

# Ultraschnelle Mikroskopie in der Mikrofluidik: komprimierte Abtastung und Ferndetektion

Eva Paciok und Bernhard Blümich\*

Komprimierte Abtastung · Geschwindigkeits-  
bildgebung · Mikrofluidik · Mikroskopie ·  
NMR-Techniken

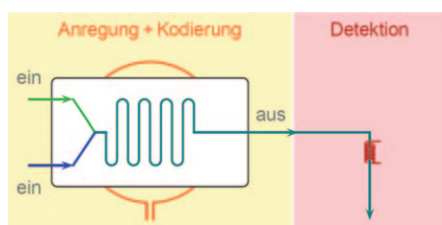
In den vergangenen zwanzig Jahren hat der enorme Fortschritt der Mikrofluidik eine Vielfalt an ausgeklügelten, miniaturisierten Lab-on-a-Chip-Produkten hervorgebracht, deren breites Anwendungsgebiet vom einfachen Vermischen in der chemischen Synthese bis hin zur fortgeschrittenen mikrobiologischen Inkubation und medizinischen Diagnostik reicht.<sup>[1,2]</sup> Ein hartnäckiges Problem beim Entwurf und der On-line-Überwachung mikrofluidischer Prozesse ist das Fehlen einer schnellen, aber präzisen, nichtinvasiven Messmethode, die Bildgebung, Geschwindigkeitsmessung, molekulare Erkennung und chemische Spektroskopie vereint, aber gleichzeitig universell in allen Anwendungsgebieten der Mikrofluidik einsatzfähig ist. Die NMR ist für ihr bisher unübertroffenes Potenzial bekannt, sowohl räumliche als auch spektroskopische Informationen in einer breiten Vielfalt chemischer Systeme zerstörungsfrei zu messen und zu korrelieren. Diese Vielseitigkeit macht die NMR auch zur Methode der Wahl für die mikrofluidische Analytik. Allerdings hat die äußerst niedrige Intensität der Signale aus den kleinen Volumina der mikrofluidischen Kanäle bisher die spektroskopische, räumliche und zeitliche Auflösung der mikrofluidischen NMR beschränkt.<sup>[3]</sup> Infolgedessen war die NMR in der Mikrofluidik entweder auf Spektroskopie oder auf Bildgebung spezialisiert, ohne beide Aspekte miteinander zu kombinieren und das inhärente Potenzial der NMR für eine universelle Mikroanalyse auszuschöpfen.

Jüngste Entwicklungen in der NMR-Methodik, darunter die Miniaturisierung von NMR-Probenköpfen,<sup>[4]</sup> die Hyperpolarisation<sup>[5]</sup> und die Ferndetektion,<sup>[6]</sup> haben zu einer bemerkenswerten Steigerung der Messempfindlichkeit geführt und damit die Messzeit drastisch verringert.<sup>[7]</sup> Darüber hinaus haben gegenwärtige Ansätze, diese Methoden auf Mikrofluidikplattformen zu kombinieren, sehr vielversprechende Ergebnisse in der Spektroskopie, Bildgebung und Geschwindigkeitsbildgebung erbracht, sodass die Untersuchung der mikrofluidischen Flüssig-flüssig-Vermischung<sup>[8]</sup> und sogar

die Bildgebung an mikrofluidischem Gasfluss möglich wurden.<sup>[9,10]</sup> Nun haben Bajaj und Mitarbeiter einen weiteren signifikanten Empfindlichkeitsgewinn erzielt,<sup>[11]</sup> indem sie Ferndetektion mit komprimierter Abtastung<sup>[12]</sup> zur NMR-spektroskopischen Überwachung von mikrofluidischer Prozesstechnik durch Bildgebung und Geschwindigkeitsbildgebung kombiniert haben. Der kumulierte Gewinn an Empfindlichkeit liegt bei sechs Größenordnungen und stellt für die NMR erstmals in Aussicht, zur Standardmethode in der Untersuchung und Überwachung von Lab-on-a-Chip-Prozessen zu werden.

