zur Modellierung von oberflächennahen Adsorptions- vorgängen	108
6.3	Normierter Verlauf der Doppelschichtkapazität $Q_0(CPE_{DL})$	109

A.1	Badewannenkurven bei verschiedenen Frequenzen der PPy:PSS-Elektrode in PB über der transferierten Ladung. $0\mu\text{C}$ repräsentiert dabei die unbeschichtete Goldelektrode	115
A.2	EIS-Messung des Elektrode/Elektrolyt-Übergangs in PB einer unbeschichteten Gold-GE und Vergleich der Simulationen des Spektrums mit dem vereinfachten Randles-Modell (Abbildung 2.5) und dem angepassten Modell zur Adressierung parasitärer Effekte (Abbildung 4.7)	116
A.3	Zeitlicher Verlauf des Imaginärteils der Impedanz Z bei verschiedenen Frequenzen während der BSA-, STR- und HRP-Inkubation auf einer Au-Au-Elektrodenkonfiguration	117
A.4	Zeitlicher Verlauf des Imaginärteils der Impedanz Z bei $f=400\text{ Hz}$ während der NGP-Inkubation ($n=10$)	118
A.5	Zeitlicher Verlauf des Imaginärteils der Impedanz Z bei $f=400\text{ Hz}$ während der FucT-Inkubation ($n=10$)	118
A.6	Zeitlicher Verlauf des Imaginärteils der Impedanz Z bei $f=400\text{ Hz}$ während der AAL-Inkubation ($n=5$) bei zu kleiner Samplingrate	119
B.1	Pfad zur Tropfenbewegung in Form einer Acht auf dem Bodenchip . . .	120

Tabellenverzeichnis

3.1	Geometrische Flächen der einzelnen Elektroden in der 3-Elektrodenanordnung	30
4.1	Spezifischer elektrischer Widerstand ρ der ITO-Dünnschichten in Abhängigkeit der Prozessparameter beim Sputterprozess und <i>Annealing</i> .	51
4.2	Änderung der Bauelementsgrößen bei kontinuierlicher Verdünnung eines PBS-Tropfens durch einzelne DI-Wassertropfen mittels <i>passive dispensing</i> am Beispiel von Versuch V1	82
5.1	Pufferlösungen und Konzentrationen der verwendeten Biomoleküle . . .	98
5.2	Kontaktwinkel der einzelnen Lösungen mit 0,05% w/v Pluronic F-68 auf einer Teflonoberfläche	99
5.3	Fitfunktionen und Zeitkonstanten der Glykosyltransferase	104
C.1	Entwicklung der Bauelementsgrößen bei verschiedenen Beschichtungen der GE mit PPy:PSS	121

Literaturverzeichnis

- [1] SUN, T.; MORGAN, H.: Single-cell microfluidic impedance cytometry: a review. In: *Microfluidics and Nanofluidics* 8 (2010), S. 423–443
- [2] ROZAND, C.: Paper-based analytical devices for point-of-care infectious disease testing. In: *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* 33 (2014), S. 147–156
- [3] GRANT, B.D.; ANDERSON, C.E.; WILLIFORD, J.R.; ALONZO, L.F.; GLUKHOVA, V.A.; BOYLE, D.S.; WEIGL, B.H.; NICHOLS, K.P.: SARS-CoV-2 coronavirus nucleocapsid antigen-detecting half-strip lateral flow assay toward the development of point of care tests using commercially available reagents. In: *Analytical chemistry* 92 (2020), S. 11305–11309
- [4] ABDELGAWAD, M.; WHEELER, A.R.: The digital revolution: a new paradigm for microfluidics. In: *Advanced Materials* 21 (2009), S. 920–925
- [5] CHOI, K.; NG, A.H.; FOBEL, R.; WHEELER, A.R.: Digital microfluidics. In: *Annual review of analytical chemistry* 5 (2012), S. 413–440
- [6] FAIR, R.B.: Digital microfluidics: is a true lab-on-a-chip possible? In: *Microfluidics and Nanofluidics* 3 (2007), S. 245–281
- [7] FOUILLET, Y.; JARY, D.; CHABROL, C.; CLAUSTRE, P.; PEPONNET, C.: Digital microfluidic design and optimization of classic and new fluidic functions for lab on a chip systems. In: *Microfluidics and Nanofluidics* 4 (2008), S. 159–165
- [8] JEBRAIL, M.J.; BARTSCH, M.S.; PATEL, K.D.: Digital microfluidics: a versatile tool for applications in chemistry, biology and medicine. In: *Lab on a Chip* 12 (2012), S. 2452–2463
- [9] MILLER, E.M.; WHEELER, A.R.: Digital bioanalysis. In: *Analytical and bioanalytical chemistry* 393 (2009), S. 419–426
- [10] MUGELE, F.; BARET, J.-C.: Electrowetting: from basics to applications. In: *Journal of Physics: Condensed Matter* 17 (2005), S. R705
- [11] POLLACK, M.G.; PAMULA, V.K.; SRINIVASAN, V.; ECKHARDT, A.E.: Applications of electrowetting-based digital microfluidics in clinical diagnostics. In: *Expert review of molecular diagnostics* 11 (2011), S. 393–407

- [12] QUILLIET, C.; BERGE, B.: Electrowetting: a recent outbreak. In: *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 6 (2001), S. 34–39
- [13] SAMIEI, E.; TABRIZIAN, M.; HOORFAR, M.: A review of digital microfluidics as portable platforms for lab-on a-chip applications. In: *Lab on a Chip* 16 (2016), S. 2376–2396
- [14] TEH, S.-Y.; LIN, R.; HUNG, L.-H.; LEE, A.P.: Droplet microfluidics. In: *Lab on a Chip* 8 (2008), S. 198–220
- [15] WANG, H.; CHEN, L.; SUN, L.: Digital microfluidics: A promising technique for biochemical applications. In: *Frontiers of Mechanical Engineering* 12 (2017), S. 510–525
- [16] LIN, Y.-Y.; WELCH, E.R.; FAIR, R.B.: Low voltage picoliter droplet manipulation utilizing electrowetting-on-dielectric platforms. In: *Sensors and Actuators B: Chemical* 173 (2012), S. 338–345
- [17] NELSON, W.C.; KIM, C.-J.: Monolithic fabrication of EWOD chips for picoliter droplets. In: *Journal of microelectromechanical systems* 20 (2011), S. 1419–1427
- [18] BAIRD, E.; YOUNG, P.; MOHSENI, K.: Electrostatic force calculation for an EWOD-actuated droplet. In: *Microfluidics and Nanofluidics* 3 (2007), S. 635–644
- [19] JONES, T.B.: On the relationship of dielectrophoresis and electrowetting. In: *Langmuir* 18 (2002), S. 4437–4443
- [20] KANG, K.H.: How electrostatic fields change contact angle in electrowetting. In: *Langmuir* 18 (2002), S. 10318–10322
- [21] KANG, K.H.; KANG, I.S.; LEE, C.M.: Wetting tension due to Coulombic interaction in charge-related wetting phenomena. In: *Langmuir* 19 (2003), S. 5407–5412
- [22] MUGELE, F.: Fundamental challenges in electrowetting: from equilibrium shapes to contact angle saturation and drop dynamics. In: *Soft Matter* 5 (2009), S. 3377–3384
- [23] WALKER, S.W.; SHAPIRO, B.: Modeling the fluid dynamics of electrowetting on dielectric (EWOD). In: *Journal of Microelectromechanical Systems* 15 (2006), S. 986–1000
- [24] ZENG, J.; KORSMEYER, T.: Principles of droplet electrohydrodynamics for lab-on-a-chip. In: *Lab on a Chip* 4 (2004), S. 265–277

- [25] CHO, S.K.; MOON, H.; KIM, C.-J.: Creating, transporting, cutting, and merging liquid droplets by electrowetting-based actuation for digital microfluidic circuits. In: *Journal of microelectromechanical systems* 12 (2003), S. 70–80
- [26] HAYES, R.A.; FEENSTRA, B.J.: Video-speed electronic paper based on electrowetting. In: *Nature* 425 (2003), S. 383–385
- [27] ROQUES-CARMES, T.; HAYES, R.A.; FEENSTRA, B.; SCHLANGEN, L.J.: Liquid behavior inside a reflective display pixel based on electrowetting. In: *Journal of applied physics* 95 (2004), S. 4389–4396
- [28] KIM, D.Y.; STECKL, A.J.: Electrowetting on paper for electronic paper display. In: *ACS applied materials & interfaces* 2 (2010), S. 3318–3323
- [29] NORIAN, H.; FIELD, R.M.; KYMISSIS, I.; SHEPARD, K.L.: An integrated CMOS quantitative-polymerase-chain-reaction lab-on-chip for point-of-care diagnostics. In: *Lab on a Chip* 14 (2014), S. 4076–4084
- [30] CHANG, Y.-H.; LEE, G.-B.; HUANG, F.-C.; CHEN, Y.-Y.; LIN, J.-L.: Integrated polymerase chain reaction chips utilizing digital microfluidics. In: *Biomedical microdevices* 8 (2006), S. 215–225
- [31] AU, S.H.; CHAMBERLAIN, M.D.; MAHESH, S.; SEFTON, M.V.; WHEELER, A.R.: Hepatic organoids for microfluidic drug screening. In: *Lab on a Chip* 14 (2014), S. 3290–3299
- [32] BARBULOVIC-NAD, I.; YANG, H.; PARK, P.S.; WHEELER, A.R.: Digital microfluidics for cell-based assays. In: *Lab on a Chip* 8 (2008), S. 519–526
- [33] AU, S.H.; SHIH, S.C.; WHEELER, A.R.: Integrated microbioreactor for culture and analysis of bacteria, algae and yeast. In: *Biomedical microdevices* 13 (2011), S. 41–50
- [34] BARBULOVIC-NAD, I.; AU, S.H.; WHEELER, A.R.: A microfluidic platform for complete mammalian cell culture. In: *Lab on a Chip* 10 (2010), S. 1536–1542
- [35] BOGOJEVIC, D.; CHAMBERLAIN, M.D.; BARBULOVIC-NAD, I.; WHEELER, A.R.: A digital microfluidic method for multiplexed cell-based apoptosis assays. In: *Lab on a Chip* 12 (2012), S. 627–634
- [36] EYDELNANT, I.A.; LI, B.B.; WHEELER, A.R.: Microgels on-demand. In: *Nature communications* 5 (2014), S. 1–9

