

Mikropumpenbasiertes Dosiersystem mit kapazitiver Flusssensorik für nuklearmedizinische Anwendungen

Thomas Alexander Thalhofer

Vollständiger Abdruck der von der TUM School of Computation, Information and Technology der Technischen Universität München zur Erlangung eines

Doktors der Ingenieurwissenschaften (Dr.-Ing.)

genehmigten Dissertation.

Vorsitz: Prof. Dr. Berna Özkale Edelmann

Prüfende der Dissertation:

1. Prof. Dr. Oliver Hayden
2. Prof. Dr.-Ing. Amelie Hagelauer

Die Dissertation wurde am 09. Juni 2022 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die TUM School of Computation, Information and Technology am 08. November 2022 angenommen.

ZUSAMMENFASSUNG

Radioaktiv markierte Antikörper sind ein zunehmend wichtiges Werkzeug bei der Diagnose und Therapie von Krebserkrankungen. Die kurzen Halbwertszeiten der zur Radiomarkierung verwendeten Isotope machen es erforderlich, dass die Markierung der Antikörper unmittelbar vor ihrer Anwendung vor Ort am Klinikum erfolgt. Dabei kommt es zu einer Strahlenbelastung für das Personal, das mit der Durchführung der Radiomarkierung beauftragt ist. Um die Strahlenbelastung zu minimieren, werden automatische Radiosynthesegeräte eingesetzt. Mikrofluidische Synthesegeräte bilden eine vergleichsweise neue Unterkategorie dieser Systeme, die aufgrund potenzieller Vorteile, wie der Möglichkeit zur Herstellung von Einzel-Patientendosen, der Reduktion des Reagenzienverbrauchs und dem reduzierten Platzbedarf an Laborfläche, zunehmendes Interesse hervorruft.

In dieser Arbeit wird ein mikrofluidisches Dosiersystem mit kapazitiver Flusssensorik entwickelt, das mit Hilfe von Mikropumpen der Fraunhofer EMFT nach Zugabe der Reagenzien automatisch einen Radiomarkierungsprozess durchführen kann. Als Beispielprozess wird die Markierung von Anti-Galectin-3 Antikörperfragmenten mit dem Radioisotop Zirkonium-89 gewählt. Die Kombination der Mikropumpen und der kapazitiven Sensorik, für die der Sensor-IC AD7142 (Analog Devices, Inc.) eingesetzt wird, ermöglicht eine komplette Kapselung des Systemaufbaus, wodurch ein Betrieb des Systems auf kleinstem Raum innerhalb einer Abschirmung und unabhängig von Laborinfrastruktur sichergestellt werden kann.

Im Rahmen der Arbeit werden zwei aufeinander aufbauende Systemvarianten vorgestellt, die den Markierungsprozess auf unterschiedliche Arten ausführen. Die erste Systemvariante verfügt über eine Kanalstruktur mit drei Mischkanälen, in denen die Reagenzien in drei aufeinanderfolgenden Schritten paarweise vermengt werden. Kapazitive Sensorelektroden, die auf einer an der Kanalstruktur angebrachten Platine sitzen, ermöglichen die Überwachung und Steuerung des Dosierprozesses und erlauben die Herstellung beliebiger Mischungen. In Dosierversuchen konnten Mischungen mit nur 0.3 ± 0.9 % Abweichung zum vorgegebenen Mischverhältnis erzeugt werden. Das Dosiersystem konnte erfolgreich zur Radiomarkierung von Fab-Antikörperfragmenten mit Zirkonium eingesetzt werden, wobei eine hohe radiochemische Ausbeute von 46 % erzielt wurde (gegenüber 56 % bei manueller Prozessdurchführung). Allerdings traten bei der Dosierung der leitfähigen Reagenzien Störungen der kapazitiven Sensorik auf, die auf die konstruktionsbedingte Erdung des Fluids über die Mikropumpe zurückgeführt werden konnten. Insbesondere kommt es bei der abwechselnden

Dosierung leitfähiger und nichtleitfähiger Reagenzien zu Kapazitätssprüngen, die eine zuverlässige Prozessführung behindern können.

Auf diesen Erkenntnissen aufbauend konnte eine verbesserte Systemvariante entwickelt werden, die ein abgeändertes Dosier- und Messprinzip realisiert. Die zweite Systemvariante verfügt über einen Messkanal, in dem diskrete Volumina abgemessen und anschließend über eine Luftpumpe in ein Reaktionsgefäß ausgestoßen werden. Die Dosierung der Reagenzien erfolgt sequentiell, die Mischung der Reagenzien findet nicht in der Mikrokanalstruktur, sondern im Reaktionsgefäß statt. Die Volumenmessung erfolgt durch kapazitive Sensorelektroden, die in definierten Abständen am Fluidkanal angebracht sind. Durch eine Signalanalyse wird aus dem Kapazitätsverlauf der Sensorelektroden die Position der Phasengrenze bestimmt. In dieser Arbeit wird ein Messkanal mit $1 \times 1 \text{ mm}^2$ Querschnittsfläche verwendet, mit dem pro Dosierschritt $5 \mu\text{l}$ bis $115 \mu\text{l}$ dosiert werden können. Die durch den Elektrodenabstand vorgegebene Schrittweite beträgt $10 \mu\text{l}$. Experimentell konnten mit dieser Kanal-Elektroden-Kombination Dosiergenauigkeiten von $1.4 \mu\text{l}$ erzielt werden. In zwei unabhängigen Radiomarkierungsversuchen konnte bei der Markierung von F(ab')_2 -Antikörperfragmente wiederholt eine radiochemische Ausbeute von 21 % erzielt werden. Die im Vergleich zum ersten System verringerte radiochemische Ausbeute ist auf den Wechsel von Fab- auf F(ab')_2 -Antikörperfragmenten zurückzuführen.

Die zwei entwickelten Systeme belegen die Machbarkeit eines miniaturisierten, mikrofluidischen Systems für die Radiomarkierung unter Einsatz von Mikropumpen der Fraunhofer EMFT in Kombination mit einer in das System integrierten kapazitiven Sensorik. Die Systeme bilden somit die Grundlage für die Entwicklung weiterer miniaturisierter Dosiersysteme mit integrierter Fluidaktorik und -sensorik im Anwendungsfeld der Nuklearmedizin.

INHALTSVERZEICHNIS

1	Einleitung	1
1.1	Aufgabenstellung	2
2	Ausgangslage und Stand der Technik	3
2.1	Nuklearmedizin und radioaktive Strahlung	3
2.1.1	Strahlungsarten und Abschirmung	3
2.1.2	Radiopharmaka und Antikörper	5
2.1.3	Zirkonium-89 in der Nuklearmedizin	9
2.1.4	Radiomarkierung mit ⁸⁹ Zr: Reagenzien und Prozessablauf	11
2.2	Automatisierte Radiosynthese-Module	13
2.2.1	Kassettenbasierte Systeme	14
2.2.2	Systeme mit fester Verschlauchung	16
2.2.3	Hybride Systeme	18
2.2.4	Mikrofluidische Radiosynthese-Systeme	19
2.2.5	Bewertung der Radiosynthese-Geräte	22
2.3	Fraunhofer Mikropumpen	24
2.3.1	Pumpenarten	25
2.3.2	Fluidisches Verhalten der Mikropumpen	28
2.4	Kapazitive Flusssensorik mit dem Kapazitätssensor AD7142	30
2.4.1	Aufbau und Funktionsweise des AD7142	31
2.4.2	Kapazitive Überwachung von mikrofluidischen Kanälen	32
3	Kapazitive Sensorelektroden	35
3.1	Kontinuierliche Kapazitätssensoren	36
3.1.1	Kapazitätsberechnung mit Parallel-Microstrip-Lines-Modell	37
3.1.2	FEM-Simulation der Elektrodenkapazität	39
3.2	Diskrete Positionssensoren	43
4	Systemvariante A	46
4.1	Systemaufbau	46
4.2	Treiberelektronik für Mikropumpen	51

4.3	Ablauf des Markierungsprozesses	54
4.4	Steuersoftware	57
4.5	Experimentelle Charakterisierung des Dosiersystems	61
4.5.1	Alternierendes Pumpen	62
4.5.2	Dosiergenauigkeit	63
4.5.3	Mischverhalten	66
4.5.4	Radiomarkierung	67
4.6	Kapazität bei Mischung leitender und nichtleitender Reagenzien.....	69
4.6.1	Beobachtung der Kapazitätssprünge	69
4.6.2	Erdung des leitenden Fluids über Mikropumpe	71
4.6.3	Mischung leitender und nichtleitender Flüssigkeiten	73
4.6.4	Lösungsstrategien gegen Kapazitätssprünge	74
4.7	Zusammenfassung Systemvariante A	75
5	Systemvariante B.....	76
5.1	Systemaufbau	76
5.2	Ablauf des Markierungsprozesses	79
5.3	Steuersoftware und Signalverarbeitung.....	80
5.4	Dosiergenauigkeit	86
5.5	Radiomarkierung.....	87
6	Vergleich der Systemvarianten A und B	91
6.1	Systemaufbau und Funktionsweise	91
6.2	Kapazitive Sensorik.....	93
6.3	Radiomarkierungsergebnisse	94
7	Zusammenfassung und Ausblick	96
	Veröffentlichungen.....	98
	Literatur	99
	Anhang.....	109
	Schaltpläne	109
	Firmware.....	112
	Sensorboard Firmware (C)	112

Pumpentreiber Firmware (C).....	117
Python-Software für Steuercomputer.....	126
Danksagung.....	135

1 EINLEITUNG

Bösartige Tumorerkrankungen, umgangssprachlich als „Krebs“ bezeichnet, sind eine der häufigsten Krankheits- und Todesursachen weltweit. Alleine in Deutschland leben derzeit mehr als vier Millionen Menschen, die an Krebs erkrankt sind, bei einer Neuerkrankungsrate von über einer halben Million Menschen pro Jahr [1]. Gleichzeitig werden jährlich etwa 230.000 Todesfälle im Zusammenhang mit Krebserkrankungen registriert [2].

Um Krebs zu behandeln, muss die Erkrankung zunächst erkannt werden. Ein wichtiger Schritt bei der Diagnose von Krebs ist die Lokalisation des Tumors und seiner Metastasen. Dazu werden verschiedene bildgebende Verfahren eingesetzt, die von einfachem Abtasten, Ultraschall-Untersuchungen und Röntgenbildern bis zur Magnetresonanztomografie reichen [3–5]. Ein weiteres Werkzeug, das zunehmend zum Einsatz kommt, ist die Positronen-Emissions-Tomografie (PET) [6–9]. Die PET ist ein bildgebendes Verfahren, mit dem Stoffwechsellvorgänge sichtbar gemacht werden können. Dazu wird dem Patienten ein radioaktives Mittel verabreicht, ein sogenanntes Radiopharmakon, das sich aufgrund von natürlichen Stoffwechsellvorgängen im Körper des Patienten verteilt und sich im diagnostisch relevanten Zielgewebe anreichert, wo es durch das PET-Gerät lokalisiert werden kann.

Radiopharmaka können allerdings nicht nur zur Diagnostik, sondern auch therapeutisch eingesetzt werden. Dazu wird das Radiopharmakon mit einem Radioisotop bestückt, dessen Strahlung das umliegende Gewebe zerstören kann [10]. Diese Art der Behandlung, bei der ein mit unterschiedlichen Radioisotopen bestücktes Radiopharmakon sowohl zur Diagnose als auch zur Therapie eingesetzt wird, wird als Theranostik bezeichnet [11].

Die radioaktive Strahlung, die am Patienten zur Bildgebung und zur Therapie genutzt wird, stellt eine Gefahr für das medizinische Personal dar, das mit der Herstellung und Verwendung der Radiopharmaka beauftragt ist. Eine der Tätigkeiten, die zu einer besonders hohen Strahlenbelastung führt, ist die Radiomarkierung, bei der das Radiopharmakon mit einem radioaktiven Atom versehen wird [12]. Aus diesem Grund werden schon seit Beginn der nuklearmedizinischen Forschung mechatronische Radiomarkierungssysteme entwickelt, die eine Automatisierung des Radiomarkierungsprozesses erlauben und dadurch den Anwender schützen [13]. Eine neue Entwicklungsrichtung ist dabei der Einsatz von mikrofluidischen Prinzipien, durch die potenziell der Markierungsprozess verbessert [14] und gleichzeitig der Platzbedarf des Systemaufbaus reduziert werden können.

Durch die Reduktion des Reagenzienbedarfs, der mit einer Miniaturisierung der fluidischen Komponenten einher geht, können Systeme entwickelt werden, die statt eines Radiopharmaka-Batches nur einzelne, patientenindividuelle Dosen erzeugen können [15]. Die Integration mikrofluidischer Komponenten in den Prozessablauf stellt aber aufgrund der Schnittstellen zwischen mikro- und makrofluidischen Bauteilen nach wie vor eine Herausforderung dar.

1.1 AUFGABENSTELLUNG

In dieser Arbeit soll ein mikrofluidisches Dosiersystem entwickelt werden, das nach Zugabe der am Markierungsprozess beteiligten Reagenzien automatisch einen Radiomarkierungsvorgang durchführen kann und so die Interaktionsdauer und damit die Strahlenexposition für den Anwender reduziert. Insbesondere kommen dabei erstmals Mikropumpen der Fraunhofer EMFT¹ zum Einsatz, durch die das System unabhängig von äußerer Laborinfrastruktur arbeiten und dadurch kompakt und kapselbar aufgebaut werden kann. Zur Überwachung und Steuerung des Dosierprozesses wird außerdem eine kapazitive Sensorik entwickelt und in das Fluidsystem integriert, deren Interaktion mit den Mikropumpen und deren Eignung zum Einsatz bei einem Markierungsprozess untersucht wird.