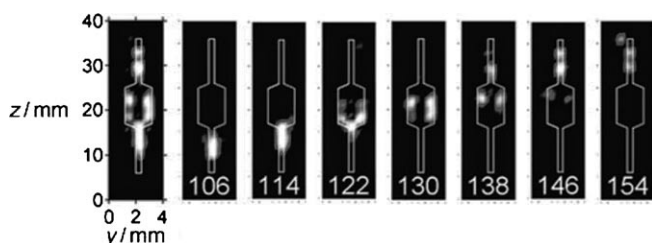
NMR-Signale sind zwar reich an Informationen, haben jedoch eine niedrige Intensität, weil im thermischen Gleichgewicht nur wenige Atomkerne zur gemessenen Gesamtmagnetisierung beitragen. Die daraus resultierende niedrige Empfindlichkeit der NMR-Spektroskopie wird normalerweise durch Signalakkumulation auf Kosten der Messdauer überwunden, sodass die erhaltene Information in vielen Fällen eine Mittelung über einen vergleichsweise langen Messzeitraum darstellt. In verdünnten oder mikroskopischen Proben wird Rauschen zum schwerwiegenden Problem, da es aus dem gesamten Detektionsvolumen empfangen wird. Mit Standard-NMR-Methoden wird bei der Untersuchung und Bildgebung an Fluiden in den engen Kanälen von Mikrofluidikchips das Rauschen aus dem ganzen Chip erfasst. Dementsprechend besteht der einfachste Weg zur Minimierung des Rauschens darin, das Detektionsvolumen an das Probenvolumen anzupassen und Mikrospulen in die zahlreichen Mikrokanäle des Chips einzusetzen. Diese Herangehensweise erschwert das Chipdesign beträchtlich und beschränkt die Messung auf nur wenige ausgewählte Positionen im Chip unter Verlust des Blicks auf das Gesamtbild der Großvolumenanregung. Um dieses Gesamtbild zu bewahren, aber gleichzeitig die Empfindlichkeit der Mikrospulendetektion zu nutzen, kann man einen Vorteil aus der Flussbewegung des Mikrofluids ziehen und die Signaldetektion räumlich von der Signalanregung und Kodierung trennen. Dieses Prinzip der Ferndetektion ist in Abbildung 1 dargestellt. Das Detektionsrauschen wird auf das Rauschen aus dem Fluidvolumen reduziert, indem das Signal mit einer Mikrospule am Ausgang des Chips empfangen wird, wo die Flüssigkeit nur ein kleines Volumen einnimmt. Die räumliche Information wird hingegen zuvor kodiert, also zu einem Zeitpunkt, an dem das Fluid über die zahlreichen Kanäle des

[\*] Dipl.-Chem. E. Paciok, Prof. Dr. B. Blümich  
Institut für Technische und Makromolekulare Chemie  
RWTH Aachen  
52056 Aachen (Deutschland)  
Fax: (+49) 24-80-22185  
E-Mail: bbluemich@mc.rwth-aachen.de  
Homepage: <http://www.mc.rwth-aachen.de>



**Abbildung 1.** Ferndetektionsanordnung an einem Mikrofluidikchip. Der Großvolumenanregung mit einer voluminösen Radiofrequenzspule folgt die ultraempfindliche Signaldetektion in einem mikroskopischen Volumen. Auf diese Weise wird das Dilemma umgangen, zwischen einem möglichst großen Beobachtungsfenster und dem Signal/Rausch-Verhältnis wählen zu müssen, wie es bei konventionellen NMR-Experimenten mit nur einer Spule für Anregung und Detektion auftritt.

Chips verteilt ist. Dieser Ansatz führt zu einem Empfindlichkeitsgewinn und damit zu einer Verringerung der Messzeit um drei bis vier Größenordnungen, sodass sogar der Gasfluss in Mikrokanälen abgebildet werden kann (Abbildung 2). Ein weiterer bemerkenswerter Vorteil der Ferndetektion ist die Möglichkeit, chemische Spektren und Bilder



**Abbildung 2.** Spindichtebilder von hyperpolarisiertem Propangas, das durch einen Mikrofluidikchip fließt. Die Einzelbilder sind Flugzeitrekonstruktionen, die zu verschiedenen Zeitpunkten ( $t$  in ms) nach der Signalanregung aufgenommen worden sind. Die Summe der Einzelbilder ist links abgebildet. Wiedergabe aus Lit. [10].