- [37] EYDELNANT, I.A.; UDDAYASANKAR, U.; LIAO, M.W.; WHEELER, A.R.: Virtual microwells for digital microfluidic reagent dispensing and cell culture. In: *Lab on a Chip* 12 (2012), S. 750–757
- [38] FAN, S.-K.; HUANG, P.-W.; WANG, T.-T.; PENG, Y.-H.: Cross-scale electric manipulations of cells and droplets by frequency-modulated dielectrophoresis and electrowetting. In: *Lab on a Chip* 8 (2008), S. 1325–1331
- [39] FIDDES, L.K.; LUK, V.N.; AU, S.H.; NG, A.H.; LUK, V.; KUMACHEVA, E.; WHEELER, A.R.: Hydrogel discs for digital microfluidics. In: *Biomicrofluidics* 6 (2012), S. 014112
- [40] SHIH, S.C.; BARBULOVIC-NAD, I.; YANG, X.; FOBEL, R.; WHEELER, A.R.: Digital microfluidics with impedance sensing for integrated cell culture and analysis. In: *Biosensors and Bioelectronics* 42 (2013), S. 314–320
- [41] WITTERS, D.; VERGAUWE, N.; VERMEIR, S.; CEYSSENS, F.; LIEKENS, S.; PUERS, R.; LAMMERTYN, J.: Biofunctionalization of electrowetting-on-dielectric digital microfluidic chips for miniaturized cell-based applications. In: *Lab on a Chip* 11 (2011), S. 2790–2794
- [42] PARK, S.; WIJETHUNGA, P.A.; MOON, H.; HAN, B.: On-chip characterization of cryoprotective agent mixtures using an EWOD-based digital microfluidic device. In: *Lab on a Chip* 11 (2011), S. 2212–2221
- [43] SHAH, G.J.; OHTA, A.T.; CHIOU, E.P.-Y.; WU, M.C.: EWOD-driven droplet microfluidic device integrated with optoelectronic tweezers as an automated platform for cellular isolation and analysis. In: *Lab on a Chip* 9 (2009), S. 1732–1739
- [44] NG, A.H.; FOBEL, R.; FOBEL, C.; LAMANNA, J.; RACKUS, D.G.; SUMMERS, A.; DIXON, C.; DRYDEN, M.D.; LAM, C.; HO, M.: A digital microfluidic system for serological immunoassays in remote settings. In: *Science translational medicine* 10 (2018), S. eaar6076
- [45] CHOI, K.; NG, A.H.; FOBEL, R.; CHANG-YEN, D.A.; YARNELL, L.E.; PEARSON, E.L.; OLEKSAK, C.M.; FISCHER, A.T.; LUOMA, R.P.; ROBINSON, J.M.: Automated digital microfluidic platform for magnetic-particle-based immunoassays with optimization by design of experiments. In: *Analytical chemistry* 85 (2013), S. 9638–9646
- [46] MILLER, E.M.; NG, A.H.; UDDAYASANKAR, U.; WHEELER, A.R.: A digital microfluidic approach to heterogeneous immunoassays. In: *Analytical and bio-analytical chemistry* 399 (2011), S. 337–345

- [47] NG, A.H.; CHOI, K.; LUOMA, R.P.; ROBINSON, J.M.; WHEELER, A.R.: Digital microfluidic magnetic separation for particle-based immunoassays. In: *Analytical chemistry* 84 (2012), S. 8805–8812
- [48] TSALOGLOU, M.-N.; JACOBS, A.; MORGAN, H.: A fluorogenic heterogeneous immunoassay for cardiac muscle troponin cTnI on a digital microfluidic device. In: *Analytical and bioanalytical chemistry* 406 (2014), S. 5967–5976
- [49] SISTA, R.; HUA, Z.; THWAR, P.; SUDARSAN, A.; SRINIVASAN, V.; ECKHARDT, A.; POLLACK, M.; PAMULA, V.: Development of a digital microfluidic platform for point of care testing. In: *Lab on a Chip* 8 (2008), S. 2091–2104
- [50] SISTA, R.S.; ECKHARDT, A.E.; SRINIVASAN, V.; POLLACK, M.G.; PALANKI, S.; PAMULA, V.K.: Heterogeneous immunoassays using magnetic beads on a digital microfluidic platform. In: *Lab on a Chip* 8 (2008), S. 2188–2196
- [51] MALIC, L.; VERES, T.; TABRIZIAN, M.: Biochip functionalization using electrowetting-on-dielectric digital microfluidics for surface plasmon resonance imaging detection of DNA hybridization. In: *Biosensors and Bioelectronics* 24 (2009), S. 2218–2224
- [52] MALIC, L.; VERES, T.; TABRIZIAN, M.: Two-dimensional droplet-based surface plasmon resonance imaging using electrowetting-on-dielectric microfluidics. In: *Lab on a Chip* 9 (2009), S. 473–475
- [53] MALIC, L.; VERES, T.; TABRIZIAN, M.: Nanostructured digital microfluidics for enhanced surface plasmon resonance imaging. In: *Biosensors and Bioelectronics* 26 (2011), S. 2053–2059
- [54] YAFIA, M.; AHMADI, A.; HOORFAR, M.; NAJJARAN, H.: Ultra-portable smart-phone controlled integrated digital microfluidic system in a 3D-printed modular assembly. In: *Micromachines* 6 (2015), S. 1289–1305
- [55] DE CAMPOS, R.P.; RACKUS, D.G.; SHIH, R.; ZHAO, C.; LIU, X.; WHEELER, A.R.: 'Plug-n-Play' Sensing with Digital Microfluidics. In: *Analytical chemistry* 91 (2019), S. 2506–2515
- [56] DRYDEN, M.D.; RACKUS, D.D.; SHAMSI, M.H.; WHEELER, A.R.: Integrated digital microfluidic platform for voltammetric analysis. In: *Analytical chemistry* 85 (2013), S. 8809–8816
- [57] DRYDEN, M.D.; WHEELER, A.R.: DStat: a versatile, open-source potentiostat for electroanalysis and integration. In: *PloS one* 10 (2015), S. e0140349

- [58] FARZBOD, A.; MOON, H.: Integration of reconfigurable potentiometric electrochemical sensors into a digital microfluidic platform. In: *Biosensors and Bioelectronics* 106 (2018), S. 37–42
- [59] KARUWAN, C.; SUKTHANG, K.; WISITSORAAT, A.; PHOKHARATKUL, D.; PATTANASETTAKUL, V.; WECHSATOL, W.; TUANTRANONT, A.: Electrochemical detection on electrowetting-on-dielectric digital microfluidic chip. In: *Talanta* 84 (2011), S. 1384–1389
- [60] LEDERER, T.; CLARA, S.; JAKOBY, B.; HILBER, W.: Integration of impedance spectroscopy sensors in a digital microfluidic platform. In: *Microsystem technologies* 18 (2012), S. 1163–1180
- [61] RACKUS, D.G.; DRYDEN, M.D.; LAMANNA, J.; ZARAGOZA, A.; LAM, B.; KELLEY, S.O.; WHEELER, A.R.: A digital microfluidic device with integrated nanostructured microelectrodes for electrochemical immunoassays. In: *Lab on a Chip* 15 (2015), S. 3776–3784
- [62] SHAMSI, M.H.; CHOI, K.; NG, A.H.; CHAMBERLAIN, M.D.; WHEELER, A.R.: Electrochemiluminescence on digital microfluidics for microRNA analysis. In: *Biosensors and Bioelectronics* 77 (2016), S. 845–852
- [63] SHAMSI, M.H.; CHOI, K.; NG, A.H.; WHEELER, A.R.: A digital microfluidic electrochemical immunoassay. In: *Lab on a Chip* 14 (2014), S. 547–554
- [64] YU, Y.; SHAMSI, M.H.; KRASTEV, D.L.; DRYDEN, M.D.; LEUNG, Y.; WHEELER, A.R.: A microfluidic method for dopamine uptake measurements in dopaminergic neurons. In: *Lab on a Chip* 16 (2016), S. 543–552
- [65] YU, Y.; SHAMSI, M.H.; KRASTEV, D.L.; WHEELER, A.R.: A microfluidic platform for in-line dopamine uptake measurements in dopaminergic neurons. In: *18th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences, 2014, San Antonio, USA*
- [66] HERING, E.; MARTIN, R.; STOHRER, M.: *Physik für Ingenieure*. Springer-Verlag, 2007. – ISBN 3540351485
- [67] HARDT, S.; SCHÖNFELD, F.: *Microfluidic technologies for miniaturized analysis systems*. Springer Science & Business Media, 2007. – ISBN 0387684247
- [68] DIGILOV, R.: Charge-induced modification of contact angle: the secondary electrocapillary effect. In: *Langmuir* 16 (2000), S. 6719–6723

- [69] BROESCH, D.J.; FRECHETTE, J.: From concave to convex: capillary bridges in slit pore geometry. In: *Langmuir* 28 (2012), S. 15548–15554
- [70] FAN, S.-K.; HSU, Y.-W.; CHEN, C.-H.: Encapsulated droplets with metered and removable oil shells by electrowetting and dielectrophoresis. In: *Lab on a Chip* 11 (2011), S. 2500–2508
- [71] FAN, S.-K.; WANG, F.-M.: Multiphase optofluidics on an electro-microfluidic platform powered by electrowetting and dielectrophoresis. In: *Lab on a Chip* 14 (2014), S. 2728–2738
- [72] MOON, H.; CHO, S.K.; GARRELL, R.L.; KIM, C.-J.: Low voltage electrowetting-on-dielectric. In: *Journal of applied physics* 92 (2002), S. 4080–4087
- [73] PENG, C.; ZHANG, Z.; JU, Y.S.: EWOD (electrowetting on dielectric) digital microfluidics powered by finger actuation. In: *Lab on a Chip* 14 (2014), S. 1117–1122
- [74] CHANG, J.-H.; CHOI, D.Y.; HAN, S.; PAK, J.J.: Driving characteristics of the electrowetting-on-dielectric device using atomic-layer-deposited aluminum oxide as the dielectric. In: *Microfluidics and Nanofluidics* 8 (2010), S. 269–273
- [75] CHEN, J.; YU, Y.; ZHANG, K.; WU, C.; LIU, A.Q.; ZHOU, J.: Study of cyanoethyl pullulan as insulator for electrowetting. In: *Sensors and Actuators B: Chemical* 199 (2014), S. 183–189
- [76] LIN, Y.-Y.; EVANS, R.D.; WELCH, E.; HSU, B.-N.; MADISON, A.C.; FAIR, R.B.: Low voltage electrowetting-on-dielectric platform using multi-layer insulators. In: *Sensors and Actuators B: Chemical* 150 (2010), S. 465–470
- [77] VALLET, M.; VALLADE, M.; BERGE, B.: Limiting phenomena for the spreading of water on polymer films by electrowetting. In: *European Physical Journal B: Condensed Matter and Complex Systems* 11 (1999), S. 583–591
- [78] GENG, H.; CHO, S.K.: Antifouling digital microfluidics using lubricant infused porous film. In: *Lab on a Chip* 19 (2019), S. 2275–2283
- [79] CHAE, J.B.; KWON, J.O.; YANG, J.S.; RHEE, K.; CHUNG, S.K.: Investigation on the thickness effect of a hydrophobic layer for operating voltage reduction in EWOD systems. In: *26th International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS), 2013, Taipei, Taiwan*
- [80] DHINDSA, M.; KUIPER, S.; HEIKENFELD, J.: Reliable and low-voltage electrowetting on thin parylene films. In: *Thin Solid Films* 519 (2011), S. 3346–3351