¹ Fraunhofer-Einrichtung für Mikrosysteme und Festkörpertechnologien EMFT, Hansastr. 27d, 80686 München

2 AUSGANGSLAGE UND STAND DER TECHNIK

In Kapitel 2 werden verschiedene Aspekte erläutert, die für das Verständnis der Aufgabenstellung und für die spätere Umsetzung des Dosiersystems relevant sind. Zunächst wird auf radioaktive Strahlung und deren Anwendung bei der Markierung von Antikörpern in der Nuklearmedizin eingegangen. Insbesondere wird dabei ein konkretes Radiomarkierungsprotokoll vorgestellt, das als Beispielprozess mit dem in dieser Arbeit entwickelten Dosiersystem automatisiert werden soll. Anschließend wird ein Überblick über Geräte und Systeme gegeben, die aktuell zur Radiomarkierung verwendet werden sowie deren Vor- und Nachteile beleuchtet. Am Ende des Kapitels werden schließlich die Mikropumpen der Fraunhofer EMFT sowie der kapazitive Sensorchip AD7142 vorgestellt, die im Dosiersystem zur Anwendung kommen werden.

2.1 NUKLEARMEDIZIN UND RADIOAKTIVE STRAHLUNG

2.1.1 Strahlungsarten und Abschirmung

Jeder nuklearmedizinische Vorgang ist durch den Einsatz von ionisierender Strahlung gekennzeichnet, die beim Zerfall von radioaktiven Atomen entsteht. Ionisierende Strahlung besteht aus energiereichen Teilchen oder elektromagnetischen Wellen, die in der Lage sind, Elektronen aus Molekülen oder anderen Atomen zu entfernen. Ionisierende Strahlung kann anhand der Teilchenart und der Strahlungsenergie in verschiedene Klassen unterteilt werden, zu denen Alpha- (α), Beta- (β) und Gammastrahlung (γ) gehören [16, 17].

Alphastrahlung besteht aus Teilchen, die zwei Protonen und zwei Neutronen enthalten. Aufgrund der relativ großen Masse und der elektrischen Ladung interagieren Alphateilchen stark mit umliegenden Atomen. In biologischem Gewebe beträgt die Eindringtiefe deshalb nur etwa 50-100 μm [18]. Alphastrahler eignen sich zum therapeutischen Einsatz, indem Tumorzellen gezielt durch die Strahlung eines naheliegenden Radioisotops geschädigt werden und absterben. Alphastrahlung kann bereits durch wenige Zentimeter Luft oder ein Blatt Papier abgeschirmt werden [16].

Betastrahlung besteht aus Betateilchen, also Elektronen oder deren Antimaterie-Äquivalent, den Positronen. Es wird deshalb zwischen Beta-Plus (β^+) und Beta-Minus-Strahlung (β^-) unterschieden.

- Bei β^- -Strahlung wird ein Neutron des Mutteratoms in ein Proton umgewandelt, wobei ein Elektron entsteht, das den Kern verlässt. Das

ausgesendete Elektron gibt in Folge seine Energie durch elektromagnetische Wechselwirkung und Stoßvorgänge an umliegende Atome ab, wobei Bremsstrahlung in Form von Röntgenstrahlung erzeugt wird [19].

- Bei β^+ -Strahlung wandelt sich ein Proton des Mutteratoms in ein Neutron um und gibt dabei ein Positron ab. Das Positron trifft in Gewebe oder Wasser nach spätestens wenigen Millimetern Distanz auf ein Elektron, wodurch Elektron und Positron annihiliert werden [20]. Dabei entsteht Annihilationsstrahlung in Form zweier Photonen mit einer charakteristischen Energie von 511 keV, die in einem Winkel von 180° auseinanderfliegen [17, 21]. Die Annihilationsstrahlung wird bei der PET zur Bildgebung verwendet.

Betastrahlung kann beispielsweise durch wenige Millimeter Metall abgeschirmt werden. Allerdings tritt an der Abschirmung Abbrems- und Annihilationsstrahlung in Form von Röntgen- und Gammastrahlung auf, die wiederum durch zusätzliche Abschirmung abgefangen werden muss. Stoffe mit geringer Ordnungszahl verringern das Auftreten von Beta-Bremsstrahlung im Röntgenbereich und werden deshalb bevorzugt für die erste Abschirmung eingesetzt.

Gammastrahlung besteht aus Photonen („Gammaquanten“) mit einer Energie von mehr als 200 keV. Gammastrahlung hat ein deutlich höheres Durchdringungsvermögen als Alpha- und Betastrahlung und kann nicht komplett abgeschirmt, sondern nur abgeschwächt werden. Dafür werden bevorzugt Blei oder andere Elemente mit hoher Atommasse verwendet. Die Strahlungsintensität nimmt in der Abschirmung exponentiell mit der Eindringtiefe ab [21].

Die Radioaktivität einer Stoffprobe wird in der Einheit Becquerel (Bq) angegeben. Ein Becquerel entspricht einem radioaktiven Zerfall pro Sekunde. Insbesondere im medizinischen Umfeld wird auch die Nicht-SI-Einheit Curie zur Messung der Aktivität verwendet, mit dem Umrechnungsfaktor $1 \text{ Ci} = 37 \text{ GBq}$.

Für eine Abschätzung, wie viel Schaden radioaktive Strahlung in einem Material verursacht, muss bestimmt werden, wie viel Energie durch die Strahlung in das Material eingebracht wird. Diese sogenannte „Dosis“ wird in der Einheit Gray (Gy) angegeben ($1 \text{ Gy} = 1 \text{ J/Kg}$). Die Schadenswirkung auf biologisches Gewebe hängt neben der absoluten Dosis auch von der Strahlungsart (Alpha-, Beta-, Gammastrahlung) und der Gewebeart (Haut, Auge, Knochenmark, ...) ab [22]. Aus diesem Grund wird im Strahlenschutz aus der Dosis durch Multiplikation mit verschiedenen Strahlungs- und Gewebewichtungsfaktoren die effektive Dosis berechnet, die in Sievert (Sv) angegeben wird. Der effektive Dosiswert wird

verwendet, um Strahlungsgrenzwerte festzulegen. Für beruflich strahlenexponierte Personen gilt zum Beispiel ein Grenzwert von 20 mSv/Jahr, der nicht überschritten werden darf [16].

2.1.2 Radiopharmaka und Antikörper

Radiopharmaka sind Medikamente, die radioaktive Substanzen enthalten. Ihre Anwendung erfolgt im medizinischen Fachbereich der Nuklearmedizin [13, 23]. Radiopharmaka können entweder therapeutisch oder diagnostisch eingesetzt werden. Beim therapeutischen Einsatz wird ein Zielgewebe durch die radioaktive Strahlung des Radiopharmakons zerstört. Bei der Diagnose wird die Position des Radiopharmakons zum Beispiel durch eine Gammakamera oder ein PET-Gerät sichtbar gemacht, wodurch Stoffwechselfunktionen und dadurch Tumore beobachtbar werden [23].

In der Krebsdiagnostik wird häufig ausgenutzt, dass Tumore im Gegensatz zu gesundem Gewebe einen deutlich erhöhten Glukoseverbrauch besitzen („Warburg-Effekt“) [24, 25]. Zur Diagnose derartiger Tumore wird dem Patienten ein radioaktiv markiertes Glukose-Analogon verabreicht, am häufigsten kommt dazu 18F-fluoro-2-deoxy-D-glucose (18F-FDG) zum Einsatz [7, 8]. Glukose-Analoga reichern sich durch die hohe Stoffwechselaktivität bevorzugt in Tumorgewebe an, wodurch dieses im PET-Scan aufleuchtet. Allerdings zeigen nicht alle Tumorarten eine erhöhte Aktivität ihres Glukosestoffwechsels, und umgekehrt gibt es auch gesunde Gewebetypen, die einen hohen Glukoseverbrauch besitzen. Aus diesem Grund wurden bereits in den 1970er Jahren erstmals Versuche unternommen, bei denen radioaktiv markierte Antikörper zur Tumorlokalisierung eingesetzt wurden [26, 27]. Antikörper haben den Vorteil, dass sie im Gegensatz zu Glukose-Analoga nicht auf allgemeine Stoffwechselaktivität des Gewebes, sondern auf ein spezifisches Antigen der Tumorzelle zielen und sich im Rahmen der Antigen-Antikörper-Reaktion an dieses binden können [28]. Der Antikörper dient als Carrier-Molekül, durch welches das Radioisotop an seinen Bestimmungsort im Organismus transportiert wird. Diese „immunoPET“ genannte Technik gewinnt mit zunehmender Verbreitung von PET-Geräten an Kliniken stark an Bedeutung [29, 30]. Die Verbindung von Antikörper und Radioisotop erfolgt meist über ein zusätzliches Linker-Molekül [13]. Abbildung 1 zeigt schematisch den Aufbau eines solchen radioaktiv markierten Antikörpers.

Aus Gründen der besseren Lesbarkeit wird in dieser Arbeit auf eine konsequente Unterscheidung zwischen Antikörpern und Antikörperfragmenten verzichtet und der Begriff „Antikörper“, soweit nicht explizit betont, synonym verwendet.

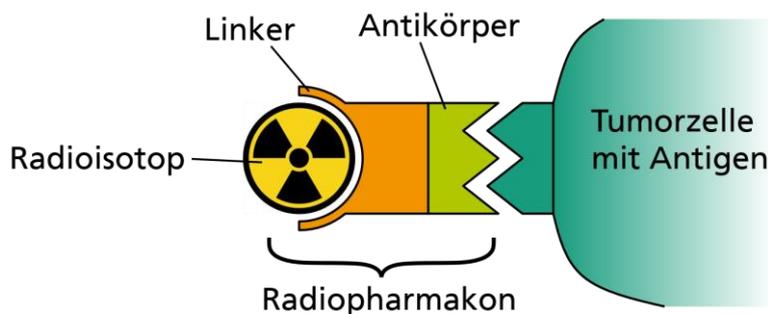


Abbildung 1: Schematischer Aufbau eines Radiopharmakons, bestehend aus einem Radioisotop, Antikörper und einem optionalen Linker-Molekül. Der Antikörper ist nach dem Schlüssel-Schloss-Prinzip passend zu einem Antigen einer Tumorzelle gestaltet. Quelle: Eigene Grafik, angelehnt an [31] und [32].

Statt kompletter Antikörper werden auch Antikörperfragmente als Carriermolekül eingesetzt. Dabei handelt es sich um Bruchstücke von Antikörpern, die insbesondere die antigenbindenden Bereiche des Antikörpers enthalten. Es existieren zwei Arten von Fragmenten, Fab und $F(ab')_2$, deren Unterscheidung im Verlauf dieser Arbeit relevant ist und deshalb an dieser Stelle erläutert werden soll. Ein Antikörper besteht aus zwei identischen Abschnitten mit antigenbindenden Eigenschaften, den Fab-Fragmenten (Fab: „Fragment antigen binding“) und einer Basis, dem Fc-Fragment (Fc: „Fragment crystallizable“), die über eine Disulfidbrücke zu einer Y-förmigen Struktur miteinander verbunden sind (Abbildung 2) [33, 34]. Durch Zugabe von Papain kann die Disulfidbrücke so getrennt werden, dass zwei einzelne Fab-Fragmente und ein Fc-Fragment entstehen [35]. Wird dagegen Pepsin zum Spalten des Antikörpers verwendet, bleiben die beiden Fab-Fragmente miteinander verbunden und ergeben ein $F(ab')_2$ -Fragment sowie Bruchstücke des Fc-Fragments [36].

Intakte Antikörper besitzen ein Molekulargewicht von circa 150 kDa, Fab-Fragmente ein Gewicht von etwa 50 kDa. Die aus zwei einzelnen Fab-Fragmenten bestehenden $F(ab')_2$ -Fragmente sind doppelt so schwer wie Fabs und besitzen daher ein Gewicht von ~100 kDa. Fab und $F(ab')_2$ -Fragmente zeichnen sich aufgrund ihrer geringeren Größe durch höhere Beweglichkeit im Gewebe als vollständige Antikörper aus und sind dadurch effizienter beim Eindringen in solide Tumore [30].

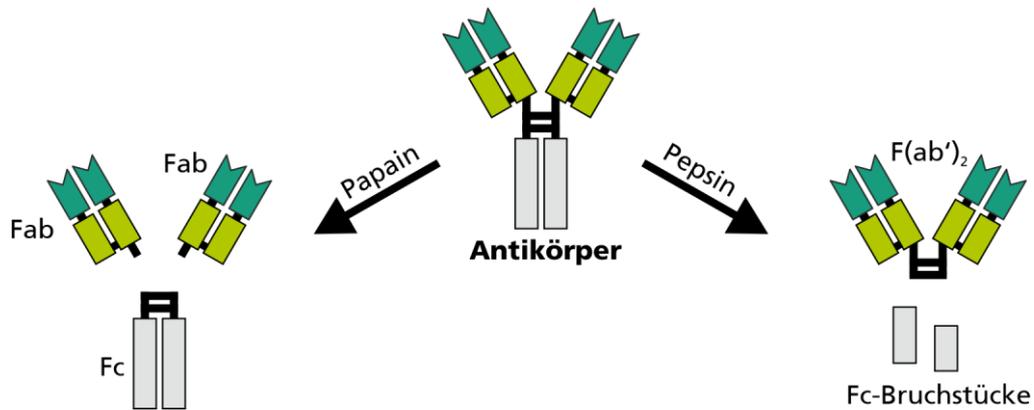


Abbildung 2: Entstehung und Aufbau von Fab- und F(ab')₂-Antikörperfragmenten.