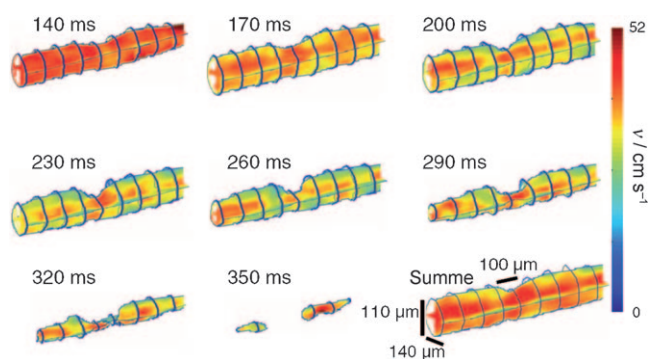
bei sehr hohen Flussgeschwindigkeiten aufzunehmen, wodurch die Wartezeit zwischen NMR-Messungen nicht mehr durch die  $T_1$ -Relaxation der untersuchten Substanz vorgeschrieben wird, sondern durch die Rate, mit der das angeregte Volumen durch frische Flüssigkeit ersetzt wird. In Anbetracht der langen  $T_1$ -Relaxationszeiten der meisten organischen Substanzen, die im Bereich mehrerer Sekunden liegen können, kann die Messdauer hier mithilfe von Ferndetektion abermals um ein oder zwei Größenordnungen verringert werden.

Bajaj und Mitarbeiter haben es jedoch geschafft, die NMR-Flussbildgebung an Mikrofluidikchips noch darüber hinaus zu beschleunigen, wobei sie die dünn besetzte Verteilung der Mikrofluidikkanäle im Chip nutzten. In Analogie zur heutzutage routinemäßigen Komprimierung und Speicherung elektronischer Daten können auch NMR-Daten von Bildern mit niedriger Informationsdichte mithilfe komprimierter Abtastung dünnbesetzt abgetastet und damit komprimiert werden. Bajaj und seine Mitarbeiter nutzten in diesem Zusammenhang Wavelet-Transformation und nichtlineare Rekonstruktionsmethoden, um die Messzeit um wei-

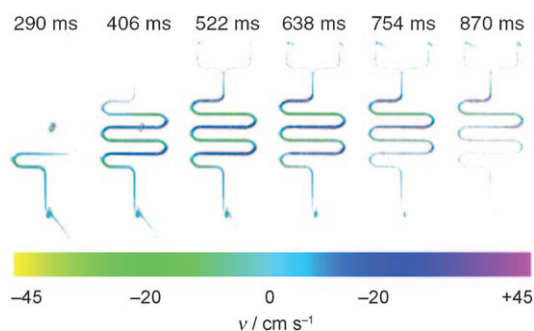
tere zwei bis drei Größenordnungen zu verringern. Diese Entwicklung ist für die NMR-Spektroskopie ein bedeutender Schritt hin zur hochauflösten On-line-Überwachung mikrofluidischer Prozesse. Außerdem – und im Unterschied zu allen optischen Messmethoden in der Mikrofluidik – erfordert die NMR-Methode weder transparente Proben noch konfokale Aufbauten und ist damit nicht auf bestimmte Systeme oder vereinfachte Modellsysteme beschränkt.

Der experimentelle Nachweis der Leistungsfähigkeit des Ansatzes von Bajaj et al. wurde bei der Analyse des Flussverhaltens in einer Mikrokapillare, einem Serpentinmischromischer und einer Mikrokapillare mit Verengung erbracht. Hier wurden eine zeitliche Auflösung von 30 ms und eine räumliche Auflösung von weniger als 15  $\mu\text{m}$  erzielt, und das bei Flussgeschwindigkeiten, die an 1  $\text{ms}^{-1}$  heranreichen. In einem einzigen NMR-Experiment wurden mehrere konsekutive Bilder aufgenommen, die jeweils die räumliche Verteilung von Molekülen repräsentieren, die eine ähnliche Geschwindigkeitsverteilung und damit eine ähnliche Flugzeit zum Detektor aufweisen. Die Information für diese Einzelbilder wurde zu verschiedenen Zeitpunkten am Ausgang des Mikrofluidikaufbaus nach der eingänglichen Großvolumenanregung und Kodierung aufgenommen. Die schnellen Komponenten gelangen dabei zuerst zum Detektor und die langsamen später. Die auf diese Weise gewonnenen Daten korrelieren die beiden komplementären Darstellungen von Fluss nach Lagrange und nach Laplace, in denen das Flussverhalten entweder mithilfe von Trajektorien und Flugzeiten fließender Fluidparzellen beschrieben werden kann oder direkt über den Geschwindigkeitsvektor in jedem Pixel/Voxel. Solche Daten können in eine Vielzahl hochauflöster Bilder umgesetzt werden, die beispielsweise die räumliche Verteilung der Spindichte, der Geschwindigkeiten oder der chemischen Komponenten darstellen, wie in den Abbildungen 3 und 4 zu sehen ist. Des Weiteren können diese Daten auch zu Filmen verarbeitet werden, um den Fließvorgang in den Mikrostrukturen zu visualisieren.