- [81] CUI, W.; ZHANG, M.; DUAN, X.; PANG, W.; ZHANG, D.; ZHANG, H.: Dynamics of electrowetting droplet motion in digital microfluidics systems: from dynamic saturation to device physics. In: *Micromachines* 6 (2015), S. 778–789
- [82] JONES, T.B.: An electromechanical interpretation of electrowetting. In: *Journal of Micromechanics and Microengineering* 15 (2005), S. 1184
- [83] PEYKOV, V.; QUINN, A.; RALSTON, J.: Electrowetting: a model for contact-angle saturation. In: *Colloid and Polymer Science* 278 (2000), S. 789–793
- [84] SHAMAI, R.; ANDELMAN, D.; BERGE, B.; HAYES, R.: Water, electricity, and between... On electrowetting and its applications. In: *Soft Matter* 4 (2008), S. 38–45
- [85] QUINN, A.; SEDEV, R.; RALSTON, J.: Contact angle saturation in electrowetting. In: *The journal of physical chemistry B* 109 (2005), S. 6268–6275
- [86] PAPATHANASIOU, A.; PAPAIOANNOU, A.; BOUDOUVIS, A.: Illuminating the connection between contact angle saturation and dielectric breakdown in electrowetting through leakage current measurements. In: *Journal of Applied Physics* 103 (2008), S. 034901
- [87] DRYGIANNAKIS, A.I.; PAPATHANASIOU, A.G.; BOUDOUVIS, A.G.: On the connection between dielectric breakdown strength, trapping of charge, and contact angle saturation in electrowetting. In: *Langmuir* 25 (2009), S. 147–152
- [88] CHEVALLIOT, S.; KUIPER, S.; HEIKENFELD, J.: Experimental validation of the invariance of electrowetting contact angle saturation. In: *Journal of Adhesion Science and Technology* 26 (2012), S. 1909–1930
- [89] PAIK, P.; PAMULA, V.; POLLACK, M.; CHAKRABARTY, K.: Coplanar digital microfluidics using standard printed circuit board processes. In: *9th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences, 2005, Boston, USA*
- [90] YI, U.-C.; KIM, C.-J.: Characterization of electrowetting actuation on addressable single-side coplanar electrodes. In: *Journal of Micromechanics and Microengineering* 16 (2006), S. 2053
- [91] OH, S.-H.; ESCOBEDO, C.; BROLO, A.G.: *Miniature Fluidic Devices for Rapid Biological Detection*. Springer, 2018. – ISBN 3319647474

- [92] KIRBY, A.E.; WHEELER, A.R.: Microfluidic origami: a new device format for in-line reaction monitoring by nanoelectrospray ionization mass spectrometry. In: *Lab on a Chip* 13 (2013), S. 2533–2540
- [93] CHEN, J.Z.; TROIAN, S.M.; DARHUBER, A.A.; WAGNER, S.: Effect of contact angle hysteresis on thermocapillary droplet actuation. In: *Journal of Applied Physics* 97 (2005), S. 014906
- [94] DARHUBER, A.A.; VALENTINO, J.P.; TROIAN, S.M.; WAGNER, S.: Thermocapillary actuation of droplets on chemically patterned surfaces by programmable microheater arrays. In: *Journal of Microelectromechanical Systems* 12 (2003), S. 873–879
- [95] GUO, Z.-G.; ZHOU, F.; HAO, J.-C.; LIANG, Y.-M.; LIU, W.-M.; HUCK, W.T.: “Stick and slide” ferrofluidic droplets on superhydrophobic surfaces. In: *Applied physics letters* 89 (2006), S. 081911
- [96] RENAUDIN, A.; TABOURIER, P.; CAMART, J.-C.; DRUON, C.: Surface acoustic wave two-dimensional transport and location of microdroplets using echo signal. In: *Journal of Applied Physics* 100 (2006), S. 116101
- [97] GUTTENBERG, Z.; MÜLLER, H.; HABERMÜLLER, H.; GEISBAUER, A.; PIPPER, J.; FELBEL, J.; KIELPINSKI, M.; SCRIBA, J.; WIXFORTH, A.: Planar chip device for PCR and hybridization with surface acoustic wave pump. In: *Lab on a Chip* 5 (2005), S. 308–317
- [98] HUNT, T.P.; ISSADORE, D.; WESTERVELT, R.M.: Integrated circuit/microfluidic chip to programmably trap and move cells and droplets with dielectrophoresis. In: *Lab on a Chip* 8 (2008), S. 81–87
- [99] PEI, S.N.; VALLEY, J.K.; NEALE, S.L.; JAMSHIDI, A.; HSU, H.-Y.; WU, M.C.: Light-actuated digital microfluidics for large-scale, parallel manipulation of arbitrarily sized droplets. In: *23rd International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS), 2010, Hong Kong, China*
- [100] CHIOU, P.Y.; MOON, H.; TOSHIYOSHI, H.; KIM, C.-J.; WU, M.C.: Light actuation of liquid by optoelectrowetting. In: *Sensors and actuators A: physical* 104 (2003), S. 222–228
- [101] GENG, H.; FENG, J.; STABRYLA, L.M.; CHO, S.K.: Dielectrowetting manipulation for digital microfluidics: creating, transporting, splitting, and merging of droplets. In: *Lab on a Chip* 17 (2017), S. 1060–1068

- [102] POLLACK, M.; SHENDEROV, A.; FAIR, R.: Electrowetting-based actuation of droplets for integrated microfluidics. In: *Lab on a Chip* 2 (2002), S. 96–101
- [103] NIKAPITIYA, N.J.B.; YOU, S.M.; MOON, H.: Droplet dispensing and splitting by electrowetting on dielectric digital microfluidics. In: *27th International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS), 2014, San Francisco, USA*
- [104] NELSON, W.C.; KIM, C.-J.: Droplet actuation by electrowetting-on-dielectric (EWOD): A review. In: *Journal of Adhesion Science and Technology* 26 (2012), S. 1747–1771
- [105] NG, A.H.; LI, B.B.; CHAMBERLAIN, M.D.; WHEELER, A.R.: Digital microfluidic cell culture. In: *Annual review of biomedical engineering* 17 (2015), S. 91–112
- [106] ZHAO, Y.-P.; WANG, Y.: Fundamentals and applications of electrowetting: A critical review. In: *Reviews of Adhesion and Adhesives* 1 (2013), S. 114–174
- [107] MALIC, L.; BRASSARD, D.; VERES, T.; TABRIZIAN, M.: Integration and detection of biochemical assays in digital microfluidic LOC devices. In: *Lab on a Chip* 10 (2010), S. 418–431
- [108] GONG, J.; FAN, S.-K.; KIM, C.-J.: Portable digital microfluidics platform with active but disposable lab-on-chip. In: *17th International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS), 2004, Maastricht, Netherlands*
- [109] GONG, M.; KIM, C.-J.: Two-dimensional digital microfluidic system by multi-layer printed circuit board. In: *18th International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS), 2005, Miami Beach, USA*
- [110] HOANG, T.; LY, B.-H.; LE, T.-X.; HUYNH, T.-T.; NGUYEN, H.-T.; VAN VO, T.; PHAM, T.T.H. ; HUYNH, K.: Minimal microfabrication required digital microfluidic system toward point-of-care nucleic acid amplification test application for developing countries. In: *Microsystem Technologies* (2020), S. 1–11
- [111] WAN, L.; GAO, J.; CHEN, T.; DONG, C.; LI, H.; WEN, Y.-Z.; LUN, Z.-R.; JIA, Y.; MAK, P.-I.; MARTINS, R.P.: LampPort: a handheld digital microfluidic device for loop-mediated isothermal amplification (LAMP). In: *Biomedical microdevices* 21 (2019), S. 9
- [112] KALSI, S.; VALIADI, M.; TSALOGLOU, M.-N.; PARRY-JONES, L.; JACOBS, A.; WATSON, R.; TURNER, C.; AMOS, R.; HADWEN, B.; BUSE, J.: Rapid and sensitive detection of antibiotic resistance on a programmable digital microfluidic platform. In: *Lab on a chip* 15 (2015), S. 3065–3075

- [113] FOBEL, R.; FOBEL, C.; WHEELER, A.R.: DropBot: An open-source digital microfluidic control system with precise control of electrostatic driving force and instantaneous drop velocity measurement. In: *Applied Physics Letters* 102 (2013), S. 193513
- [114] <http://www.gaudi.ch/OpenDrop/>
- [115] ZENG, Z.; ZHANG, K.; WANG, W.; XU, W.; ZHOU, J.: Portable electrowetting digital microfluidics analysis platform for chemiluminescence sensing. In: *IEEE Sensors Journal* 16 (2016), S. 4531–4536
- [116] COUDRON, L.; MCDONNELL, M.B.; MUNRO, I.; MCCLUSKEY, D.K.; JOHNSTON, I.D.; TAN, C.K.; TRACEY, M.C.: Fully integrated digital microfluidics platform for automated immunoassay; a versatile tool for rapid, specific detection of a wide range of pathogens. In: *Biosensors and Bioelectronics* 128 (2019), S. 52–60
- [117] KIM, H.; BARTSCH, M.S.; RENZI, R.F.; HE, J.; VAN DE VREUGDE, J.L.; CLAUDNIC, M.R.; PATEL, K.D.: Automated digital microfluidic sample preparation for next-generation DNA sequencing. In: *JALA: Journal of the Association for Laboratory Automation* 16 (2011), S. 405–414
- [118] LEI, K.-M.; MAK, P.-I.; LAW, M.-K.; MARTINS, R.P.: A μ NMR CMOS Transceiver Using a Butterfly-Coil Input for Integration With a Digital Microfluidic Device Inside a Portable Magnet. In: *IEEE Journal of Solid-State Circuits* 51 (2016), S. 2274–2286
- [119] LEI, K.-M.; MAK, P.-I.; LAW, M.-K.; MARTINS, R.P.: NMR-DMF: a modular nuclear magnetic resonance-digital microfluidics system for biological assays. In: *Analyst* 139 (2014), S. 6204–6213
- [120] SWYER, I.; SOONG, R.; DRYDEN, M.D.; FEY, M.; MAAS, W.E.; SIMPSON, A.; WHEELER, A.R.: Interfacing digital microfluidics with high-field nuclear magnetic resonance spectroscopy. In: *Lab on a Chip* 16 (2016), S. 4424–4435
- [121] SWYER, I.; VON DER ECKEN, S.; WU, B.; JENNE, A.; SOONG, R.; VINCENT, F.; SCHMIDIG, D.; FREI, T.; BUSSE, F.; STRONKS, H.J.; SIMPSON, A.J.; WHEELER, A.R.: Digital microfluidics and nuclear magnetic resonance spectroscopy for in situ diffusion measurements and reaction monitoring. In: *Lab on a Chip* 19 (2019), S. 641–653
- [122] CHATTERJEE, D.; HETAYOTHIN, B.; WHEELER, A.R.; KING, D.J.; GARRELL, R.L.: Droplet-based microfluidics with nonaqueous solvents and solutions. In: *Lab on a Chip* 6 (2006), S. 199–206