Zur Markierung von Antikörpern werden eine Reihe von Radioisotopen verwendet, unter anderem ^{99m}Tc, ¹²³I, ¹¹C, ¹³N, ¹⁵O, ¹⁸F, ⁶⁷Ga und ¹⁷⁷Lu [23, 37]. Diese Radioisotope besitzen kurze Halbwertszeiten, die im Idealfall an die biologische Halbwertszeit des markierten Antikörpers angepasst sind [38]. Die Dauer der Halbwertszeit liegt im Bereich von Minuten (z.B. ¹⁸F: T_{1/2}=110 min, Zerfallsart: β⁺) bis hin zu wenigen Tagen (z.B. ¹⁷⁷Lu: T_{1/2}=6.6 d, Zerfallsart: β⁻) [13, 37].

Die Verwendung von kurzlebigen Isotopen führt zu einigen Besonderheiten bei der Herstellung und Verwendung von Radiopharmazeutika. Herkömmliche Medikamente können meist durch spezielle Lagerbedingungen (z.B. Kühlung) und geeignete Formulierung haltbar gemacht werden [39]. Bei Radiopharmaka ist diese Lagerdauer durch die Halbwertszeit des verwendeten Isotops begrenzt, da der radioaktive Zerfall als physikalische Materialkonstante nicht beeinflusst werden kann [40, 41]. Aus diesem Grund müssen Radiopharmaka unmittelbar vor ihrer Verwendung an der nuklearmedizinischen Klinik erzeugt werden. Die entsprechenden Schritte von der Erzeugung des Radioisotops bis zur Verwendung des Radiopharmakons sind in Abbildung 3 dargestellt.

Für die Synthese eines Radiopharmakons muss zunächst ein geeignetes Radioisotop hergestellt werden. Viele nuklearmedizinisch tätige Kliniken verfügen entweder über eigene Möglichkeiten zur Herstellung der Radioisotope (z.B. Zyklotron oder Isotopen-Generatoren) oder über einen nahegelegenen Versorgungsdienstleister, der die Isotope bereitstellen kann. Nach der Herstellung werden die Radioisotope zeitnah zur nuklearmedizinischen Abteilung transportiert, wo die Radiomarkierung stattfindet, bei der Isotop und Carrier-Molekül verbunden werden. Dieser Vorgang erfolgt für klinische Präparate unter Beachtung des Strahlenschutzes auf eigenen Geräten. Insbesondere im forschungs- und präklinischen Bereich, in dem jeweils nur geringe Mengen eines Radiopharmakons zu Testzwecken erzeugt werden, werden viele Synthesen aber auch manuell durchgeführt.

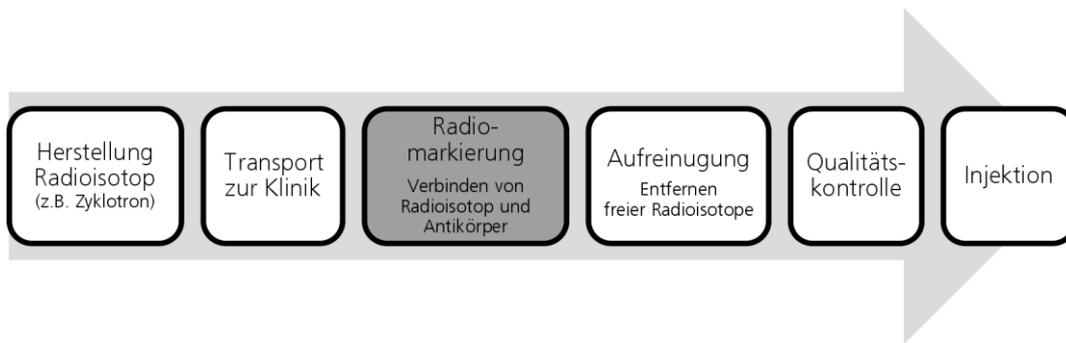


Abbildung 3: Lebenszyklus eines Radiopharmakons von der Herstellung des Radioisotops bis zur Abgabe an den Patienten. Bedingt durch die kurzen Halbwertszeiten der verwendeten Radioisotope werden Radiopharmaka direkt am Anwendungsort (Klinik) aus den Radioisotopen und Proteinen hergestellt. Die in dieser Arbeit entwickelten Systeme beschäftigen sich mit dem grau hinterlegten Schritt der Radiomarkierung. Eigene Grafik in Anlehnung an [42].

Nach der Radiomarkierung erfolgt ein Aufreinigungsschritt, bei dem das im Radiomarkierungsprozess entstandene Produkt über chromatografische Verfahren in seine einzelnen Komponenten aufgetrennt wird. Durch diesen Schritt wird eventuell vorhandenes, ungebundenes Radioisotop von den markierten Antikörpern separiert, um zu verhindern, dass dieses später an den Patienten abgegeben wird. Freie Radioisotope führen zu einer unnötigen Strahlenbelastung für den Patienten und zu höherem Hintergrundrauschen bei der PET-Bildgebung. Bevor das Radiopharmakon an einen Patienten oder ein Versuchstier abgegeben werden darf, muss außerdem noch eine Qualitätskontrolle durchgeführt werden, bei der die chemische Reinheit des Produktes überprüft wird. Diese erfolgt beispielsweise durch eine Hochleistungsflüssigkeitschromatografie (HPLC), eine Dünnschichtchromatografie (TLC) oder über ein anderes chromatografisches Verfahren.

Die Herstellung von Radiopharmaka unterliegt strengen Vorgaben, die durch das Arzneimittelgesetz und weitere nationale und internationale Richtlinien vorgegeben sind. Die Summe dieser Vorschriften und Gesetze wird als „(current) Good Manufacturing Practice“ (GMP bzw. cGMP) bezeichnet [43]. GMP beinhaltet neben den Regeln zu Herstellung und Qualitätskontrolle auch Dokumentationspflichten und eine Pflicht zur Minimierung der Strahlenexposition für das Laborpersonal.

Die Radiomarkierung als zentraler Punkt der Radiopharmaka-Synthese gehört mit einer durchschnittlichen Strahlendosis von $18 \mu\text{Sv}/\text{Tag}$ zu den Tätigkeiten im Bereich der Nuklearmedizin, bei denen die Techniker oder Mediziner der höchsten Strahlenexposition ausgesetzt sind [12]. Dabei sind insbesondere Hände und Fingerspitzen betroffen [44]. Studien ergaben auch, dass die Strahlenexposition bei der Radiomarkierung von der Handhabung der Reagenzien abhängt [45] und durch geeignete Automatisierung drastisch reduziert werden kann [46].

2.1.3 Zirkonium-89 in der Nuklearmedizin

Ein Radioisotop, das seit einigen Jahren zunehmend für die Radiomarkierung insbesondere von Antikörpern verwendet wird, ist Zirkonium-89 (^{89}Zr) [47]. Bereits in den 1940er und 1950er Jahren wurden erste Versuche zur Verträglichkeit und Anwendung von ^{89}Zr an Patienten durchgeführt [48, 49] und auch die erste Verwendung zum Labeln von Proteinen erfolgte schon im Jahr 1986 [50]. Trotz dieser frühen Versuche dauerte es noch bis 2006, bevor die ersten klinischen Studien zur Verwendung von ^{89}Zr als radioaktiver Marker für monoklonale Antikörper (mAbs) in der PET-Bildgebung durchgeführt wurden [51].

Zirkonium-89 ist ein künstliches Isotop des Übergangsmetalls Zirkonium. Es besitzt 40 Protonen und 49 Neutronen und zerfällt durch eine Mischung aus β^+ -Zerfall und Elektroneneinfang mit einer Halbwertszeit von 78,4 Stunden zunächst zu $^{89\text{m}}\text{Y}$, welches daraufhin durch die Aussendung eines 909-keV-Photons in das stabile ^{89}Y übergeht. Durch das beim β^+ -Zerfall abgegebene Positron entstehen zudem Annihilationsquanten mit einer Energie von 511 keV [52, 53]. Die Halbwertsdicke von ^{89}Zr , also die Dicke einer Bleiabschirmung, mit der die Gamma-Strahlungsintensität auf 50 % der Ausgangsstärke reduziert wird, beträgt etwa 9 mm [16].

Die Herstellung von ^{89}Zr erfolgt in einem Zyklotron [54–56]. Dabei handelt es sich um eine Anlage, in der Protonen durch ein elektrisches Wechselfeld auf einer spiralförmigen Bahn beschleunigt werden. Der Protonenstrahl wird auf ein solides Yttrium-89-Target ausgerichtet, wo durch die Reaktion mit dem stabilen Yttrium-89 das radioaktive ^{89}Zr entsteht. Das Target wird anschließend in Salzsäure aufgelöst und die Lösung mehreren Filterungs- und Waschschritten unterzogen, um Rückstände von Yttrium und anderen Stoffen (insbesondere Eisen) zu entfernen [13, 52]. Dieser Waschschriff ist wichtig, da bei der späteren Radiomarkierung ein Chelator als Linkermolekül verwendet wird, um das metallische Zirkonium-Atom an einen Antikörper zu binden (Abbildung 4).

Chelatoren sind (meist organische) Moleküle, die zwei oder mehr freie Elektronenpaare aufweisen und dadurch in der Lage sind, ein Metallion zu binden [58]. Befinden sich neben dem Zirkonium noch andere Metallionen in der Lösung, könnten diese ebenso durch den Chelator eingefangen werden und so die Syntheseausbeute der Radiomarkierung vermindern.

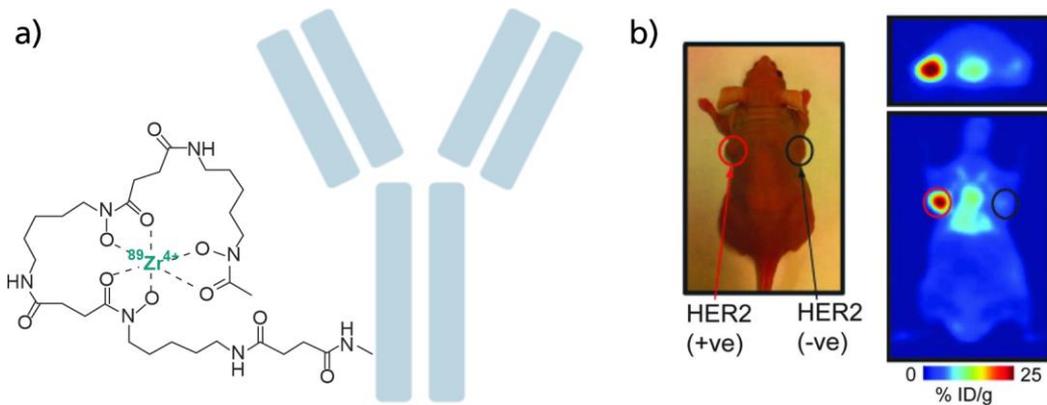


Abbildung 4: **(a)** Schematische Abbildung eines mit ^{89}Zr markierten monoklonalen Antikörpers, bei dem das Radioisotop (grün) über einen Chelatkomplex (schwarz) an den Antikörper (blau) angedockt wird. Abbildung entnommen aus [47]. **(b)** Bildgebung einer Maus mit ^{89}Zr -markierten Antikörpern. Abbildung entnommen aus [57].

Bei der Markierung von Antikörpern mit Zirkonium wird häufig Desferrioxamin (DFO) als Chelator eingesetzt. Es gibt Hinweise, dass ^{89}Zr -DFO-Antikörper-Komplexe *in vivo* nicht langfristig stabil sind und durch vorzeitigen Zerfall ein freies Zirkonium-Atom abgeben können. Freies Zirkonium sammelt sich insbesondere im Knochenmarksgewebe an, wodurch es zu einer ungewünschten Dosis für das extrem strahlungsempfindliche Gewebe kommt [58, 59]. Aus diesem Grund wird in der aktuellen Forschung an stabileren Chelatoren gearbeitet [58], DFO ist aber nach wie vor im häufigen Einsatz.

Zirkonium-89 besitzt Eigenschaften, die es besonders interessant für die Anwendung in der Nuklearmedizin machen. Die Halbwertszeit von Zirkonium-89 ist sehr ähnlich zur biologischen Halbwertszeit von Antikörpern *in vivo*. Aus diesem Grund ist Zirkonium-89 besonders für Untersuchungen zur Antikörper-Pharmakokinetik, also der zeitlichen Verteilung der Antikörper im Zielorganismus, geeignet [47]. Zwar gibt es auch andere β^+ -Strahler mit vergleichbar langen Halbwertszeiten, wie zum Beispiel Iod-124 ($T_{1/2}=4.2\text{d}$) [60]. Allerdings hat ^{89}Zr gegenüber diesem bessere Bildgebungseigenschaften, unter anderem wegen der geringeren Energie der beim Zerfall erzeugten Nicht-Annihilations-Photonen, die zu einem geringeren Hintergrundrauschen bei der PET führt [47].

Zirkonium-89-markierte Antikörper konnten in mehreren präklinischen und klinischen Studien bereits erfolgreich zur Tumorbildgebung eingesetzt werden. Ein Überblick der dabei untersuchten Tumorarten und der verwendeten Antikörper findet sich beispielsweise in [47]. Für diese Arbeit ist insbesondere der Einsatz von zirkoniummarkierten Antikörpern für die PET-Bildgebung bei Schilddrüsenkrebs relevant, der aktuell unter anderem am Klinikum rechts der Isar² untersucht wird.

² Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München, Ismaninger Straße 22, 81675 München

2.1.4 Radiomarkierung mit ^{89}Zr : Reagenzien und Prozessablauf

Am Klinikum rechts der Isar, dem Universitätsklinikum der Technischen Universität München, werden Radiopharmaka zur Diagnose und Behandlung von Schilddrüsenkrebs entwickelt [61, 62]. Dabei werden als Carrier-Moleküle Antikörperfragmente eingesetzt, die auf das Protein Galectin-3 zielen („Anti-Gal3“) [62–64]. Galectin-3 ist unter anderem am Zellwachstum und der Ausdifferenzierung von Zellen beteiligt und aus diesem Grund als Biomarker für die Krebsforschung relevant [65].