Die vorgestellte Methode hat jedoch auch Grenzen: Die zeitliche Verzögerung zwischen Signalanregung, Kodierung und Detektion macht die Methode anfällig für  $T_1$ -Effekte bei schneller Relaxation und für Änderungen in der Flussdynamik, die nach der Bild- oder Flusskodierung eintreten kön-



**Abbildung 3.** Hochauflöste dreidimensionale Geschwindigkeitsbilder von schnellem Fluss in einer Mikrokapillare mit Verengung. Die Flugzeitrekonstruktion ergibt Bilder mit einer zeitlichen Auflösung von 30 ms. Wiedergabe aus Lit. [11].



**Abbildung 4.** Hochaufgelöste zweidimensionale Geschwindigkeitsbilder von sehr schnellem Fluss in einem Serpentinmikromischer. Die Einzelbilder sind Flugzeitrekonstruktionen zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Signalanregung. Wiedergabe aus Lit. [11].

nen. Der  $T_1$ -Effekt führt zur Signaldämpfung und zum Informationsverlust,<sup>[13]</sup> Änderungen der Fluidodynamik zu einer verfälschten Rekonstruktion der Flugzeitinformation. Prinzipiell können beide Probleme durch sorgfältige Optimierung des experimentellen Aufbaus minimiert werden. Dazu kann das Signal ohne signifikante Relaxation über möglichst kurze Transportwege und ausreichend hohe Flussgeschwindigkeiten sowie durch Pfropfenströmung in der Abflussleitung des Mikrofluidikaufbaus detektiert werden. Zudem ist jüngst gezeigt worden, dass die kodierte chemische oder physikalische Information auch unabhängig von der  $T_1$ -Relaxation erhalten werden kann, wenn sie in einem langlebigen Spinzustand gespeichert wird, der mit einer weitaus größeren Zeitkonstante als  $T_1$  relaxiert.<sup>[14]</sup> Damit kann die Ferndetektion auch auf Mikrofluidiksysteme mit niedrigen Flussgeschwindigkeiten oder Präpolarisationsaufbauten mit langen Transportwegen ausgeweitet werden. Darüber hinaus kommen zurzeit mehrere Hyperpolarisationsverfahren auf,<sup>[7]</sup> die die Kernmagnetisierung auf Werte weit über denen des thermodynamischen Gleichgewichts steigern, sowie Methoden für hochempfindliche Signaldetektion mithilfe von mikrogefertigten Magnetometern.<sup>[15–17]</sup> Demzufolge – und trotz der Beschränkungen, die durch das Boltzmann-Gesetz des thermischen Gleichgewichts gegeben sind – ist zu erwarten, dass die NMR-Spektroskopie als Hilfsmittel zur Erforschung und Überwachung von Mikrofluidikaufbauten einen signifikanten Beitrag dazu leisten wird, Experimente vom Labormaßstab auf den Chipmaßstab zu verkleinern und dadurch die Forschung in zahlreichen Bereichen voranzubringen, z. B. in der Zellbiologie, der Metabolomik und bei Hochdurchsatzprüfverfahren in der kombinatorischen Chemie. Kombiniert mit der Tieffeld-NMR rücken sogar personalisierte Mikroanalytiksysteme in Reichweite.