- [123] FANJUL-BOLADO, P.; GONZÁLEZ-GARCÍA, M.B.; COSTA-GARCÍA, A.: Amperometric detection in TMB/HRP-based assays. In: *Analytical and Bioanalytical chemistry* 382 (2005), S. 297–302
- [124] SRIGUNAPALAN, S.; EYDELNANT, I.A.; SIMMONS, C.A. ; WHEELER, A.R.: A digital microfluidic platform for primary cell culture and analysis. In: *Lab on a Chip* 12 (2012), S. 369–375
- [125] NG, A.H.; CHAMBERLAIN, M.D.; SITU, H.; LEE, V.; WHEELER, A.R.: Digital microfluidic immunocytochemistry in single cells. In: *Nature communications* 6 (2015), S. 1–12
- [126] PRESTON, D.J.; ANDERS, A.; BARABADI, B.; TIO, E.; ZHU, Y.; DAI, D.A.; WANG, E.N.: Electrowetting-on-dielectric actuation of a vertical translation and angular manipulation stage. In: *Applied Physics Letters* 109 (2016), S. 244102
- [127] HONG, J.; LEE, S.J.: Detaching droplets in immiscible fluids from a solid substrate with the help of electrowetting. In: *Lab on a Chip* 15 (2015), S. 900–907
- [128] CHAE, J.; SHIN, I.; RHEE, K.; CHUNG, S.: Three-dimensional digital microfluidics using an alternative current electrowetting-on-dielectric (AC-EWOD). In: *The 17th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (Transducers & Eurosensors XXVII), 2013, Barcelona, Spain*
- [129] SUPEKAR, O.D.; ZOHRABI, M.; GOPINATH, J.T.; BRIGHT, V.M.: Enhanced response time of electrowetting lenses with shaped input voltage functions. In: *Langmuir* 33 (2017), S. 4863–4869
- [130] YANG, J.; WANG, D.; LIU, H.; LI, L.; CHEN, L.; JIANG, H.-R.; DENG, X.: An electric-field-dependent drop selector. In: *Lab on a Chip* 19 (2019), S. 1296–1304
- [131] ABDELGAWAD, M.; FREIRE, S.L.; YANG, H.; WHEELER, A.R.: All-terrain droplet actuation. In: *Lab on a Chip* 8 (2008), S. 672–677
- [132] SUN, T.; GREEN, N.G.; MORGAN, H.: Analytical and numerical modeling methods for impedance analysis of single cells on-chip. In: *Nano* 3 (2008), S. 55–63
- [133] SUN, T.; SWINDLE, E.J.; COLLINS, J.E.; HOLLOWAY, J.A.; DAVIES, D.E.; MORGAN, H.: On-chip epithelial barrier function assays using electrical impedance spectroscopy. In: *Lab on a Chip* 10 (2010), S. 1611–1617
- [134] EL HASNI, A.; SCHMITZ, C.; BUI-GÖBBELS, K.; BRÄUNIG, P.; JAHNEN-DECHENT, W.; SCHNAKENBERG, U.: Electrical impedance spectroscopy of single

- cells in hydrodynamic traps. In: *Sensors and Actuators B: Chemical* 248 (2017), S. 419–429
- [135] ZHU, Z.; FREY, O.; HAANDBAEK, N.; FRANKE, F.; RUDOLF, F.; HIERLEMANN, A.: Time-lapse electrical impedance spectroscopy for monitoring the cell cycle of single immobilized *S. pombe* cells. In: *Scientific reports* 5 (2015), S. 1–14
- [136] ZHANG, X.; WANG, W.; LI, F.; VOICULESCU, I.: Stretchable impedance sensor for mammalian cell proliferation measurements. In: *Lab on a Chip* 17 (2017), S. 2054–2066
- [137] YANG, L.; LI, Y.; GRIFFIS, C.L.; JOHNSON, M.G.: Interdigitated microelectrode (IME) impedance sensor for the detection of viable *Salmonella typhimurium*. In: *Biosensors and bioelectronics* 19 (2004), S. 1139–1147
- [138] WITTE, C.; LISDAT, F.: Direct Detection of DNA and DNA-Ligand Interaction by Impedance Spectroscopy. In: *Electroanalysis* 23 (2011), S. 339–346
- [139] WANG, M.-H.; KAO, M.-F.; JANG, L.-S.: Single HeLa and MCF-7 cell measurement using minimized impedance spectroscopy and microfluidic device. In: *Review of Scientific Instruments* 82 (2011), S. 064302
- [140] WAGNER, T.; LAZAR, J.; SCHNAKENBERG, U.; BÖKER, A.: In situ Electrochemical Impedance Spectroscopy of Electrostatically Driven Selective Gold Nanoparticle Adsorption on Block Copolymer Lamellae. In: *ACS applied materials & interfaces* 8 (2016), S. 27282–27290
- [141] SRIVASTAVA, S.K.; RAMANETI, R.; ROELSE, M.; TONG, H.D.; VROUWE, E.X.; BRINKMAN, A.G.; DE SMET, L.C.; VAN RIJN, C.J.; JONGSMA, M.A.: A generic microfluidic biosensor of G protein-coupled receptor activation—impedance measurements of reversible morphological changes of reverse transfected HEK293 cells on microelectrodes. In: *RSC Advances* 5 (2015), S. 52563–52570
- [142] SINGH, K.V.; WHITED, A.M.; RAGINENI, Y.; BARRETT, T.W.; KING, J.; SOLANKI, R.: 3D nanogap interdigitated electrode array biosensors. In: *Analytical and bioanalytical chemistry* 397 (2010), S. 1493–1502
- [143] MOULTON, S.; BARISCI, J.; BATH, A.; STELLA, R.; WALLACE, G.: Studies of double layer capacitance and electron transfer at a gold electrode exposed to protein solutions. In: *Electrochimica Acta* 49 (2004), S. 4223–4230

- [144] MORGAN, H.; SUN, T.; HOLMES, D.; GAWAD, S.; GREEN, N.G.: Single cell dielectric spectroscopy. In: *Journal of Physics D: Applied Physics* 40 (2006), S. 61
- [145] MISHRA, V.; BOUAYAD, H.; SCHNED, A.; HEANEY, J.; HALTER, R.: Electrical impedance spectroscopy for prostate cancer diagnosis. In: *34th Annual International Conference of the IEEE EMBS, 2012, San Diego, USA*
- [146] MALLEO, D.; NEVILL, J.T.; LEE, L.P.; MORGAN, H.: Continuous differential impedance spectroscopy of single cells. In: *Microfluidics and nanofluidics* 9 (2010), S. 191–198
- [147] LAZAR, J.; ROSENCRANTZ, R.R.; ELLING, L.; SCHNAKENBERG, U.: Simultaneous Electrochemical Impedance Spectroscopy and Localized Surface Plasmon Resonance in a Microfluidic Chip: New Insights into the Spatial Origin of the Signal. In: *Analytical chemistry* 88 (2016), S. 9590–9596
- [148] LAZAR, J.; PARK, H.; ROSENCRANTZ, R.R.; BÖKER, A.; ELLING, L.; SCHNAKENBERG, U.: Evaluating the thickness of multivalent glycopolymer brushes for lectin binding. In: *Macromolecular rapid communications* 36 (2015), S. 1472–1478
- [149] JASIM, I.; SHEN, Z.; MLAJI, Z.; ABDULLAH, A.; LIU, J.; GHOSCH, S.; EL-DWEIK, M.; ZHANG, S.; ALMASRI, M.: An impedance biosensor for simultaneous detection of low concentration of Salmonella serogroups in poultry and fresh produce samples. In: *Biosensors and bioelectronics* 126 (2019), S. 292–300
- [150] HOU, Y.; HELALI, S.; ZHANG, A.; JAFFREZIC-RENAULT, N.; MARTELET, C.; MINIC, J.; GOROJANKINA, T.; PERSUY, M.-A.; PAJOT-AUGY, E. ; SALESSE, R.: Immobilization of rhodopsin on a self-assembled multilayer and its specific detection by electrochemical impedance spectroscopy. In: *Biosensors and Bioelectronics* 21 (2006), S. 1393–1402
- [151] HOLMES, D.; PETTIGREW, D.; RECCIUS, C.H.; GWYER, J.D.; VAN BERKEL, C.; HOLLOWAY, J.; DAVIES, D.E.; MORGAN, H.: Leukocyte analysis and differentiation using high speed microfluidic single cell impedance cytometry. In: *Lab on a Chip* 9 (2009), S. 2881–2889
- [152] HOLMES, D.; MORGAN, H.: Single cell impedance cytometry for identification and counting of CD4 T-cells in human blood using impedance labels. In: *Analytical chemistry* 82 (2010), S. 1455–1461
- [153] HEISKANEN, A.R.; SPEGEL, C.F.; KOSTESHA, N.; RUZGAS, T.; EMNÉUS, J.: Monitoring of *Saccharomyces cerevisiae* cell proliferation on thiol-modified planar