Die Markierung der Anti-Gal3-Fragmente mit Zirkonium-89 erfolgt über einen bereits etablierten Syntheseprozess [64], der mit dem in dieser Arbeit entwickelten Dosiersystem nachgestellt werden soll. Im Folgenden werden die an der Radiomarkierung beteiligten Reagenzien und die einzelnen Schritte des Syntheseprotokolls beschrieben und daraus der fluidische Prozessplan abgeleitet, welcher mit dem entwickelten Mikrodosiersystem ausgeführt wird.

Reagenzien

Für den Markierungsprozess werden drei Komponenten benötigt, die in flüssiger Form vorliegen und später als Eingangsreagenzien in das Dosiersystem gegeben werden:

- Radioisotop
- Carrier-Molekül
- pH-Puffer

Als **Radioisotop** wird Zirkonium-89 eingesetzt, das durch die Firma PerkinElmer (Ink., Waltham, MA, USA) hergestellt und in Oxalsäure gelöst als Zirkoniumoxalat ($\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_8\text{Zr}$) an das Klinikum geliefert wird. Die Aktivität der gelieferten Lösung pro Volumeneinheit ist chargenspezifisch. Deshalb wird aus der gelieferten Menge zunächst ein Volumen des Zirkoniumoxalats abgemessen, in dem 1 mCi (37 MBq) Aktivität enthalten ist. Bei frisch erzeugtem Zirkoniumoxalat entspricht das etwa 25 μl . Das abgemessene Zirkoniumoxalat wird anschließend mit Natriumacetat (2 mol/l) auf 200 μl verdünnt und anschließend mit 90 μl Kaliumcarbonat (2 mol/l) neutralisiert. Im originalen Markierungsprozess wird zur Neutralisation Natriumcarbonat eingesetzt. Dabei kann es allerdings zur Bildung von Kristallen kommen, die aus der Lösung ausfallen. Bei der manuellen Prozessdurchführung stören diese nicht, da sie sich bei Zugabe von pH-Puffer in einem späteren Prozessschritt wieder auflösen. Wenn Mikropumpen zur Dosierung der Lösung verwendet werden, können die Kristalle aber Filter und Pumpkammer verstopfen. Bei der Verwendung von Kaliumcarbonat als Neutralisator tritt keine Kristallisation auf. Die bei der

Mischung entstandene Lösung reagiert unter starker Blasenbildung (CO_2), wobei Zirkoniumcarbonat entsteht. Ist die Reaktion nach etwa drei Minuten abgeschlossen, wird die Lösung für kurze Zeit in ein Ultraschallbad gegeben und kann anschließend optional zentrifugiert werden, um verbleibende Blasen aus der Flüssigkeit zu entfernen. Bei Bedarf wird dieser Schritt mehrmals wiederholt, bis alle Blasen entfernt wurden. Die so entstandene „Zirkonium-Lösung“ ist die erste der drei Komponenten, die in dem in dieser Arbeit entwickelten Dosiersystem eingesetzt wird. In nachfolgenden Flussdiagrammen wird sie stets gelb hinterlegt und vereinfachend als „Zirkonium“ bezeichnet.

Als **Carrier**-Molekül werden in dieser Arbeit zwei Arten von Antikörperfragmenten verwendet, die beide auf das Galectin-3-Protein zielen. Für einen Teil der Versuche werden Gal3-F(ab')₂-mAbs verwendet (siehe [63] und [66]), bei anderen Experimenten kommt ein human-chimäres α Gal3 Fab-Fragment [67] zum Einsatz. Die Antikörper unterscheiden sich in ihrem Molekulargewicht, das wie in Abschnitt 2.1.2 erläutert für Fab-Fragmente etwa 50 kDa und für F(ab')₂-Fragmente etwa 100 kDa beträgt. Für den Dosierprozess werden die Antikörperfragmente mit Wasser auf eine Konzentration von 0.7 g/l verdünnt, was der idealen Verdünnung und dem idealen pH-Wert zur Markierung der Fab-Fragmente entspricht. Die verdünnte Lösung ist das zweite Eingangsreagenz, welches das in dieser Arbeit entwickelte System zur Durchführung der Radiomarkierung benötigt. In den nachfolgenden Flussdiagrammen wird diese Lösung stets rot eingezeichnet und vereinfachend als „Antikörper“ oder „Antikörperlösung“ bezeichnet.

Der dritte Reaktionspartner ist der **pH-Puffer** HEPES (0.5 mol/l). HEPES ($\text{C}_8\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$) ist ein weit verbreiteter Puffer für den pH-Bereich 6.8 – 8.2. HEPES interagiert praktisch nicht mit Metallionen und ist deshalb besonders für Reaktionen mit metallischen Radioisotopen, wie dem hier verwendeten Zirkonium-89, geeignet [68]. In nachfolgenden Flussdiagrammen wird die HEPES-Lösung blau dargestellt und vereinfachend als „Puffer“ bezeichnet.

Ablauf der Radiomarkierung

Zirkonium, Antikörper und Puffer müssen bei der Radiomarkierung gemäß eines genau definierten Fluidprotokolls miteinander vermischt werden. Das Protokoll für die in dieser Arbeit durchgeführte Zirkonium-Markierung von Anti-Gal3-Fragmenten ist in Abbildung 5 dargestellt. Es besteht im Kern aus drei Mischschritten. Im ersten Schritt wird 145 μl des Zirkoniums mit 350 μl Puffer vermengt. Im zweiten Mischschritt wird zum entstandenen Zwischenprodukt genau 75 μl Antikörperlösung hinzugefügt und vermischt. Im dritten Dosierschritt werden weitere 150 μl der Pufferlösung zugegeben. Das hergestellte Produkt muss

anschließend für zwei Stunden bei Raumtemperatur oder alternativ für 30 Minuten bei 36 °C inkubiert werden, bis die Verbindung des Zirkoniums mit den Antikörperfragmenten abgeschlossen ist.

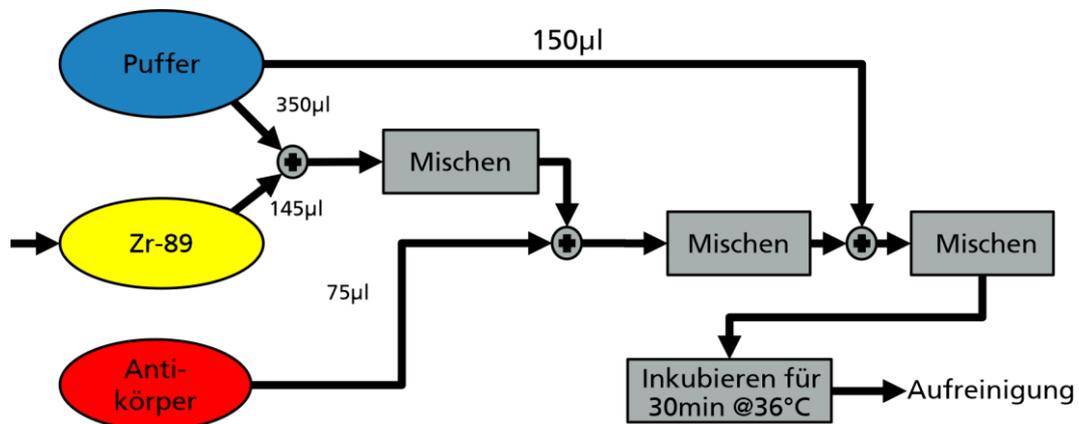


Abbildung 5: Flussdiagramm des in dieser Arbeit betrachteten Radiomarkierungs-Prozesses zur Markierung der Antikörper mit Zirkonium-89. Das Radiopharmakon wird über einen mehrstufigen Mischprozess aus den drei Eingangsreagenzien (Puffer, Zirkonium, Antikörper) erzeugt.

Im Anschluss an die Synthese wird eine Aufreinigung durchgeführt, um das verbliebene freie Zirkonium von den markierten Antikörpern zu trennen. Dazu wird das im Syntheseprozess erzeugte Produkt durch eine PD-10-Säule geleitet, die mit Natriumacetat und einer Zugabe von 0.5 g/l Gentisinsäure ausgeglichen wurde. Die Gentisinsäure dient als Radikalfänger und schützt die Antikörper vor der zerstörerischen Wirkung der radioaktiven Strahlung [69]. Aus dieser Aufreinigung kann die radiochemische Ausbeute des Markierungsprozesses bestimmt werden. Die radiochemische Ausbeute ist definiert als der Anteil der Radioaktivität der markierten Antikörper geteilt durch die Gesamtaktivität der Probe und ist ein wichtiger Parameter für die Bewertung der Qualität des Markierungsprozesses [70]. Sofern das Radiopharmakon für eine Patienten- oder Versuchstieranwendung vorgesehen ist, schließen sich an die Aufreinigung weitere Schritte der Qualitätskontrolle an.

Als wichtiger Punkt ist hervorzuheben, dass die Reagenzien während des gesamten Markierungs- und Aufreinigungsprozesses nicht in Berührung mit metallischen Gegenständen (z.B. Nadeln, Spritzen, Filterfritten) kommen dürfen, da der Chelator DFO, der als Bindeglied zwischen Antikörper und Zirkonium-Ion sitzt, sonst durch ein fremdes Metallion belegt werden kann.

2.2 AUTOMATISIERTE RADIOSYNTHESE-MODULE

Seit dem Beginn der radiochemischen Forschung werden elektromechanische Systeme für radiochemische Synthesevorgänge eingesetzt [71]. Einerseits können

dadurch repetitive Arbeitsschritte verringert und gleichzeitig der Prozessablauf standardisiert werden. Andererseits werden durch die Automatisierung der Interaktionsgrad mit den Radioisotopen und so die radioaktive Exposition für den Anwender reduziert.

Zum Schutz der Anwender und nach den Vorgaben der GMP müssen die Systeme stets in einem speziell gegen Strahlung abgeschirmten Arbeitsbereich („heiße Zelle“) untergebracht sein [72]. Die ersten halbautomatischen Markierungssysteme wurden noch manuell gesteuert, indem Bedienelemente für Ventile, Pumpen und Heizelemente durch die Abschirmung herausgeführt und manuell betätigt wurden [71]. Ab den 1980er Jahren wurde die manuelle Steuerung immer mehr durch elektronische Steuer- und Computersysteme ergänzt und schließlich ganz ersetzt [13].

Aufgrund des zunehmenden Einsatzes der PET seit den 2000er Jahren stieg der Bedarf an automatisierten Radiosynthesystemen noch einmal stark an und führte zu einer zunehmenden Kommerzialisierung. Heute existiert eine Vielzahl an experimentellen und kommerziell erhältlichen Systemen zur Herstellung von Radiopharmaka. Die Systeme lassen sich nach ihrem Aufbau in drei Kategorien einteilen [13], die in diesem Kapitel genauer betrachtet werden sollen: Kassettenbasierte Systeme, Systeme mit fester Verschlauchung und Hybridsysteme. Eine neuere Entwicklungsrichtung sind mikrofluidische Radiosynthesysteme, die von wenigen Ausnahmen abgesehen nur im Forschungsbereich angewendet und untersucht werden.

2.2.1 Kassettenbasierte Systeme

Kassettenbasierte Radiosynthese-Systeme sind die modernste Klasse von Radiosynthesegeräten. Sie verwenden zur Durchführung von Radiomarkierungen Kassetten, die alle notwendigen Systemkomponenten wie Reservoirs, Ventile und Filter sowie die für die Synthese benötigten Reagenzien enthalten, sofern diese ausreichend haltbar sind. Die Komponenten sind innerhalb der Kassette über fest installierte Schlauchleitungen oder Kapillaren miteinander verbunden. Die Kassette wird auf dem Gerät angebracht und dadurch mit Pumpe, Ventil-Stellmotoren und Druck- bzw. Unterdruckleitungen verbunden. Die Kassetten werden zusammen mit einem zugehörigen Syntheseprogramm vom Hersteller des Systems vertrieben, wobei für jeden Synthesevorgang eine angepasste Kassette benötigt wird. Abbildung 6 zeigt Beispiele kassettenbasierter Synthesysteme.

Bei den meisten Kassetten handelt es sich um Einwegprodukte, mit denen nur ein einzelner Synthesevorgang durchgeführt werden kann. Manche Hersteller bieten inzwischen aber auch Mehrweg-Kassetten an, mit denen zwei Radiosynthesen

nacheinander durchgeführt werden können. Die „Duo“ Kasette des *GE Fastlab-2* kann beispielsweise durch einen Spülvorgang gereinigt werden, um Fluidrückstände aus dem vorherigen Synthesevorgang aus den Kanälen zu entfernen und so eine kontaminationsfreie zweite Synthese zu ermöglichen. Falls bei der Synthese Komponenten benötigt werden, die nicht durch den Spülvorgang gereinigt werden können, sind diese auf der Kasette doppelt ausgeführt. [73]. Einweg-Kassetten bieten den Vorteil, dass die Reinigungsschritte zwischen aufeinanderfolgenden Synthesen nicht durch Studien validiert werden müssen [74].

Nennenswerte Beispiele für kassettenbasierte Radiosynthesysteme sind die *FASTlab*-Reihe von GE Healthcare Inc., (Chicago, USA) [75–78], der *AllinOne PET Tracer Synthesizer* von Trasis (Ans, Belgien) [79, 80], *NEPTIS perform* von ORA (Philippeville, Belgien) [81–83] und die *Modular-Lab*-Reihe von Eckert & Ziegler Eurotope GmbH (Berlin, Deutschland) [84, 85]. Das *Modular-Lab eazy* sticht dabei durch seine besonders geringe Größe von nur 20 x 23 x 10 cm³ hervor. Dieses System wiegt 1.8 kg, während das Gewicht anderer Synthesysteme typischerweise 15-40 kg beträgt. Allerdings besitzt das *eazy* auch nur einen vergleichsweise geringen Funktionsumfang und ist nur für die Synthese bestimmter ⁶⁸Ga, ¹⁷⁷Lu und ⁹⁰Y-Verbindungen geeignet [86].