Eingegangen am 8. Februar 2011

Online veröffentlicht am 28. April 2011

- [1] Einführung in die Mikrofluidiktechnik: G. M. Whitesides, *Nature* **2006**, *442*, 368–373.
- [2] Aktuelle Übersichten zur Mikrofluidiktechnik: a) A. B. Theberge, F. Courtois, Y. Schaerli, M. Fischlechner, C. Abell, F. Hollfelder, W. T. S. Huck, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 5982–6005; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 5846–5868; b) A. Abou-Hasan, O. Sandre, V. Cabuil, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 6408–6428; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 6268–6286; c) V. Kumar, M. Paraschivou, K. D. P. Nigam, *Chem. Eng. Sci.* **2011**, *66*, 1329–1373; d) G. S. Jeong, S. Chung, C.-B. Kim, S.-H. Lee, *Analyst* **2010**, *135*, 460–473; e) P. Tabeling, *Lab Chip* **2009**, *9*, 2428–2436.
- [3] Kurze Übersicht über NMR-Spektroskopie in der Mikrofluidik: E. Harel, *Lab Chip* **2009**, *9*, 17–23.
- [4] Jüngste Errungenschaften in der NMR-Probenkopfmminiaturisierung: a) J. Bart, H. J. W. G. Janssen, J. P. J. M. van Bentum, A. P. M. Kentgens, H. J. G. E. Gardeniers, *J. Magn. Reson.* **2009**, *201*, 175–185; b) J. Bart, A. J. Kolkman, A. J. Oosthoek-de Vries, K. Koch, P. J. Nieuwland, H. J. W. G. Janssen, J. P. J. M. van Bentum, K. A. M. Ampt, F. P. J. T. Rutjes, S. S. Wijmenga, H. J. G. E. Gardeniers, A. P. M. Kentgens, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 5014–5015; c) A. V. Demyanenko, L. Zhao, Y. Kee, S. Nie, S. E. Fraser, J. M. Tyska, *J. Magn. Reson.* **2009**, *200*, 38–48; d) J. Anders, G. Chiaramonte, P. SanGiorgio, G. Boero, *J. Magn. Reson.* **2009**, *201*, 239–249.
- [5] Detaillierte Übersichten zur Hyperpolarisation in der NMR-Spektroskopie: a) J. Natterer, J. Bargon, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **1997**, *31*, 293–315; b) T. G. Walker, W. Happer, *Rev. Mod. Phys.* **1997**, *69*, 629–642; c) K. Golman, L. E. Olsson, O. Axelsson, S. Mansson, M. Karlsson, J. S. Petersson, *Br. J. Radiol.* **2003**, *76*, S118–S127.
- [6] Ferndetektion: A. J. Moulé, M. M. Spence, S.-I. Han, J. A. Seeley, K. L. Pierce, S. Saxena, A. Pines, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 9122–9127.
- [7] Highlight: H. W. Spiess, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 649–652; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 639–642.
- [8] E. Harel, A. Pines, *J. Magn. Reson.* **2008**, *193*, 199–206.
- [9] C. Hilty, E. E. McDonnell, J. Granwehr, K. L. Pierce, S.-I. Han, A. Pines, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 14960–14963.
- [10] V.-V. Telkki, V. V. Zhivonitko, S. Ahola, K. V. Kovtunov, J. Jokisaari, I. V. Koptuyg, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 8541–8544; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 8363–8366.
- [11] V. S. Bajaj, J. Paulsen, E. Harel, A. Pines, *Science* **2010**, *330*, 1078–1081.
- [12] Komprimierte Abtastung: a) M. Lustig, D. L. Donoho, J. M. Santos, J. M. Pauly, *IEEE SignalProcess. Mag.* **2008**, *25*, 72–82; b) D. J. Holland, D. M. Malioutov, A. Blake, A. J. Sederman, L. F. Gladden, *J. Magn. Reson.* **2010**, *203*, 236–246; c) J. Paulsen, V. S. Bajaj, A. Pines, *J. Magn. Reson.* **2010**, *205*, 196–201.
- [13] Ausführliche Diskussion der Empfindlichkeit der Ferndetektion: J. Granwehr, J. A. Seeley, *J. Magn. Reson.* **2006**, *179*, 280–289.
- [14] R. Sarkar, P. R. Vasos, G. Bodenhausen, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 328–334.
- [15] Übersicht zur optischen Magnetometrie: D. Budker, M. Romalis, *Nat. Phys.* **2007**, *3*, 227–234.
- [16] M. P. Ledbetter, I. M. Savukov, D. Budker, V. Shah, S. Knappe, J. Kitching, D. J. Michalak, S. Xu, A. Pines, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 2286–2290.
- [17] J. M. Taylor, P. Cappellaro, L. Childress, L. Jiang, D. Budker, P. R. Hemmer, A. Yacoby, R. Walsworth, M. D. Ludkin, *Nat. Phys.* **2008**, *4*, 810–816.