- gold microelectrodes using impedance spectroscopy. In: *Langmuir* 24 (2008), S. 9066–9073
- [154] HEILEMAN, K.; DAOUD, J.; TABRIZIAN, M.: Dielectric spectroscopy as a viable biosensing tool for cell and tissue characterization and analysis. In: *Biosensors and Bioelectronics* 49 (2013), S. 348–359
- [155] HAANDBAEK, N.; BÜRGEL, S.C.; HEER, F.; HIERLEMANN, A.: Characterization of subcellular morphology of single yeast cells using high frequency microfluidic impedance cytometer. In: *Lab on a Chip* 14 (2014), S. 369–377
- [156] GHEORGHE, M.; GUISEPPI-ELIE, A.: Electrical frequency dependent characterization of DNA hybridization. In: *Biosensors and Bioelectronics* 19 (2003), S. 95–102
- [157] GAWAD, S.; SCHILD, L.; RENAUD, P.: Micromachined impedance spectroscopy flow cytometer for cell analysis and particle sizing. In: *Lab on a Chip* 1 (2001), S. 76–82
- [158] FENG, Y.; HUANG, L.; ZHAO, P.; LIANG, F.; WANG, W.: A microfluidic device integrating impedance flow cytometry and electric impedance spectroscopy for high-efficiency single-cell electrical property measurement. In: *Analytical chemistry* 91 (2019), S. 15204–15212
- [159] DASTIDER, S.G.; BARIZUDDIN, S.; DWEIK, M.; ALMASRI, M.: A micromachined impedance biosensor for accurate and rapid detection of E. coli O157: H7. In: *RSC advances* 3 (2013), S. 26297–26306
- [160] BERDAT, D.; RODRÍGUEZ, A.C.M.; HERRERA, F.; GIJS, M.A.: Label-free detection of DNA with interdigitated micro-electrodes in a fluidic cell. In: *Lab on a Chip* 8 (2008), S. 302–308
- [161] ABDULLAH, A.; DASTIDER, S.G.; JASIM, I.; SHEN, Z.; YUKSEK, N.; ZHANG, S.; DWEIK, M.; ALMASRI, M.: Microfluidic based impedance biosensor for pathogens detection in food products. In: *Electrophoresis* 40 (2019), S. 508–520
- [162] HAANDBAEK, N.; BÜRGEL, S.C.; HEER, F.; HIERLEMANN, A.: Development of a Microfluidic GHz Impedance Cytometer. In: *tm-Technisches Messen* 80 (2013), S. 411–420
- [163] BARSOUKOV, E.; MACDONALD, J.R.: *Impedance spectroscopy: theory, experiment, and applications*. John Wiley & Sons, 2005. – ISBN 0471647497

- [164] LVOVICH, V.F.: *Impedance spectroscopy: applications to electrochemical and dielectric phenomena*. John Wiley & Sons, 2012. – ISBN 1118164105
- [165] IVERS-TIFFÉE, E.; VON MÜNCH, W.: *Werkstoffe der Elektrotechnik*. Bd. 11. Springer-Verlag, 2007. – ISBN 3835100521
- [166] SCHÖNING, M.J.; POGHOSSIAN, A.: *Label-free biosensing: advanced materials, devices and applications*. Bd. 16. Springer, 2018. – ISBN 3319752200
- [167] ENDE, D.; MANGOLD, K.-M.: Impedanzspektroskopie. In: *Chemie in unserer Zeit* 27 (1993), S. 134–140
- [168] NORLIN, A.; PAN, J.; LEYGRAF, C.: Investigation of interfacial capacitance of Pt, Ti and TiN coated electrodes by electrochemical impedance spectroscopy. In: *Biomolecular Engineering* 19 (2002), S. 67–71
- [169] LIMA, L.F.; VIEIRA, A.L.; MUKAI, H.; ANDRADE, C.M.; FERNANDES, P.R.: Electric impedance of aqueous KCl and NaCl solutions: Salt concentration dependence on components of the equivalent electric circuit. In: *Journal of Molecular Liquids* 241 (2017), S. 530–539
- [170] ZOU, Z.; KAI, J.; RUST, M.J.; HAN, J.; AHN, C.H.: Functionalized nano interdigitated electrodes arrays on polymer with integrated microfluidics for direct bio-affinity sensing using impedimetric measurement. In: *Sensors and Actuators A: Physical* 136 (2007), S. 518–526
- [171] BISQUERT, J.; GARCIA-BELMONTE, G.; BUENO, P.; LONGO, E.; BULHOES, L.: Impedance of constant phase element (CPE)-blocked diffusion in film electrodes. In: *Journal of Electroanalytical Chemistry* 452 (1998), S. 229–234
- [172] BISQUERT, J.; GARCIA-BELMONTE, G.; FABREGAT-SANTIAGO, F.; BUENO, P.R.: Theoretical models for ac impedance of finite diffusion layers exhibiting low frequency dispersion. In: *Journal of Electroanalytical Chemistry* 475 (1999), S. 152–163
- [173] JORCIN, J.-B.; ORAZEM, M.E.; PÉBÈRE, N.; TRIBOLLET, B.: CPE analysis by local electrochemical impedance spectroscopy. In: *Electrochimica Acta* 51 (2006), S. 1473–1479
- [174] RAMMELT, U.; REINHARD, G.: On the applicability of a constant phase element (CPE) to the estimation of roughness of solid metal electrodes. In: *Electrochimica Acta* 35 (1990), S. 1045–1049

- [175] YOON, S.-B.; JEGAL, J.-P.; ROH, K.C.; KIM, K.-B.: Electrochemical impedance spectroscopic investigation of sodium ion diffusion in MnO₂ using a constant phase element active in desired frequency ranges. In: *Journal of The Electrochemical Society* 161 (2014), S. H207–H213
- [176] MACDONALD, J.R.: Note on the parameterization of the constant-phase admittance element. In: *Solid State Ionics* 13 (1984), S. 147–149
- [177] MACDONALD, M.A.; ANDREAS, H.A.: Method for equivalent circuit determination for electrochemical impedance spectroscopy data of protein adsorption on solid surfaces. In: *Electrochimica Acta* 129 (2014), S. 290–299
- [178] HEEGER, A.J.: Semiconducting and metallic polymers: the fourth generation of polymeric materials. In: *The Journal of Physical Chemistry B* 105 (2001), S. 8475–8491
- [179] REHAHN, M.: Elektrisch leitfähige Kunststoffe: Der Weg zu einer neuen Materialklasse. In: *Chemie in unserer Zeit* 37 (2003), S. 18–30
- [180] MACDIARMID, A.G.: 'Synthetic metals': a novel role for organic polymers. In: *Current applied physics* 1 (2001), S. 269–279
- [181] ASAVAPIRIYANONT, S.; CHANDLER, G.; GUNAWARDENA, G. ; PLETCHER, D.: The electrodeposition of polypyrrole films from aqueous solutions. In: *Journal of electroanalytical chemistry and interfacial electrochemistry* 177 (1984), S. 229–244
- [182] DIAZ, A.; KANAZAWA, K.K.; GARDINI, G.P.: Electrochemical polymerization of pyrrole. In: *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* (1979), S. 635–636
- [183] GREEN, R.A.; LOVELL, N.H.; WALLACE, G.G.; POOLE-WARREN, L.A.: Conducting polymers for neural interfaces: challenges in developing an effective long-term implant. In: *Biomaterials* 29 (2008), S. 3393–3399
- [184] KANAZAWA, K.K.; DIAZ, A.; GEISS, R.H.; GILL, W.D.; KWAK, J.F.; LOGAN, J.A.; RABOLT, J.F.; STREET, G.B.: 'Organic metals': polypyrrole, a stable synthetic 'metallic' polymer. In: *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* (1979), S. 854–855
- [185] KHAN, S.A.; LI, L.; ZHAO, D.; CHEN, S.: Increased power conversion efficiency of dye-sensitized solar cells with counter electrodes based on porous polypyrrole. In: *Reactive and Functional Polymers* 148 (2020), S. 104483

- [186] KILLIAN, J.; COFFEY, B.; GAO, F.; POEHLER, T.; SEARSON, P.: Polypyrrole composite electrodes in an all-polymer battery system. In: *Journal of the Electrochemical Society* 143 (1996), S. 936–942
- [187] YAMATO, H.; OHWA, M.; WERNET, W.: Stability of polypyrrole and poly (3, 4-ethylenedioxythiophene) for biosensor application. In: *Journal of Electroanalytical Chemistry* 397 (1995), S. 163–170
- [188] BIDAN, G.; EHUI, B.; LAPKOWSKI, M.: Conductive polymers with immobilised dopants: ionomer composites and auto-doped polymers-a review and recent advances. In: *Journal of Physics D: Applied Physics* 21 (1988), S. 1043
- [189] CUI, X.; LEE, V.A.; RAPHAEL, Y.; WILER, J.A.; HETKE, J.F.; ANDERSON, D.J.; MARTIN, D.C.: Surface modification of neural recording electrodes with conducting polymer/biomolecule blends. In: *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials* 56 (2001), S. 261–272
- [190] KISIEL, A.; MARCISZ, H.; MICHALSKA, A.; MAKSYMIAK, K.: All-solid-state reference electrodes based on conducting polymers. In: *Analyst* 130 (2005), S. 1655–1662
- [191] CUI, X.; HETKE, J.F.; WILER, J.A.; ANDERSON, D.J.; MARTIN, D.C.: Electrochemical deposition and characterization of conducting polymer polypyrrole/PSS on multichannel neural probes. In: *Sensors and Actuators A: Physical* 93 (2001), S. 8–18
- [192] GREEN, R.; WILLIAMS, C.; LOVELL, N.; POOLE-WARREN, L.: Novel neural interface for implant electrodes: improving electroactivity of polypyrrole through MWNT incorporation. In: *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 19 (2008), S. 1625–1629
- [193] WANG, J.; TOO, C.O.; WALLACE, G.G.: A highly flexible polymer fibre battery. In: *Journal of power sources* 150 (2005), S. 223–228
- [194] MOMMA, T.; NISHIMURA, K.; OSAKA, T.; KONDO, N.; NAKAMURA, S.: Electrochemical properties of a polypyrrole/polystyrenesulfonate composite film and its application to rechargeable lithium battery cathodes. In: *Journal of the Electrochemical Society* 141 (1994), S. 2326