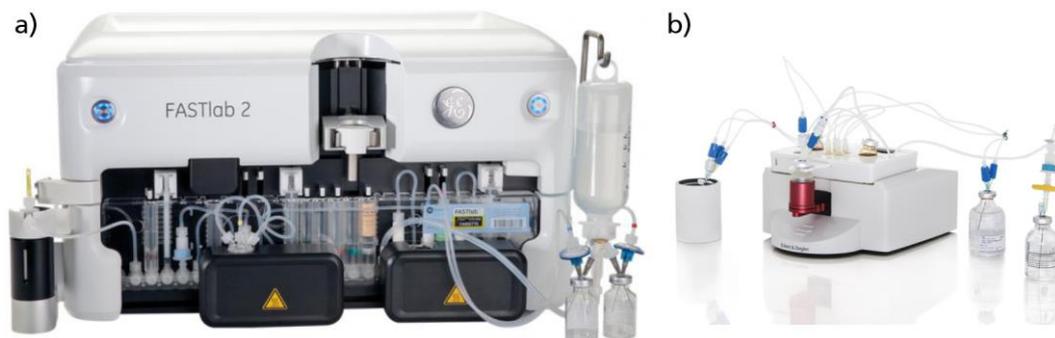


Abbildung 6: Beispiele kassettenbasierter Synthesysteme. **(a)** Fastlab 2 Radiosynthesemodul mit eingebauter „Duo“-Kassette und optionalen Heizelementen. Abbildung entnommen aus [88]. **(b)** Das Modular-Lab eazy ist nach Herstellerangabe das kleinste kommerziell erhältliche kassettenbasierte Radiosynthesystem. Abbildung entnommen aus [86].

Der Vorteil der Kassettenlösung liegt in der Standardisierung und Vereinfachung des Dosierprozesses für den Anwender. Durch die feste Verschlauchung ist es nicht möglich, die Reagenzien oder Komponenten falsch anzuschließen. Außerdem ist der Syntheseprozess durch das zugehörige Steuerprogramm fest vorgegeben. Anwenderfehler können so verhindert, und die notwendige Vorbereitungszeit für die Radiosynthese im Gegensatz zu manuellen Synthesen oder halbautomatischen Systemen verringert werden [13, 87].

Die Verwendung von kassettenbasierten Synthesystemen hat einen weiteren Vorteil. Bei der Neuanschaffung eines Radiosynthesegerätes oder der Einführung eines neuen Syntheseprotokolls müssen ausführliche Studien durchgeführt und protokolliert werden, in denen die Qualität des erzeugten Radiopharmakons nachgewiesen wird [13, 43]. Dieser Prozess kann durch die Verwendung von Kassetten und Protokollen, die bereits durch den Hersteller untersucht und freigegeben wurden, deutlich vereinfacht werden [73]. Die Kosten der Vorentwicklung schlagen sich allerdings auch in den Stückpreisen der Einwegkassetten nieder, die typischerweise zwischen 150 € für eine Gallium-68-Markierung und 500 € für eine aufwendigere Fluor-18-Markierung liegen.

Die Vorteile, die durch standardisierte Kassetten gewonnen werden, führen auf der anderen Seite aber auch zu einer verringerten Flexibilität bei der Entwicklung neuer Radiosynthese-Protokolle. Zwar bieten einige Hersteller auch „Entwicklerversionen“ der Kassetten an, die zur Eigenentwicklung von neuen Protokollen eingesetzt werden können. Diese benötigen aber zum Beispiel bei GE *FASTlab* eine zusätzliche Software-Lizenz, die zugekauft werden muss [75]. Deshalb werden zur Neuentwicklung von Radiosyntheseprotokollen auch Systeme mit fester Verschlauchung eingesetzt, die dem Benutzer mehr Freiheitsgrade als die Kassetten bieten.

2.2.2 Systeme mit fester Verschlauchung

Systeme mit fester Verschlauchung enthalten mindestens eine Pumpeinheit (typischerweise in Form einer Spritzenpumpe) und elektrisch steuerbare Halterungen für Ventilarrays, auf die Einwegventile aufgesteckt werden können. Einige Geräte verfügen zudem über Heiz- und Kühlelemente, Anschlüsse für Unter- und Überdruck aus einer Hausleitung oder zusätzliche Sensoren (z.B. für Radioaktivität, pH-Wert, Temperatur). Abbildung 7a zeigt ein exemplarisches Synthesystem mit fester Verschlauchung.

Zur Durchführung einer Synthese werden die benötigten Reagenzien und weitere fluidische Komponenten manuell mit Schläuchen (oder bei höheren Prozessdrücken und Temperaturen über beständigere Kapillaren) mit den Ventilarrays verbunden und zusätzliche Komponenten wie Säulen und Filter an dem Gerät angebracht. Die Prozesssteuerung erfolgt über einen Computer außerhalb der heißen Zelle. Typischerweise besitzt die Steuersoftware eine grafische Benutzeroberfläche (Abbildung 7b), auf der der Anwender die Gerätekonfiguration virtuell nachbilden und einen Ablauf für Pumpvorgänge und Ventilstellungen vorgeben kann. Außerdem können so entwickelte Synthesevorgänge gespeichert und wieder

geladen werden. Zudem protokolliert die Software die Ausführung von Synthesen gemäß der GMP-Vorgaben [13].

Systeme mit fester Verschlauchung sind von verschiedenen Herstellern kommerziell erhältlich und für die GMP-Produktion von Radiopharmaka zugelassen. Beispiele hierfür sind das *Flexlab* von iPhase technologies (Rowville, Australien) [89], das für die Synthese von ^{18}F -Präparaten optimiert ist [90], die *GRP-Modellreihe* von att-Scintomics GmbH (Fürstenfeldbruck, Deutschland) [64, 91], der *iQS Theranostics Synthesizer* von ITM Medical Isotopes GmbH (Garching, Deutschland) [92, 93], *GAIA V2* von Elysia s.a. (Angleur, Belgien) [94, 95] und das *TRACERlab FX* von GE Healthcare (Waukesha, WI, USA) [96, 97].

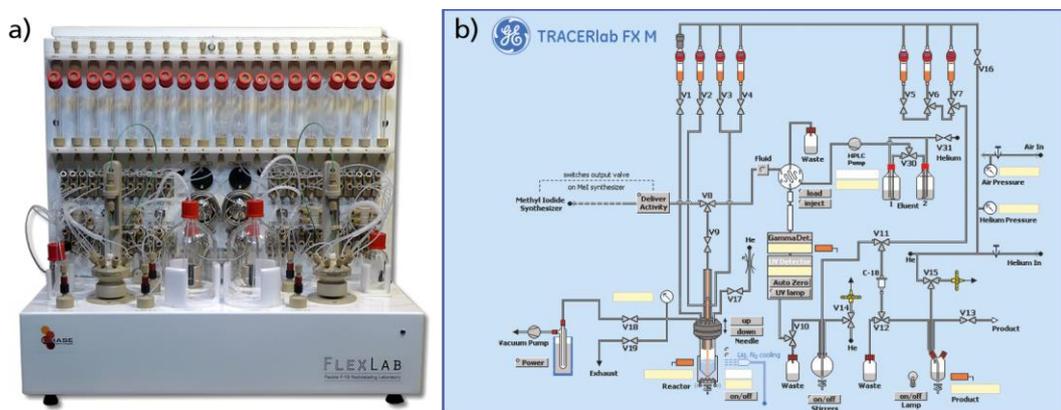


Abbildung 7: **(a)** iPhase Flexlab Synthesemodul mit zwei heizbaren und kühlbaren Reaktionsgefäßen. Abbildung entnommen aus [89]. **(b)** Ausschnitt der grafischen Benutzeroberfläche des Steuerprogramms des GE TRACERlab FX M. Abbildung entnommen aus [96].

Vorteil der Synthesysteme mit fester Verschlauchung ist ihre Flexibilität, die sie insbesondere für die Entwicklung neuer Syntheseprotokolle in der klinischen Forschung interessant macht [13]. Durch Neuankordnen der Schlauchverbindung und Umprogrammierung der Ventil-Stellmotoren und der Spritzenpumpe über die Computersoftware können nahezu beliebige Syntheseprotokolle ausgeführt werden. Der modulare Aufbau ermöglicht zudem die einfache Integration zusätzlicher Komponenten, durch die vielfältige Prozesse abgebildet werden können. Durch die Integration eines zusätzlichen Reaktionsgefäßes können beispielsweise Synthesen aus dem Bereich der Click-Chemie durchgeführt werden [98]. Zwar bieten inzwischen auch einige neue, kassettenbasierte Systeme wie z.B. das GE *Fastlab 2* oder Trasis *AllinOne* die Möglichkeit, Reaktionen mit zwei Reaktionsgefäßen auszuführen [13, 99]. Die meisten kassettenbasierten Systeme sind aber nach wie vor auf ein einzelnes Reaktionsgefäß beschränkt, das typischerweise in einer extra abgeschirmten und in das Gerät eingebauten Halterung untergebracht ist.

Sobald ein fertig entwickeltes Syntheseprotokoll für ein fest verschlauchtes System vorliegt, kann das Gerät dieses wiederholt automatisch ausführen, wodurch der Anwender einerseits Zeit spart und andererseits geringerer Strahlenbelastung ausgesetzt ist [95]. Systeme, bei denen die fluidische Verbindung der Komponenten nicht über Luer- oder Steckverbinder, sondern über Kapillaren erfolgt, können zudem Prozesse mit höheren Drücken und Temperaturen durchführen, als dies bei kassettenbasierten Systemen möglich ist [13].

Der Nachteil variabel verschlauchter Synthesysteme ist der hohe manuelle Aufwand bei der Vorbereitung der Synthese, der auch zu Anwendungsfehlern führen kann. Beispielsweise dann, wenn Schlauchleitungen falsch verbunden werden. Außerdem ist die häufige Rekonfiguration des Systemaufbaus insbesondere im Hinblick auf GMP-Vorgaben nicht ideal [13]. Um den steigenden Bedarf an automatisierten Radiosynthesystemen für standardisierte Synthesen mit dem Wunsch nach hoher Freiheit bei der Entwicklung von Protokollen zu vereinen, wurden Hybridsysteme entwickelt, die im nächsten Abschnitt besprochen werden.

2.2.3 Hybride Systeme

Hybride Radiosynthese-Systeme versuchen die Vorteile der Systeme mit fester Verschlauchung mit denen der kassettenbasierten Synthesysteme zu vereinen. Bei diesen Systemen können Syntheseprotokolle zunächst frei durch beliebige Verschlauchung entwickelt und danach mit minimalem Aufwand auf eine Synthesekassette übertragen werden [13].

Ein erster Schritt in diese Richtung sind die Entwickler-Kassetten, die zum Beispiel von GE für die *Fastlab*-Reihe angeboten werden und bereits in Abschnitt 2.2.1 genannt sind. Die *ELYXIS*-Reihe von Sofie Biosciences (Dulles, VA, USA) (siehe Abbildung 8) ist dagegen von vornherein als Hybridsystem konzipiert und verzichtet komplett auf Schlauchleitungen zwischen den Systemkomponenten. *ELYXIS* verwendet robotische Aktoren, um Reagenzien aus einer Lagervorrichtung in eine Kassette zu befördern und um eine Vakuum- sowie eine Inertgasleitung mit der Kassette zu verbinden. Außerdem besitzt *ELYXIS* drei verfahrbare Reaktionsgefäße, die an auf der Kassette angebrachte Dichtungen angepresst werden können, um flüssigkeits- und gasdichte Verbindungen herzustellen. Je nach verwendetem Reaktionsgefäß werden so unterschiedliche Fluidpfade und Synthesewege ermöglicht. Die Reaktionsabfolge kann wie bei anderen Synthesegeräten über eine grafische Benutzeroberfläche gesteuert werden. [100]

Die robotische Bestückung der vorgefertigten Kassetten mit den benötigten Reagenzien und die große Anzahl an Reaktorgefäßen, Heizelementen und anderen Systemkomponenten ermöglichen, dass ausgehend von einer einzelnen Kassette eine Vielzahl an Synthesen ausgeführt werden können. Diese Variabilität erkauft sich das System allerdings durch einen komplexen Aufbau mit vielen beweglichen mechanischen Teilen, der vermutlich zu einem hohen Investitions- und Wartungsaufwand führt.