- [195] ATEH, D.; NAVSARIA, H.; VADGAMA, P.: Polypyrrole-based conducting polymers and interactions with biological tissues. In: *Journal of the royal society interface* 3 (2006), S. 741–752
- [196] SADKI, S.; SCHOTTLAND, P.; BRODIE, N.; SABOURAUD, G.: The mechanisms of pyrrole electropolymerization. In: *Chemical Society Reviews* 29 (2000), S. 283–293
- [197] CUI, X.; MARTIN, D.C.: Fuzzy gold electrodes for lowering impedance and improving adhesion with electrodeposited conducting polymer films. In: *Sensors and Actuators A: Physical* 103 (2003), S. 384–394
- [198] ANDREOLI, E.; ROONEY, D.A.; REDINGTON, W.; GUNNING, R.; BRESLIN, C.B.: Electrochemical Deposition of Hierarchical Micro/Nanostructures of Copper Hydroxysulfates on Polypyrrole– Polystyrene Sulfonate Films. In: *The Journal of Physical Chemistry C* 115 (2011), S. 8725–8734
- [199] JANG, L.-S.; HSU, C.-Y.; CHEN, C.-H.: Effect of electrode geometry on performance of EWOD device driven by battery-based system. In: *Biomedical micro-devices* 11 (2009), S. 1029–1036
- [200] ROBERTSON, J.: High dielectric constant gate oxides for metal oxide Si transistors. In: *Reports on progress in Physics* 69 (2005), S. 327
- [201] VAN DEN MEERAKKER, J.; BAARSLAG, P.; WALRAVE, W.; VINK, T.; DAAMS, J.: On the homogeneity of sputter-deposited ITO films Part II. Etching behaviour. In: *Thin Solid Films* 266 (1995), S. 152–156
- [202] HUANG, C.; SU, Y.-K.; WU, S.-L.: The effect of solvent on the etching of ITO electrode. In: *Materials Chemistry and Physics* 84 (2004), S. 146–150
- [203] GULEN, M.; YILDIRIM, G.; BAL, S.; VARILCI, A.; BELENLI, I.; OZ, M.: Role of annealing temperature on microstructural and electro-optical properties of ITO films produced by sputtering. In: *Journal of Materials Science: Materials in Electronics* 24 (2013), S. 467–474
- [204] CRUZ, L.; LEGNANI, C.; MATOSO, I.; FERREIRA, C.; MOUTINHO, H.: Influence of pressure and annealing on the microstructural and electro-optical properties of RF magnetron sputtered ITO thin films. In: *Materials Research Bulletin* 39 (2004), S. 993–1003

- [205] MORIKAWA, H.; FUJITA, M.: Crystallization and decrease in resistivity on heat treatment of amorphous indium tin oxide thin films prepared by dc magnetron sputtering. In: *Thin Solid Films* 339 (1999), S. 309–313
- [206] MORIKAWA, H.; FUJITA, M.: Crystallization and electrical property change on the annealing of amorphous indium-oxide and indium-tin-oxide thin films. In: *Thin Solid Films* 359 (2000), S. 61–67
- [207] CHO, C.-C.; WALLACE, R.; FILES-SESLER, L.: Patterning and etching of amorphous Teflon films. In: *Journal of electronic materials* 23 (1994), S. 827–830
- [208] CHEN, T.-H.; SU, C.-M.; CHIH, H.-C.; YANG, C.-T.: Selective wettability assisted nanoliter sample generation via electrowetting-based transportation. In: *Proceedings of the 5th International Conference on Nanochannels, Microchannels and Minichannels, 2007, Puebla, Mexico*
- [209] BRANDL, V.; HOLZE, R.: Influence of the preparation conditions on the properties of electropolymerised polypyrrole. In: *Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie* 102 (1998), S. 1032–1038
- [210] LI, C.; SUN, C.; CHEN, W.; PAN, L.: Electrochemical thin film deposition of polypyrrole on different substrates. In: *Surface and Coatings Technology* 198 (2005), S. 474–477
- [211] REN, X.; PICKUP, P.G.: Ion transport in polypyrrole and a polypyrrole/polyanion composite. In: *The Journal of Physical Chemistry* 97 (1993), S. 5356–5362
- [212] EICHLER, M.; JAHNKE, H.-G.; KRINKE, D.; MÜLLER, A.; SCHMIDT, S.; AZENDORF, R.; ROBITZKI, A.A.: A novel 96-well multielectrode array based impedimetric monitoring platform for comparative drug efficacy analysis on 2D and 3D brain tumor cultures. In: *Biosensors and Bioelectronics* 67 (2015), S. 582–589
- [213] VAN GERWEN, P.; LAUREYN, W.; LAUREYS, W.; HUYBERECHTS, G.; DE BEECK, M.O.; BAERT, K.; SULS, J.; SANSEN, W.; JACOBS, P.; HERMANS, L.: Nanoscaled interdigitated electrode arrays for biochemical sensors. In: *Sensors and Actuators B: Chemical* 49 (1998), S. 73–80
- [214] DICKSON, J.F.: On-chip high-voltage generation in MNOS integrated circuits using an improved voltage multiplier technique. In: *IEEE Journal of solid-state circuits* 11 (1976), S. 374–378
- [215] RUAN, M.; SHEN, J.; WHEELER, C.: Latching microelectromagnetic relays. In: *Sensors and Actuators A: Physical* 91 (2001), S. 346–350

- [216] TIETZE, U.; SCHENK, C.; GAMM, E.: *Halbleiter-Schaltungstechnik*. Springer-Verlag, 2019. – ISBN 3662485540
- [217] BÖHMER, E.; EHRHARDT, D.; OBERSCHELP, W.: *Elemente der angewandten Elektronik*. 15. Vieweg Verlag, 2007. – ISBN 9783834801241
- [218] <http://wiringpi.com/>
- [219] <https://sourceforge.net/projects/seabreeze/>
- [220] SARVOTHAMAN, M.K.; KIM, K.S.; SEALE, B.; BRODERSEN, P.M.; WALKER, G.C.; WHEELER, A.R.: Dynamic Fluoroalkyl Polyethylene Glycol Co-Polymers: A New Strategy for Reducing Protein Adhesion in Lab-on-a-Chip Devices. In: *Advanced Functional Materials* 25 (2015), S. 506–515
- [221] YANG, H.; MUDRIK, J.M.; JEBRAIL, M.J.; WHEELER, A.R.: A digital microfluidic method for in situ formation of porous polymer monoliths with application to solid-phase extraction. In: *Analytical chemistry* 83 (2011), S. 3824–3830
- [222] XU, X.; SUN, L.; CHEN, L.; ZHOU, Z.; XIAO, J.; ZHANG, Y.: Electrowetting on dielectric device with crescent electrodes for reliable and low-voltage droplet manipulation. In: *Biomicrofluidics* 8 (2014), S. 064107
- [223] WHEELER, A.R.; MOON, H.; KIM, C.-J.; LOO, J.A.; GARRELL, R.L.: Electrowetting-based microfluidics for analysis of peptides and proteins by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. In: *Analytical Chemistry* 76 (2004), S. 4833–4838
- [224] WATSON, M.W.; JEBRAIL, M.J.; WHEELER, A.R.: Multilayer hybrid microfluidics: A digital-to-channel interface for sample processing and separations. In: *Analytical chemistry* 82 (2010), S. 6680–6686
- [225] SHIH, S.C.; YANG, H.; JEBRAIL, M.J.; FOBEL, R.; MCINTOSH, N.; AL-DIRBASHI, O.Y.; CHAKRABORTY, P.; WHEELER, A.R.: Dried blood spot analysis by digital microfluidics coupled to nanoelectrospray ionization mass spectrometry. In: *Analytical chemistry* 84 (2012), S. 3731–3738
- [226] RAZU, M.E.; KIM, J.: Digital microfluidics using a differentially polarized interface (DPI) to enhance translational force. In: *Lab on a Chip* 18 (2018), S. 3293–3302
- [227] MUDRIK, J.M.; DRYDEN, M.D.; LAFRENIÈRE, N.M.; WHEELER, A.R.: Strong and small: strong cation-exchange solid-phase extractions using porous polymer

- monoliths on a digital microfluidic platform. In: *Canadian Journal of Chemistry* 92 (2014), S. 179–185
- [228] LUK, V.N.; FIDDES, L.K.; LUK, V.M.; KUMACHEVA, E.; WHEELER, A.R.: Digital microfluidic hydrogel microreactors for proteomics. In: *Proteomics* 12 (2012), S. 1310–1318
- [229] CHOI, K.; BOYACI, E.; KIM, J.; SEALE, B. ; BARRERA-ARBELAEZ, L.; PAWLISZYN, J.; WHEELER, A.R.: A digital microfluidic interface between solid-phase microextraction and liquid chromatography–mass spectrometry. In: *Journal of Chromatography A* 1444 (2016), S. 1–7
- [230] ABDULWAHAB, S.; NG, A.H.; CHAMBERLAIN, M.D.; AHMADO, H.; BEHAN, L.-A.; GOMAA, H.; CASPER, R.F.; WHEELER, A.R.: Towards a personalized approach to aromatase inhibitor therapy: a digital microfluidic platform for rapid analysis of estradiol in core-needle-biopsies. In: *Lab on a Chip* 17 (2017), S. 1594–1602
- [231] DRÜSEDAU, T.P.; LÖHMANN, M.; GARKE, B.: Decay length of the pressure dependent deposition rate for magnetron sputtering. In: *Journal of Vacuum Science & Technology A: Vacuum, Surfaces, and Films* 16 (1998), S. 2728–2732
- [232] TERZINI, E.; THILAKAN, P.; MINARINI, C.: Properties of ITO thin films deposited by RF magnetron sputtering at elevated substrate temperature. In: *Materials Science and Engineering: B* 77 (2000), S. 110–114
- [233] THILAKAN, P.; MINARINI, C.; LORETI, S.; TERZINI, E.: Investigations on the crystallisation properties of RF magnetron sputtered indium tin oxide thin films. In: *Thin Solid Films* 388 (2001), S. 34–40
- [234] TUNA, O.; SELAMET, Y.; AYGUN, G.; OZYUZER, L.: High quality ITO thin films grown by dc and RF sputtering without oxygen. In: *Journal of Physics D: Applied Physics* 43 (2010), S. 055402
- [235] CARL, K.; SCHMITT, H.; FRIEDRICH, I.: Optimization of sputtered ITO films with respect to the oxygen partial pressure and substrate temperature. In: *Thin Solid Films* 295 (1997), S. 151–155
- [236] KREMERS, T.; TINTELOTT, M.; PACHAURI, V.; VU, X.T.; INGEBRANDT, S.; SCHNAKENBERG, U.: Microelectrode combinations of gold and polypyrrole enable highly stable two-electrode electrochemical impedance spectroscopy measurements under turbulent flow conditions. In: *Electroanalysis* 33 (2021), S. 197–207