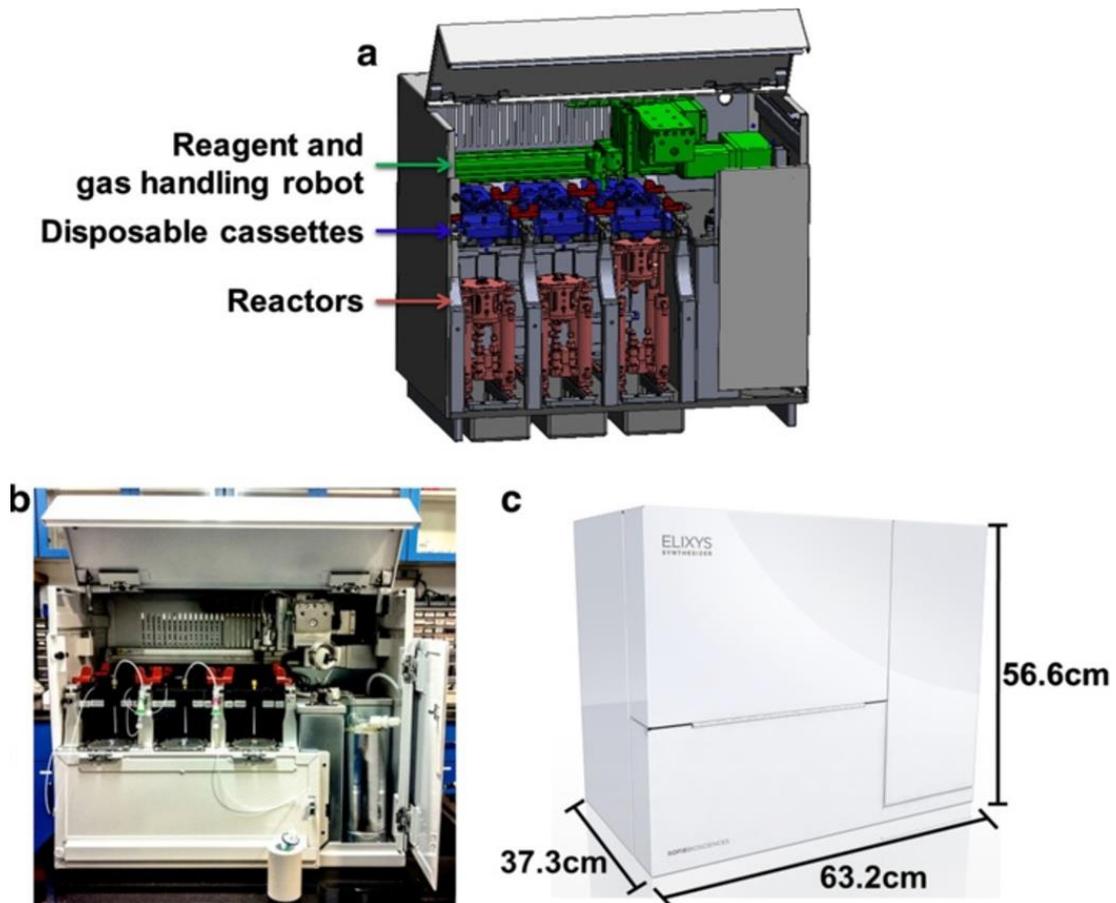


Abbildung 8: Das ELYXIS Synthesemodul. **(a)** Schemazeichnung, **(b)** Realer Aufbau, **(c)** Gehäuse und Dimensionen. Die drei Reaktorgefäße befinden sich auf beweglichen Halterungen und können an die Kassette angepresst werden, um schlauchfreie fluidische Verbindungen herzustellen. Abbildung entnommen aus [100].

2.2.4 Mikrofluidische Radiosynthese-Systeme

Alle bisher vorgestellten Radiosynthese-Systeme enthalten eine Vielzahl an Behältern und Ventilen, die über Schläuche und Fluidanschlüsse miteinander verbunden werden. Die minimale Fluidmenge, die durch das System verarbeitet werden kann, wird dabei über das Totvolumen innerhalb der fluidischen Komponenten beschränkt. Die bewegte Fluidmenge muss immer mindestens so groß sein, dass sie das Totvolumen komplett ausfüllt, auch müssen Verluste durch Anhaftung der

Reagenzien an Kanaloberflächen im Vergleich zum Fluidvolumen vernachlässigbar klein sein. Radioisotope, die zur Synthese benötigt werden, müssen deshalb oft stark mit Lösemitteln verdünnt werden, um die erforderliche Mindestmenge zu erreichen [101]. Alternativ kann die Synthese mit einer größeren Menge der Stoffe durchgeführt werden, wodurch es zu einem erhöhten Verbrauch an Reagenzien und zu einer zusätzlichen Strahlenbelastung für Gerät und Anwender kommt. Die zunehmende Nachfrage nach patientenspezifischen Behandlungen und Diagnosen führt zu einem steigenden Bedarf nach flexibleren Radiosynthesystemen, die auch Einzeldosen eines Radiopharmakons herstellen können, für die nur sehr wenige Reagenzien benötigt werden [13, 15, 102].

Die Hersteller der Radiosynthesysteme reagieren auf diese Anforderung durch die fluidische Optimierung der Synthesekassetten. Beispielsweise kann der Abstand zwischen den Ventilen auf einer Kassette minimiert [73], die Länge der Verbindungsschläuche kann durch das Reorganisieren der Komponenten innerhalb der Kassette verringert und das Volumen der Reagenzbehälter an die Synthesemenge angepasst werden [77].

Eine weitere Reduktion des Totvolumens wird durch den Einsatz von mikrofluidischen Synthesystemen erreicht. Mikrofluidische Systeme haben das Potential, auf kleinstem Raum Radiopharmaka herstellen zu können, wobei nur ein Minimum an Reagenzien verbraucht wird. In einigen Studien konnte außerdem gezeigt werden, dass durch den Einsatz von mikrofluidischen Techniken die Reaktionsgeschwindigkeit und die Syntheseausbeute erhöht werden kann [14]. Einer der Gründe hierfür ist das höhere Oberflächen-zu-Volumen-Verhältnis mikrofluidischer Systeme, durch das sich im Vergleich zu herkömmlichen Synthesystemen eine deutlich bessere Temperaturabführung (oder -zuführung) erzielen lässt [14].

In der Literatur gibt es eine große Anzahl an Veröffentlichungen zur Anwendung von mikrofluidischen Prinzipien bei der Radiosynthese. Eine Auswahl von fast 50 aktuellen Quellen findet sich beispielsweise in Kilbourn und Scott's „Handbook of Radiopharmaceuticals“ (2021, Kapitel 13) [13]. Obwohl mikrofluidische Synthesysteme bereits zur klinischen Herstellung von Radiopharmazeutika eingesetzt wurden [104–106] konnten sie sich bisher auf dem Markt nicht durchsetzen. Neben den Kosten ist dies begründet durch den Bedarf an hochspezifischen Fluidchips und die Herausforderungen bei der Integration der mikrofluidischen Systeme in makrofluidische Prozessabläufe [13, 107].

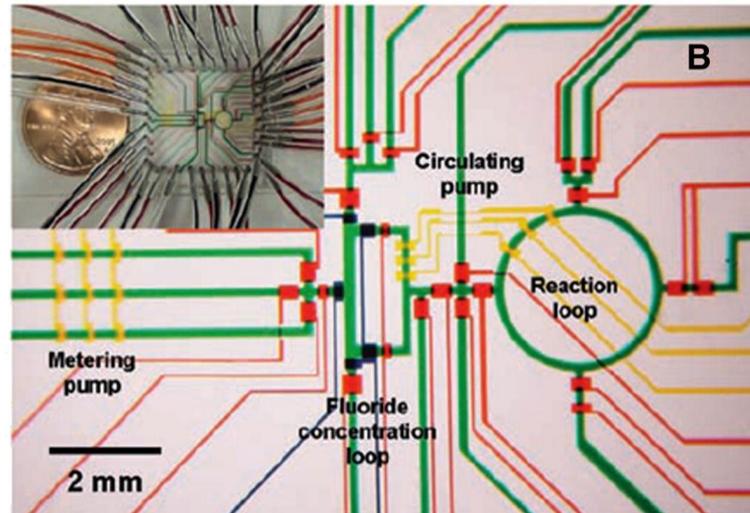


Abbildung 9: Mikrofuidischer Synthesechip zur Durchführung einer ^{18}F -Radiomarkierung. Das Inlay zeigt den aufwendigen Anschluss der Mikrokanalstruktur an die restliche Laborinfrastruktur. Die Pumpvorrichtung („Metering Pump“) besteht beispielsweise aus drei unabhängig voneinander ansteuerbaren Druckleitungen, die durch eine externe Fluidaktorik bedient werden müssen. Abbildung entnommen aus [103].

Die Diskrepanz zwischen mikro- und makrofluidischer Welt wird beim Betrachten des Systems in Abbildung 9 deutlich. Der abgebildete Chip enthält eine Vielzahl an Mikrokanälen und Ventilen und ist in der Lage, einen komplexen mikrofluidischen Radiomarkierungsprozess mit hoher radiochemischer Ausbeute auf kleinstem Bauraum durchzuführen [103]. Dazu muss der mikrofluidische Chip aber über Fluidverbindungen an makrofluidische Komponenten wie Druckregler, Vakuumpumpen und Reagenzbehälter angeschlossen werden. Das Inlay-Foto in Abbildung 9 zeigt zwar noch die aufwendige Verschlauchung des Fluidikchips, spart aber den externen Geräteaufbau komplett aus. Da aufgrund der Chipkomplexität mindestens mehrere Spritzenpumpen oder alternativ ein oder mehrere Druckregler und Ventilarrays benötigt werden, ist ein Größenvorteil des Gesamtsystems gegenüber herkömmlichen Synthesegeräten unter Einbeziehung der nicht abgebildeten Laborgeräte fraglich.

Trotz der genannten Herausforderungen gibt es einzelne Beispiele für kommerzialisierte mikrofluidische Radiosynthesemodule: Die *NanoTek*-Plattform von Advion (Ithaca, NY, USA) [102, 108, 109], die zur Radiomarkierung und Aufreinigung mit ^{18}F eingesetzt wird und *iMiDev* von iMiGine (Peynier, Frankreich) [110, 111].

Ein weiteres Beispiel ist das *ISAR*-System von GE Healthcare (Abbildung 10a). Dieses System verwendet mikrofluidische Einweg-Kartuschen, die mit 70 Membranventilen ausgestattet sind (Abbildung 10b). Die Ventile können unabhängig voneinander

durch mechanische Stößel betätigt werden. Durch freie Verbindung der Ventile über Mikrokanäle können eine Vielzahl an Dosierprotokollen ausgeführt werden, wobei insbesondere die wiederholte Verwendung einzelner Kanalstrecken mit der Gefahr der Kreuzkontamination verhindert wird. Aufgrund der freien Auswahl bei der Größe der Kanalstrukturen und durch die Verwendung von Standard-Luer-Verbindern zum Anschluss der Reagenzien und Versorgungsleitungen ist das System besonders für Herausforderungen bei der Kombination von Mikro- und Makrofluidik geeignet. [13, 112]

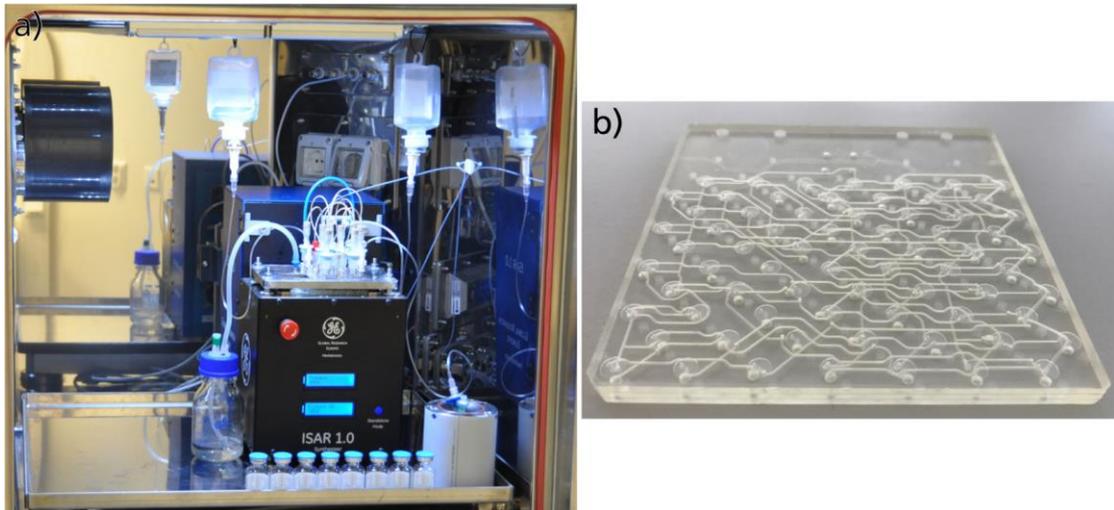


Abbildung 10: **(a)** ISAR 1.0 Radiosynthesemodul in einer heißen Zelle. Auf der Oberseite des Gerätes befinden sich die Anschlüsse für Reagenzien und darunter der mikrofluidische Chip mit Ventilen und Kanalstrukturen. **(b)** Fluidchip des ISAR-Radiosynthesemoduls. Abbildungen entnommen aus [112].

2.2.5 Bewertung der Radiosynthese-Geräte

Die Herstellung von Radiopharmaka gehört zu den Tätigkeiten mit der höchsten Strahlenbelastung für das medizinische Personal [12]. Um die Strahlenexposition zu minimieren, wie es durch den Gesetzgeber gefordert ist [46, 87], werden zunehmend automatisierte Radiosynthese-Module eingesetzt, die inzwischen von verschiedenen Herstellern kommerziell verfügbar sind. Allerdings gibt es weiterhin Herausforderungen und Verbesserungspotential.

Eine dieser Herausforderung beim Einsatz von Radiosynthesemodulen ist der hohe Platzbedarf. Typische Radiosynthese-Geräte besitzen einen Fußabdruck von ~50 cm Breite, ~40 cm Tiefe und ~40cm Höhe [75, 81, 84, 96]. Darüber hinaus benötigen die Geräte zusätzliche Labor-Infrastruktur wie Druckluft- und Vakuumananschlüsse und weitere Laborfläche zur Lagerung der Verbrauchsmaterialien, inklusive eines Abklingbereichs für radioaktiv kontaminierte Komponenten und Kartuschen. Je höher der Funktionsumfang des Gerätes, desto höher ist auch dessen Gewicht.

Spezialisierte Systeme wie das *Modular-Lab easy*, die nur für ausgewählte Synthesen eingesetzt werden können, sind dabei mit ~2 kg vergleichsweise leicht, während vollautomatische Geräte wie das *Fastlab2* über 40 kg wiegen [75, 86].

Die Handhabung von radioaktiven Komponenten muss in einem eigens dafür vorgesehenen und gegen Strahlung abgeschirmten Arbeitsbereich, der heißen Zelle, erfolgen. Außerdem muss der Laborbereich bei der Herstellung von Radiopharmaka den GMP-Anforderungen des Arzneimittelgesetzes genügen. Er unterliegt zum Beispiel Vorgaben zur Luftreinheit, die durch spezielle Filterung der Zuluft erreicht werden müssen [113]. Dieser besonders ausgestattete und teure Laborbereich steht nur eingeschränkt zur Verfügung und wird durch große Laborgeräte übermäßig beansprucht. Kommt es darüber hinaus zu einer Fehlfunktion des Synthesegerätes, bei der radioaktives Material austritt, muss der gesamte Arbeitsbereich dekontaminiert und bis zum Abklingen der Strahlung gesperrt werden. Ursachen für solche Fehlfunktionen können zum Beispiel ein fehlerhaft angesteuertes Ventil oder ein durch den mit dem Pumpsystem erzeugten Überdruck gelöster Schlauch sein. Auch wenn solche Störungen nur selten auftreten, bedeuten sie aufgrund der resultierenden Beeinträchtigung des Herstellungsprozesses der Radiopharmaka und dem zumindest temporären Ausfall wichtiger Klinikinfrastruktur eine kritische Beeinträchtigung des klinischen Workflows [114]. Der Einsatz miniaturisierter Systeme mit integrierter Fluidik, die über eine eigene Kapselung verfügen, könnte die Auswirkung dieser Fehlfunktionen vermindern oder ganz vermeiden.

Ein weiterer Nachteil der vorgestellten Radiosynthesysteme sind die hohen Investitions- und Betriebskosten. Der Anschaffungspreis für ein typisches Radiosynthesystem beträgt über 50.000 US-\$ [115], zuzüglich weiterer Kosten in Form von Softwarelizenzen, Installations- und Wartungsverträgen und für Einweg- und Verbrauchsartikel. Diese Kostenhürde behindert die einfache Verbreitung und das kommerzielle Wachstum automatischer Radiosynthesysteme [87, 115].

Durch den Einsatz von mikrofluidischen Systemen und die daraus folgende Minimierung der benötigten Reagenzien und Verbrauchsmaterialien können potenziell die Betriebskosten gesenkt und gleichzeitig bessere Synthesergebnisse erzielt werden [14]. Zudem kann durch wirklich miniaturisierte Fluidsysteme eine „Dose on Demand“-Produktion ermöglicht werden, bei der patientenindividuell Radiopharmaka erzeugt werden [15]. Eine Herausforderung beim Einsatz mikrofluidischer Systeme bleibt aber neben dem Bedarf an spezialisierten Fluidchips die Schnittstelle zur makrofluidischen Welt. Mikrofluidische Systeme müssen vorerst aufwendig an externe Druckregler, Fluidreservoirs und Vakuumanleitungen angeschlossen werden.

Eine Möglichkeit, um die Größe des Systems und gleichzeitig dessen Komplexität zu reduzieren, ist der Einsatz von mikrofluidischen Aktoren, die als Einwegteile direkt in den Fluidkreislauf eingebunden werden können. Ein solcher Aktor, die Mikromembranpumpen der Fraunhofer EMFT, wird im Abschnitt 2.3 vorgestellt.

2.3 FRAUNHOFER MIKROPUMPEN

Mikropumpen sind fluidische Aktoren, die Fluidmengen im Bereich einiger Nanoliter bis hin zu wenigen Millilitern pro Minute dosieren können und gleichzeitig sehr kleine Dimensionen von wenigen Millimetern bis zu wenigen Zentimetern besitzen. Seit ihrem Aufkommen in den 1970er Jahren wurde eine Vielzahl an Mikropumpen entwickelt, die unter anderem elektrostatische oder elektromagnetische Antriebe, thermopneumatische Aktoren oder Formgedächtnislegierungen als Pump Antrieb verwenden [116]. Geeignete Übersichtsartikel zum Stand der Technik der solcher Mikropumpen sind zum Beispiel [117], [118] und [119].

Auch an der Fraunhofer EMFT werden Mikropumpen entwickelt. Es handelt sich dabei um piezoelektrisch betriebene Mikromembranpumpen mit passiven Rückschlagventilen. Die Fraunhofer-Mikropumpen besitzen an ihrer Unterseite je ein passives Ein- und Auslassventil und darüber eine Pumpkammer, die an ihrer Oberseite durch die sogenannte Aktormembran begrenzt wird. Auf der Aktormembran ist eine Piezokeramik aufgebracht, die sich beim Anlegen einer elektrischen Spannung verformt und dadurch die Pumpbewegung der Membran hervorruft. Der schematische Aufbau und der Ablauf des Pumpprozesses sind in Abbildung 11 dargestellt.

Der Pumpprozess läuft wie folgt ab: Zunächst wird eine negative Spannung an die Piezokeramik angelegt, wodurch sich der verklebte Piezokeramik-Membran-Verbund nach außen wölbt. Dadurch wird die unter der Aktormembran liegende Pumpkammer vergrößert, in der so ein Unterdruck entsteht. Als Folge dieses Unterdrucks in der Pumpkammer öffnet sich das passive Einlassventil und Fluid wird in die Pumpkammer eingesaugt. Anschließend wird eine positive Spannung an die Piezokeramik angelegt, wodurch sich der Prozess umkehrt. Die Membran zieht sich zusammen und bewegt sich dadurch in Richtung des Pumpkammerbodens, wodurch ein Überdruck in der Pumpkammer entsteht. Der Pumpkammerdruck öffnet das Auslassventil und das Fluid wird aus der Pumpe ausgestoßen.

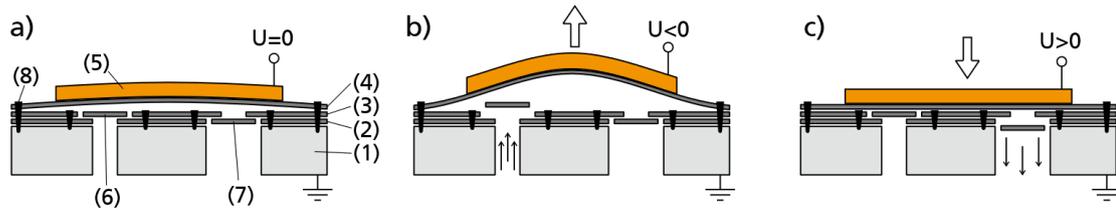


Abbildung 11: Schematischer Aufbau und Funktionsweise der Fraunhofer-Mikromembranpumpen am Beispiel des Stahlfolienaufbaus. **(a)** Grundstellung der Pumpe. Die nummerierten Komponenten sind Grundkörper (1); Ventilfolien (2, 3); Aktormembran (4). Piezokeramik (5). Ein- (6) und Auslassventil (7) werden durch die Ventilfolien gebildet. Grundkörper, Ventil und Aktorfolien werden per Laserschweißen gefügt, schwarze Keile (8) kennzeichnen eine Nahtposition. **(b)** Saughub: Beim Anlegen einer negativen Spannung dehnt sich die Piezokeramik aus, die Längenänderung wird über den Membran-Aktor-Verbund in eine Aufwärtsbewegung umgewandelt, das Pumpkammervolumen steigt an. **(c)** Druckhub: Umkehren der Spannung führt zu einem Zusammenziehen der Piezokeramik, dadurch bewegt sich die Aktormembran in Richtung Pumpkammerboden.

Die Fraunhofer-Mikromembranpumpen eignen sich sowohl zum Dosieren von inkompressiblen Flüssigkeiten als auch von kompressiblen Gasen [120]. Der Grund hierfür ist das hohe Kompressionsverhältnis der Pumpen, das durch einen speziellen, patentierten Piezomontageprozess [121] und durch Optimierung der Pumpengeometrie insbesondere im Bereich der Ventilsümpfe erreicht wird [120]. Das Kompressionsverhältnis beschreibt den Quotienten zwischen dem durch die Membran verdrängten Hubvolumen und dem Totvolumen, das am Ende des Pumphubes in der Pumpkammer verbleibt. Da die Mikropumpen Gase fördern können, sind sie blasentolerant und selbstansaugend. Außerdem verfügen die Fraunhofer-Mikropumpen über eine hohe Druckaufbaufähigkeit. So konnte mit optimierten Pumpenvarianten ein Druckaufbau von über 100 kPa mit Luft sowie ein extrapoliertes Wasser-Blockierdruck von 600 kPa gezeigt werden [122].

2.3.1 Pumpenarten

Basierend auf dem vorgestellten Pumpprinzip werden an der Fraunhofer EMFT verschiedene Pumpentypen entwickelt, die sich in zwei Kategorien unterteilen lassen: Pumpen aus Silizium und Pumpen aus strukturierten Edelstahlfolien. Bei beiden Pumpenkategorien handelt es sich um piezoelektrisch betriebene Membranpumpen, allerdings bestehen zwischen ihnen Unterschiede bei Materialien, Fertigungsprozessen und fluidischen Leistungsparametern. Für die in dieser Arbeit entwickelten Systemaufbauten kommen sowohl Siliziumumpen zur hochgenauen Fluiddosierung als auch Stahlpumpen zur Luftförderung zum Einsatz.

Silizium-Mikropumpen

Die Silizium-Pumpenfamilie der Fraunhofer EMFT enthält Pumpen der Größe $3.5 \times 3.5 \text{ mm}^2$ bis hin zu $8 \times 8 \text{ mm}^2$, die aus strukturiertem Silizium hergestellt werden. Die Grundlage der Silizium-Mikropumpen bilden drei Wafer, also dünne

Silizium-Kristallscheiben, die zunächst einzeln strukturiert werden, um die funktionellen mechanischen Strukturen wie Ein- und Auslassventile sowie Pumpkammer und Pumpmembran zu erzeugen. Die Bearbeitung der Wafer erfordert dazu mehrere Maskierungs- und Ätzschritte. Anschließend werden die Wafer zu einem Gesamtstapel verbunden. Abhängig von Pumpengröße und Waferdurchmesser können auf einem einzelnen solchen Waferstapel mehrere hundert Silizium-Pumpen Platz finden. Die dadurch ermöglichte Parallelisierung bei der Herstellung der Pumpenchips führt zu einer Reduktion der Kosten pro Pumpe bei Steigerung des Produktionsumfangs. Bei ausreichend hohem Fertigungsvolumen könnten Stückpreise unter einem Euro erzielt werden, was Anwendungen der Mikropumpe als Einweg-Komponente ermöglicht [123].

In dieser Arbeit werden Siliziumpumpen mit einer Kantenlänge von 5 mm x 5 mm verwendet. Die Dicke des Pumpenchips beträgt 0.7 mm. Als Ausgangsmaterial wird phosphordotiertes Silizium verwendet. Je nach Verwendungszweck kann dieser Pumpentyp mit Pumpkammerhöhen von 1 µm bis über 20 µm hergestellt werden. Für Pumpen, die hauptsächlich zur Förderung von Fluiden eingesetzt werden, werden bevorzugt höhere Pumpkammern verwendet, da mit diesen aufgrund des geringeren Flusswiderstands beim Durchströmen der Pumpkammer höhere Flussraten erreicht werden können. In dieser Arbeit werden Silizium-Pumpen mit 10 µm Pumpkammer eingesetzt, die über eine Wasser-Flussrate von bis zu 0.45 ml/min und einen Druckaufbau von bis zu 50 kPa verfügen. Die Pumpe wird über eine sechseckige Piezokeramik mit 50 µm Dicke betrieben, die durch ein Epoxidharz (EPOTEK 353 ND-T, Epoxy Technology Inc, Billerica, MA, USA) auf der Pumpmembran aufgeklebt wird. Die Piezokeramik wird mit einem Wechsellspannungssignal mit typischerweise +90 V / -30 V Amplitude betrieben.

Zur fluidisch-elektrischen Kontaktierung wurde an der Fraunhofer EMFT ein Testgehäuse für die Mikropumpe entwickelt. Das Testgehäuse enthält eine Klemmvorrichtung, durch die die Siliziumpumpe auf eine Dichtung aufgepresst und so ein dichter fluidischer Kontakt zwischen Gehäuse und Pumpenchip hergestellt wird. Außerdem wird die Pumpe durch die Klemmung fixiert, sodass Bonddrähte zur elektrischen Kontaktierung zwischen Pumpe, Piezokeramik und einem elektrischen Stecker gesetzt werden können. Als zusätzlichen Schutz vor Partikeln und Fasern enthält das Testgehäuse einen Filter mit wahlweise 2 µm oder 10 µm Porengröße, der der Pumpe vorgeschaltet ist. Abbildung 12 zeigt eine 5 x 5 mm² Mikropumpe in einem solchen Testgehäuse, sowie blanke Pumpenchips.

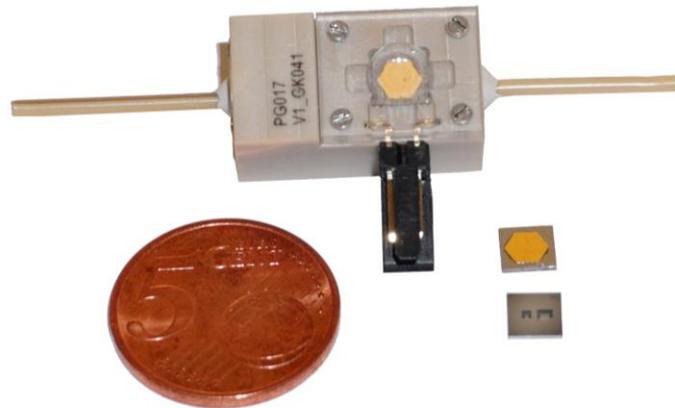


Abbildung 12: Fraunhofer EMFT 5 x 5 mm² Siliziumpumpe. Oben: Siliziumpumpe in Testgehäuse mit elektrischen Kontakten und Kapillaren als Fluidanschlüsse. Unten rechts: Zwei Pumpenchips, auf der Oberseite kann man die Piezokeramik erkennen, auf der Chip-Unterseite befinden sich die Ein- und Auslassöffnung.