- [237] VOROTYNTSEV, M.A.; KONEV, D.V.; LANGE, U.; TOLMACHEV, Y.V.; SKOMPSKA, M.: Atomic force microscopy study of conducting polymer films near electrode's edge or grown on microband electrode. In: *Electrochimica Acta* 110 (2013), S. 452–458
- [238] MOULÉ, A.J.; MEERHOLZ, K.: Interference method for the determination of the complex refractive index of thin polymer layers. In: *Applied Physics Letters* 91 (2007), S. 061901
- [239] GOLAN, Y.; MARGULIS, L.; RUBINSTEIN, I.: Vacuum-deposited gold films: I. Factors affecting the film morphology. In: *Surface science* 264 (1992), S. 312–326
- [240] GUO, L.-H.; FACCI, J.S.; MCLENDON, G.; MOSHER, R.: Effect of gold topography and surface pretreatment on the self-assembly of alkanethiol monolayers. In: *Langmuir* 10 (1994), S. 4588–4593
- [241] WEIDLICH, C.; MANGOLD, K.-M.; JÜTTNER, K.: Conducting polymers as ion-exchangers for water purification. In: *Electrochimica Acta* 47 (2001), S. 741–745
- [242] SPAIN, E.; KEYES, T.E.; FORSTER, R.J.: Polypyrrole-gold nanoparticle composites for highly sensitive DNA detection. In: *Electrochimica Acta* 109 (2013), S. 102–109
- [243] HERNÁNDEZ, R.M.; RICHTER, L.; SEMANCIK, S.; STRANICK, S.; MALLOUK, T.E.: Template Fabrication of Protein-Functionalized Gold– Polypyrrole– Gold Segmented Nanowires. In: *Chemistry of materials* 16 (2004), S. 3431–3438
- [244] SUTTON, S.; VAUGHAN, A.: Morphology and molecular ordering in films of polypyrrole p-toluene sulfonate. In: *Polymer* 37 (1996), S. 5367–5374
- [245] XIAO, Y.; LI, C.M.; LIU, Y.: Electrochemical impedance characterization of antibody–antigen interaction with signal amplification based on polypyrrole–streptavidin. In: *Biosensors and Bioelectronics* 22 (2007), S. 3161–3166
- [246] BONDARENKO, A.S.; RAGOISHA, G.A.: Variable Mott-Schottky plots acquisition by potentiodynamic electrochemical impedance spectroscopy. In: *Journal of Solid State Electrochemistry* 9 (2005), S. 845–849
- [247] PROCTOR, C.M.; RIVNAY, J.; MALLIARAS, G.G.: Understanding volumetric capacitance in conducting polymers. In: *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics* 54 (2016), S. 1433–1436

- [248] BERGGREN, M.; CRISPIN, X.; FABIANO, S.; JONSSON, M.P.; SIMON, D.T.; STAVRINIDOU, E.; TYBRANDT, K.; ZOZOULENKO, I.: Ion Electron–Coupled Functionality in Materials and Devices Based on Conjugated Polymers. In: *Advanced Materials* 31 (2019), S. 1805813
- [249] BERGGREN, M.; MALLIARAS, G.G.: How conducting polymer electrodes operate. In: *Science* 364 (2019), S. 233–234
- [250] KREMERS, T.; MENZEL, N.; FREITAG, F.; LAAF, D.; HEINE, V.; ELLING, L.; SCHNAKENBERG, U.: Electrochemical impedance spectroscopy using interdigitated gold–polypyrrole electrode combination. In: *physica status solidi (a)* 217 (2020), S. 1900827
- [251] NIKAPITIYA, N.J.B.; NAHAR, M.M.; MOON, H.: Accurate, consistent, and fast droplet splitting and dispensing in electrowetting on dielectric digital microfluidics. In: *Micro and Nano Systems Letters* 5 (2017), S. 1–10
- [252] REN, H.; FAIR, R.B.; POLLACK, M.G.: Automated on-chip droplet dispensing with volume control by electro-wetting actuation and capacitance metering. In: *Sensors and Actuators B: Chemical* 98 (2004), S. 319–327
- [253] NAHAR, M.M.; NIKAPITIYA, J.B.; YOU, S.M.; MOON, H.: Droplet velocity in an electrowetting on dielectric digital microfluidic device. In: *Micromachines* 7 (2016), S. 71
- [254] REN, H.; FAIR, R.B.; POLLACK, M.G.; SHAUGHNESSY, E.J.: Dynamics of electrowetting droplet transport. In: *Sensors and actuators B: chemical* 87 (2002), S. 201–206
- [255] SONG, J.; EVANS, R.; LIN, Y.-Y.; HSU, B.-N.; FAIR, R.B.: A scaling model for electrowetting-on-dielectric microfluidic actuators. In: *Microfluidics and Nanofluidics* 7 (2009), S. 75–89
- [256] LATIP, E.A.; COUDRON, L.; MCDONNELL, M.; JOHNSTON, I.; MCCLUSKEY, D.; DAY, R.; TRACEY, M.: Protein droplet actuation on superhydrophobic surfaces: a new approach toward anti-biofouling electrowetting systems. In: *RSC Advances* 7 (2017), S. 49633–49648
- [257] KREMERS, T.; THELEN, S.; BOSBACH, N.; SCHNAKENBERG, U.: PortaDrop: A portable digital microfluidic platform providing versatile opportunities for Lab-On-A-Chip applications. In: *PloS one* 15 (2020), S. e0238581

- [258] KIRBY, A.E.; LAFRENIERE, N.M.; SEALE, B.; HENDRICKS, P.I.; COOKS, R.G.; WHEELER, A.R.: Analysis on the go: quantitation of drugs of abuse in dried urine with digital microfluidics and miniature mass spectrometry. In: *Analytical chemistry* 86 (2014), S. 6121–6129
- [259] GAVISH, N.; PROMISLOW, K.: Dependence of the dielectric constant of electrolyte solutions on ionic concentration: A microfield approach. In: *Physical review E* 94 (2016), S. 012611
- [260] VERMEER, A.W.; GIACOMELLI, C.E.; NORDE, W.: Adsorption of IgG onto hydrophobic Teflon. Differences between the Fab and Fc domains. In: *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects* 1526 (2001), S. 61–69
- [261] LUMSDON, S.O.; GREEN, J.; STIEGLITZ, B.: Adsorption of hydrophobin proteins at hydrophobic and hydrophilic interfaces. In: *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 44 (2005), S. 172–178
- [262] DUAN, X.; LI, Y.; RAJAN, N.K.; ROUTENBERG, D.A.; MODIS, Y.; REED, M.A.: Quantification of the affinities and kinetics of protein interactions using silicon nanowire biosensors. In: *Nature nanotechnology* 7 (2012), S. 401
- [263] LAFLEUR, J.P.; JÖNSSON, A.; SENKBEIL, S.; KUTTER, J.P.: Recent advances in lab-on-a-chip for biosensing applications. In: *Biosensors and Bioelectronics* 76 (2016), S. 213–233
- [264] SINGHAL, A.; HAKOMORI, S.-I.: Molecular changes in carbohydrate antigens associated with cancer. In: *Bioessays* 12 (1990), S. 223–230
- [265] LUK, V.N.; MO, G.C.; WHEELER, A.R.: Pluronic additives: a solution to sticky problems in digital microfluidics. In: *Langmuir* 24 (2008), S. 6382–6389
- [266] YANG, H.; LUK, V.N.; ABELGAWAD, M.; BARBULOVIC-NAD, I.; WHEELER, A.R.: A world-to-chip interface for digital microfluidics. In: *Analytical Chemistry* 81 (2008), S. 1061–1067
- [267] AU, S.H.; KUMAR, P.; WHEELER, A.R.: A new angle on pluronic additives: advancing droplets and understanding in digital microfluidics. In: *Langmuir* 27 (2011), S. 8586–8594
- [268] LICHTENBERG, J.Y.; LING, Y.; KIM, S.: Non-Specific Adsorption Reduction Methods in Biosensing. In: *Sensors* 19 (2019), S. 2488

- [269] YOON, J.-Y.; GARRELL, R.L.: Preventing biomolecular adsorption in electrowetting-based biofluidic chips. In: *Analytical chemistry* 75 (2003), S. 5097–5102
- [270] JÖNSSON-NIEDZIÓŁKA, M.; LAPIERRE, F.; COFFINIER, Y.; PARRY, S.; ZOUESHTIAGH, F.; FOAT, T.; THOMY, V.; BOUKHERROUB, R.: EWOD driven cleaning of bioparticles on hydrophobic and superhydrophobic surfaces. In: *Lab on a Chip* 11 (2011), S. 490–496
- [271] KOC, Y.; DE MELLO, A.J.; MCHALE, G.; NEWTON, M.I.; ROACH, P.; SHIRTCLIFFE, N.J.: Nano-scale superhydrophobicity: suppression of protein adsorption and promotion of flow-induced detachment. In: *Lab on a Chip* 8 (2008), S. 582–586
- [272] LESLIE, D.C.; WATERHOUSE, A.; BERTHET, J.B.; VALENTIN, T.M.; WATTERS, A.L.; JAIN, A.; KIM, P.; HATTON, B.D.; NEDDER, A.; DONOVAN, K.: A bioinspired omniphobic surface coating on medical devices prevents thrombosis and biofouling. In: *Nature biotechnology* 32 (2014), S. 1134–1140
- [273] PERRY, G.; COFFINIER, Y.; BOUKHERROUB, R.; THOMY, V.: Investigation of the anti-biofouling properties of graphene oxide aqueous solutions by electrowetting characterization. In: *Journal of Materials Chemistry A* 1 (2013), S. 12355–12360
- [274] PHIPPS, J.; RICHARDSON, R.; COSGROVE, T.; EAGLESHAM, A.: Neutron reflection studies of copolymers at the hexane/water interface. In: *Langmuir* 9 (1993), S. 3530–3537
- [275] CHEN, C.; EVEN, M.A.; CHEN, Z.: Detecting Molecular-Level Chemical Structure and Group Orientation of Amphiphilic PEO–PPO–PEO Copolymers at Solution/Air and Solid/Solution Interfaces by SFG Vibrational Spectroscopy. In: *Macromolecules* 36 (2003), S. 4478–4484
- [276] SVITOVA, T.; RADKE, C.: AOT and Pluronic F68 coadsorption at fluid/fluid interfaces: a continuous-flow tensiometry study. In: *Industrial and engineering chemistry research* 44 (2005), S. 1129–1138
- [277] CORREA-PUERTA, J.; DEL CAMPO, V.; HENRÍQUEZ, R.; ESAULOV, V.A.; HAMOUDI, H.; FLORES, M.; HÄBERLE, P.: Unoccupied interface and molecular states in thiol and dithiol monolayers. In: *Langmuir* 33 (2017), S. 12056–12064
- [278] NAKAYA, M.; SHIKISHIMA, M.; SHIBUTA, M.; HIRATA, N.; EGUCHI, T.; NAKAJIMA, A.: Molecular-scale and wide-energy-range tunneling spectroscopy on

- self-assembled monolayers of alkanethiol molecules. In: *ACS nano* 6 (2012), S. 8728–8734
- [279] SIMONCELLI, S.; LI, Y.; CORTÉS, E.; MAIER, S.A.: Nanoscale control of molecular self-assembly induced by plasmonic hot-electron dynamics. In: *ACS nano* 12 (2018), S. 2184–2192
- [280] HEINE, V.; BOESVELD, S.; PELANTOVA, H.; KREN, V.; TRAUTWEIN, C.; STRNAD, P.; ELLING, L.: Identifying Efficient Clostridium difficile Toxin A Binders with a Multivalent Neo-Glycoprotein Glycan Library. In: *Bioconjugate chemistry* 30 (2019), S. 2373–2383
- [281] LAAF, D.; BOJAROVÁ, P.; PELANTOVÁ, H.; KREN, V.; ELLING, L.: Tailored multivalent neo-glycoproteins: Synthesis, evaluation, and application of a library of galectin-3-binding glycan ligands. In: *Bioconjugate chemistry* 28 (2017), S. 2832–2840
- [282] ASHIBA, H.; FUJIMAKI, M.; WANG, X.; AWAZU, K.; TAMURA, T.; SHIMIZU, Y.: Sensor chip design for increasing surface-plasmon-assisted fluorescence enhancement of the V-trench biosensor. In: *Japanese Journal of Applied Physics* 55 (2016), S. 067001
- [283] NOMURA, K.-I.; GOPINATH, S.C.; LAKSHMIPRIYA, T.; FUKUDA, N.; WANG, X.; FUJIMAKI, M.: An angular fluidic channel for prism-free surface-plasmon-assisted fluorescence capturing. In: *Nature communications* 4 (2013), S. 1–7
- [284] JOSEPHY, P.D.; ELING, T.; MASON, R.P.: The horseradish peroxidase-catalyzed oxidation of 3, 5, 3', 5'-tetramethylbenzidine. Free radical and charge-transfer complex intermediates. In: *Journal of Biological Chemistry* 257 (1982), S. 3669–3675
- [285] PETROVYKH, D.Y.; KIMURA-SUDA, H.; OPDAHL, A.; RICHTER, L.J.; TARLOV, M.J.; WHITMAN, L.J.: Alkanethiols on platinum: multicomponent self-assembled monolayers. In: *Langmuir* 22 (2006), S. 2578–2587
- [286] EBERSOLE, R.C.; MILLER, J.A.; MORAN, J.R.; WARD, M.D.: Spontaneously formed functionally active avidin monolayers on metal surfaces: a strategy for immobilizing biological reagents and design of piezoelectric biosensors. In: *Journal of the American Chemical Society* 112 (1990), S. 3239–3241
- [287] HERMANSON, G.T.; GIESE, R.: Bioconjugate techniques. In: *Journal of Chromatography-A incl Cumulative Indexes* 746 (1996), S. 303–303

- [288] WOLNY, P.M.; SPATZ, J.P.; RICHTER, R.P.: On the adsorption behavior of biotin-binding proteins on gold and silica. In: *Langmuir* 26 (2010), S. 1029–1034
- [289] KAZUMA, E.; TATSUMA, T.: Localized surface plasmon resonance sensors based on wavelength-tunable spectral dips. In: *Nanoscale* 6 (2014), S. 2397–2405
- [290] AHAMMAD, A.S.; CHOI, Y.-H.; KOH, K.; KIM, J.-H.; LEE, J.-J.; LEE, M.: Electrochemical detection of cardiac biomarker troponin I at gold nanoparticle-modified ITO electrode by using open circuit potential. In: *Int. J. Electrochem. Sci* 6 (2011), S. 1906–1916
- [291] KIM, D.J.; PITCHIMANI, R.; SNOW, D.E.; HOPE-WEEKS, L.J.: A simple method for the removal of thiols on gold surfaces using an NH_4OH – H_2O_2 – H_2O solution. In: *Scanning* 30 (2008), S. 118–122
- [292] LAZAR, J.; SCHNELTING, C.; SLAVCHEVA, E.; SCHNAKENBERG, U.: Hampering of the stability of gold electrodes by ferri-/ferrocyanide redox couple electrolytes during electrochemical impedance spectroscopy. In: *Analytical chemistry* 88 (2015), S. 682–687
- [293] HEINE, V.; KREMERS, T.; MENZEL, N.; SCHNAKENBERG, U.; ELLING, L.: Electrochemical Impedance Spectroscopy Biosensor Enabling Kinetic Monitoring of Fucosyltransferase Activity. In: *ACS sensors* 6 (2021), S. 1003–1011
- [294] CORZO, J.: Time, the forgotten dimension of ligand binding teaching. In: *Biochemistry and Molecular Biology Education* 34 (2006), S. 413–416
- [295] XIE, S.; WANG, F.; WU, Z.; JOSHI, L.; LIU, Y.: A sensitive electrogenerated chemiluminescence biosensor for galactosyltransferase activity analysis based on a graphitic carbon nitride nanosheet interface and polystyrene microsphere-enhanced responses. In: *RSC advances* 6 (2016), S. 32804–32810
- [296] SRINIVASAN, V.; PAMULA, V.K.; PAIK, P.; FAIR, R.B.: Protein stamping for MALDI mass spectrometry using an electrowetting-based microfluidic platform. In: *Lab-on-a-Chip: Platforms, Devices, and Applications, 2004, Philadelphia, USA*

Eigene Veröffentlichungen

- [1] HEINE, V.*; KREMERS, T.*; MENZEL, N.; SCHNAKENBERG, U.; ELLING, L.: Electrochemical Impedance Spectroscopy Biosensor Enabling Kinetic Monitoring of Fucosyltransferase Activity. In: *ACS sensors* 6 (2021), S. 1003–1011
- [2] ZHOU, C.; BETTE, S.; BABENDREYER, A.; HOFFMANN, C.; GERLACH, S.; KREMERS, T.; LUDWIG, A.; HOFFMANN, B.; MERKEL, R.; UHLIG, S.: Stretchable electrical cell-substrate impedance sensor platform for monitoring cell monolayers under strain. In: *Sensors and Actuators B: Chemical* 336 (2021), S. 129656
- [3] KREMERS, T.; THELEN, S.; BOSBACH, N.; SCHNAKENBERG, U.: PortaDrop: A portable digital microfluidic platform providing versatile opportunities for Lab-On-A-Chip applications. In: *PloS one* 15 (2020), S. e0238581
- [4] KREMERS, T.; TINTELOTT, M.; PACHAURI, V.; VU, X.T.; INGEBRANDT, S.; SCHNAKENBERG, U.: Microelectrode combinations of gold and polypyrrole enable highly stable two-electrode electrochemical impedance spectroscopy measurements under turbulent flow conditions. In: *Electroanalysis* 33 (2021), S. 197–207
- [5] KREMERS, T.; MENZEL, N.; FREITAG, F.; LAAF, D.; HEINE, V.; ELLING, L.; SCHNAKENBERG, U.: Electrochemical impedance spectroscopy using interdigitated gold–polypyrrole electrode combination. In: *physica status solidi (a)* 217 (2020), S. 1900827
- [6] RUHKOPF, J.; SAWALLICH, S.; NAGEL, M.; OTTO, M.; PLACHETKA, U.; KREMERS, T.; SCHNAKENBERG, U.; KATARIA, S.; LEMME, M.C.: The role of substrate surface morphology on the performance of graphene inks for flexible electronics. In: *ACS Applied Electronic Materials* 1 (2019), S. 1909–1916

*geteilte Erstautorschaft

Eigene Konferenzbeiträge

- [1] KREMERS, T.; TINTELOTT, M.; HANSMANN, L.; INGEBRANDT, S.; SCHNAKENBERG, U.: Electrodeposition of polypyrrole based thin films for lowering the interfacial impedance of gold microelectrodes. In: *OrBIItaly (Organic Bioelectronics Italy), 2019, Naples, Italy*
- [2] TINTELOTT, M.; KREMERS, T.; FEHLINGS, L.; INGEBRANDT, S.; VU, X.T.: Highly stable pseudo-reference electrode for ISFET applications based on PEDOT:PSS thin films. In: *OrBIItaly (Organic Bioelectronics Italy), 2019, Naples, Italy*
- [3] KREMERS, T.; HEINE, V.; LAAF, D.; ELLING, L.; SCHNAKENBERG, U.: Impact of a non-ionic surfactant on the biotin-streptavidin binding. In: *Engineering of Functional Interfaces – EnFI, 2019, Leuven, Belgium*
- [4] KREMERS, T.; HEINE, V.; LAAF, D.; ELLING, L.; SCHNAKENBERG, U.: Digital Microfluidics for Biosensing Applications. In: *Helmholtz Symposium Aachen, 2019, Aachen, Germany*
- [5] KREMERS, T.; LAAF, D.; ELLING, L.; SCHNAKENBERG, U.: Influence of a non-ionic surfactant on the biotin-streptavidin binding on gold surfaces. In: *European Biosensor Symposium, 2019, Florence, Italy*
- [6] KOSUBEK, M.; KREMERS, T.: Micro Heating Structures to Avoid Fogging Up of Glasses. In: *International Student Conference on Electrical Engineering - POSTER, 2016, Prague, Czech Republic*
- [7] FRANITZA, F.; KOSUBEK, M.; KREMERS, T.; ROCKENBACH, A.; MOKWA, W.: Low-cost technology for photolithography on convex surfaces. In: *Smart Systems Integration, 2014, Vienna, Austria*

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name Tom Kremers
geboren am: 5. Januar 1988 in Mönchengladbach

Hochschul- und Schulausbildung

- 2012–2015 **RWTH Aachen, Aachen, Deutschland**
Elektrotechnik, Informationstechnik und Technische Informatik (M.Sc.)
Vertiefungsrichtung: Mikro- und Nanoelektronik
Masterarbeit: „Entwicklung eines mikrofluidischen Chips für elektrische Impedanzspektroskopie-Anwendungen“
- 2008–2012 **RWTH Aachen, Aachen, Deutschland**
Elektrotechnik, Informationstechnik und Technische Informatik (B.Sc.)
Vertiefungsrichtung: Mikro- und Nanoelektronik
Bachelorarbeit: „Elektrische Temperaturregelung in einem Zweiphasen-mikromischer unter Verwendung von Dünnschichttechnologie“
- 1998–2007 **Bischöfliche Marienschule, Mönchengladbach, Deutschland**
Allgemeine Hochschulreife
Leistungskurse: Mathematik und Physik
- 1994–1998 **Kath. Grundschule Venn, Mönchengladbach, Deutschland**

Berufliche Erfahrung

- seit 2021 **aixACCT Systems GmbH**
Aachen, Deutschland
Entwicklungsingenieur
- 2015–2020 **Institut für Werkstoffe der Elektrotechnik 1 (IWE1)**
RWTH Aachen, Aachen, Deutschland
Wissenschaftlicher Mitarbeiter
- 2013–2014 **Akustica Inc. (Bosch Group)**
Pittsburgh, Pennsylvania, USA
Reliability Engineer Intern
- 2010–2014 **Institut für Werkstoffe der Elektrotechnik 1 (IWE1)**
RWTH Aachen, Aachen, Deutschland
Studentische Hilfskraft