Edelstahl-Mikropumpen

Fraunhofer Edelstahl-Mikromembranpumpen bestehen aus einem Edelstahl-Grundkörper mit 20 mm Durchmesser, auf den mittels Laserschweißen mehrere Metallfolien aufgebracht werden. Zwei identisch strukturierte, aber um 180° gegeneinander verdrehte Folien bilden Ein- und Auslassventil, eine weitere, unstrukturierte Folie bildet die Aktormembran. Dieser Pumpentyp verwendet als Antrieb einen piezokeramischen Scheibenaktor mit 18 mm Durchmesser und 150-200 µm Dicke, der mit einem Spannungssignal von +300 V / -80 V angesteuert werden muss.

Der gesamte Pumpenchip inklusive der Piezokeramik besitzt eine Dicke von 1 mm. Das Hubvolumen der Stahlpumpen beträgt etwa 11 µl [124]. Im kontinuierlichen Betrieb können Flussraten von 16 ml/min (Wasser) bzw. 50 ml/min (Luft) erzielt werden. Ebenso wie die Silizium-Mikropumpen verfügen auch die Stahl-Mikropumpen über ein eigenes Gehäuse mit Klemmvorrichtung für den münzgroßen Pumpenchip. Abbildung 13 zeigt eine Stahl-Mikropumpe im Testgehäuse als auch den bloßen Pumpenchip.



Abbildung 13: Fraunhofer EMFT Edelstahl-Mikropumpe der Baugröße $\varnothing 20 \times 1$ mm. Links: Mikropumpe in Testgehäuse, die Pumpe wird über eine Platine elektrisch kontaktiert und auf die Dichtung des Gehäuses gepresst. Der Stecker dient zum Anschluss der Pumpe an eine Treiberelektronik. Rechts: Ansicht der Ober- und Unterseite des Pumpenchips.

2.3.2 Fluidisches Verhalten der Mikropumpen

Die Flussrate der Fraunhofer-Mikromembranpumpen wird primär durch die Hubfrequenz der Mikropumpe gesteuert, die direkt über die Frequenz des Ansteuersignals vorgegeben wird. Dabei kann ein charakteristischer Zusammenhang zwischen der Flussrate und der Aktuationsfrequenz beobachtet werden, der in Abbildung 14a dargestellt ist. Bei geringen Frequenzen hat die Pumpmembran ausreichend Zeit, um einen kompletten Hub auszuführen und das in der Pumpkammer eingeschlossene Fluid auszustoßen oder anzusaugen. Die Flussrate ist in diesem Betriebsbereich direkt proportional zur Pumpfrequenz. Wird die Aktuationsfrequenz weiter erhöht, kann das Fluid aufgrund von Trägheitseffekten und Reibungsverlusten der Membranbewegung nicht mehr komplett folgen, bevor die Polarität des Ansteuersignals und damit die Membranbewegung umgekehrt wird. Pro Pumhub wird deshalb weniger Volumen ausgestoßen. Dieser Effekt wird allerdings durch die gesteigerte Pumpfrequenz kompensiert, weshalb die Flussrate der Pumpe weiter steigt [124]. Der Anstieg setzt sich bis zur sogenannten Grenzfrequenz fort, ab der die negativen Einflüsse von Trägheit und fluidischem Widerstand überwiegen, wodurch die Flussrate auch bei einer weiteren Erhöhung der Pumpfrequenz abnimmt. Der lineare Frequenzbereich sowie die Grenzfrequenz, bei der die maximale Flussrate erzielt wird, sind abhängig vom Pumpentyp, Medium sowie von System- und Umgebungsparametern, wie dem statischen und dynamischen Gegendruck und der Amplitude des Ansteuersignals [124].

Eine zweite wichtige Flusscharakteristik der Fraunhofer-Mikromembranpumpen ist das Gegendruckverhalten, das in Abbildung 14b dargestellt ist. Wenn die Mikropumpen mit einer konstanten Pumpfrequenz betrieben werden, besteht ein linearer Zusammenhang zwischen dem Gegendruck am Auslass der Pumpe und der erzielten Flussrate. Der Gegendruck kann dabei statisch sein, beispielsweise wenn Fluid bei der Befüllung eines Reservoirs einen hydrostatischen Druckunterschied überwinden muss, oder dynamisch durch die Reibung des Fluids an Kanalwänden und an Flussverengungen hervorgerufen werden. Wenn am Auslass der Pumpe kein Gegendruck aufgebracht ist, erreicht die Pumpe die maximale Flussrate. Bei einer Steigerung des Gegendrucks nimmt die Flussrate linear ab, bis der sogenannte Blockierdruck erreicht wird. Ab dem Erreichen des Blockierdrucks ist die Pumpe nicht mehr in der Lage, Fluid gegen das Druckgefälle zu befördern, die Flussrate ist Null. Der Blockierdruck entspricht auch dem maximal in der Pumpkammer erzeugten Druck und muss deshalb bei der Dosierung von empfindlichen Fluiden berücksichtigt werden.

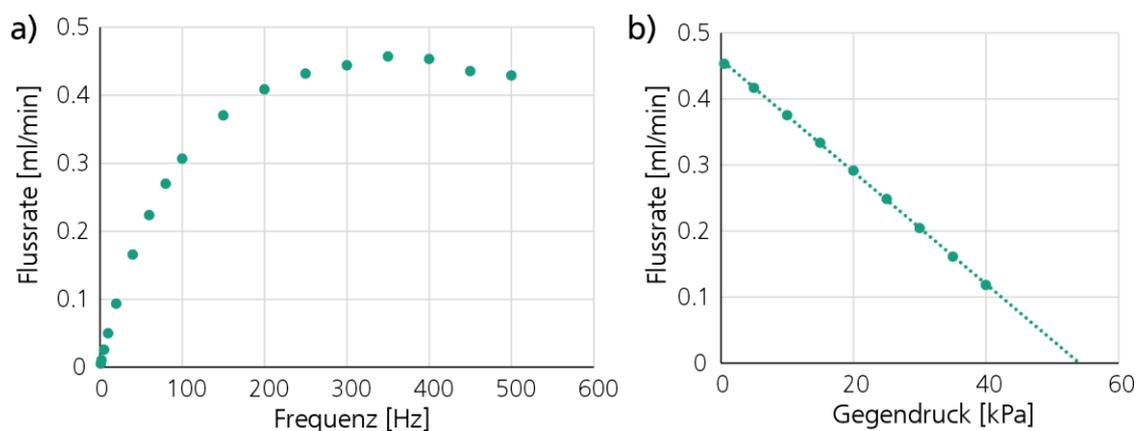


Abbildung 14: Charakteristische Flusskurven einer 5 x 5 mm² Silizium-Pumpe mit 20 μ m nomineller Pumpkammerhöhe (Signalamplitude +100 V / -20 V; Medium: Wasser) **(a)** Frequenzsweep: Bei einer Steigerung der Pumpfrequenz nimmt die Flussrate zunächst proportional zu und steigt dann unterproportional weiter an, bis bei der Grenzfrequenz (hier: 350 Hz) ein Flussmaximum erreicht wird. **(b)** Gegendruckverhalten der Mikropumpe: Bei konstanter Aktuationsfrequenz nimmt die erzielte Flussrate linear mit dem Gegendruck ab.

Aus den beiden in Abbildung 14 dargestellten Kurven ist zu erkennen, dass das tatsächlich geförderte Volumen pro Pumpe nicht konstant ist, sondern von Ansteuersignal und Gegendruck abhängt. Auch andere Parameter wie die Viskosität des geförderten Fluids, die Umgebungstemperatur und der genaue fluidische Systemaufbau beeinflussen die Flussrate der Mikropumpen. Zudem bestehen aufgrund von Fertigungstoleranzen Unterschiede zwischen typengleichen Mikropumpen, die sich ebenso auf das fluidische Verhalten auswirken können.

Bei der Verwendung der Mikropumpen zur exakten Dosierung von kleinen Flüssigkeitsmengen ist es deshalb nicht ausreichend, nur das nominelle Hubvolumen zu kennen und die Anzahl der ausgeführten Pumphybe zu zählen, um die dosierte Fluidmenge zu bestimmen. Stattdessen muss in Fällen, bei denen eine exakte Dosiermenge wichtig ist, auf ein Sensor- und Flussregelsystem zurückgegriffen werden. In dieser Arbeit wird zur Dosierüberwachung ein kapazitives Sensorprinzip eingesetzt.

2.4 KAPAZITIVE FLUSSSENSORIK MIT DEM KAPAZITÄTSSENSOR AD7142

Zur Flussüberwachung in mikrofluidischen Systemen stehen verschiedenste Sensorprinzipien zur Verfügung. Dazu zählen unter anderem mechanische Wandler, bei denen beispielsweise die Auslenkung eines Balkens durch das umströmende Fluid gemessen wird [125–127], thermische Anemometer, bei denen die Flussrate durch die Wärmeverteilung oder die Heizleistung eines Sensorelements bestimmt wird [128, 129] und Coriolissensoren, die die Corioliskraft zur Bestimmung fluidischer Parameter wie Flussrate und Viskosität verwenden [130, 131].

Ein weiteres Sensorprinzip, das in der Mikrofluidik zur Anwendung kommt, sind kapazitive Sensoren. Kapazitive Sensorik wird in der Mikrofluidik insbesondere zur Bestimmung des Füllstands von Reservoirs [132], zur Detektion der Position von Micro-Droplets [133, 134] und der Erkennung von Phasengrenzen [135] eingesetzt. Daneben können bei manchen Anwendungen auch Fluidarten und -eigenschaften unterschieden werden [136, 137], worauf in dieser Arbeit aber nicht genauer eingegangen werden soll.

Kapazitive fluidische Sensoren detektieren Änderungen des elektrischen Feldes eines Kondensators, beispielsweise wenn ein zunächst luftgefüllter Kanal mit einer Flüssigkeit gefüllt wird. Die Ursache der Kapazitätsänderung ist die unterschiedliche relative Permittivität der Medien, die beispielsweise für Luft bei $\epsilon_R \approx 1$ und für Wasser bei $\epsilon_R \approx 80$ liegt [138]. Kapazitive Sensoren benötigen also immer eine Medien- oder Phasengrenze, um Fluidbewegungen zu detektieren. Das in [139] beschriebene Sensorsystem verwendet beispielsweise Mikropumpen, um Luftblasen in einen Mineralölstrom einzubringen. Eine Serie von Sensorelektroden erkennt und verfolgt die Phasengrenzen der Luftblasen, woraus das Sensorsystem die Flussrate des Luft-Öl-Gemischs berechnen kann. Zhang *et al.* verwenden interdigitale Sensorelektroden zur Bestimmung des Fluidvolumens in einer zunächst leeren mikrofluidischen Mischkammer, die langsam mit Flüssigkeit gefüllt wird [140].

Der Vorteil kapazitiver Sensoren gegenüber anderen Messverfahren zur Bestimmung von Fluidposition oder -geschwindigkeit ist, dass die Messung berührungslos

erfolgen kann. Dazu werden die Messelektroden vom Fluid durch eine Membran abgetrennt, die dünn genug ist, um vom elektrischen Feld des Kapazitätssensors durchdrungen zu werden. Der Sensor wird nicht durch das Fluid im Kanal benetzt und kann deshalb wiederverwendet werden. Dies macht die Sensortechnologie interessant für Anwendungen in der Radiopharmazie, bei der GMP-Vorgaben im Hinblick auf Kreuzkontamination eingehalten werden müssen.

Genau dieser Anwendungsfall soll in dieser Arbeit untersucht werden. Um einen komplexen fluidischen Prozess mit mehreren Reagenzien zu überwachen, wird dabei eine Vielzahl einzelner kapazitiver Sensoren benötigt. Da das entwickelte Dosiersystem anschließend innerhalb des beengten Raums einer heißen Zelle eingesetzt werden soll, ist die Verwendung von externer Laborelektronik zur Kapazitätsmessung ausgeschlossen. Stattdessen soll eine integrierte Elektronik entwickelt werden, mit der alle Sensorelektroden auf kleinstem Raum ausgewertet werden können. Der AD7142 ist ein Kapazitätssensor, der diese Anforderungen erfüllt.

2.4.1 Aufbau und Funktionsweise des AD7142

Der AD7142 (Analog Devices, Boston, MA, USA, Datenblatt: [141]) ist ein integrierter, programmierbarer Kapazitäts-zu-Digital-Wandler, der ursprünglich als Touchscreen-Controller für Unterhaltungselektronik entwickelt wurde. Der AD7142 verfügt über einen 16-bit Sigma-Delta-Wandler zum Umwandeln der Kapazität in einen digitalen Messwert. Der Chip besitzt 14 Eingänge, an die kapazitive Sensoren angeschlossen werden können. Diese Eingänge sind mit CIN0 bis CIN13 nummeriert. Über einen internen Zustandsautomaten und einen programmierbaren Multiplexer können bis zu zwölf der 14 Messeingänge automatisch und zyklisch abgetastet werden. Die Periodendauer eines kompletten Messdurchlaufs, bei dem alle zwölf im Zustandsautomaten registrierten Eingänge ausgelesen werden, beträgt maximal 36 ms. Die Messergebnisse werden in internen Registern abgespeichert, die bei Bedarf ausgelesen werden können. Dadurch ist sichergestellt, dass die Steuerhardware immer auf einen aktuellen Kapazitätsmesswert zugreifen kann, ohne auf das Ende des Messzyklus warten zu müssen.

Der Messbereich des AD7142 beträgt auf jedem der zwölf Messkanäle 4 pF, die über den 16-bit Wandler mit einer Auflösung von 61 aF/bit abgetastet werden. Die Position dieses 4-pF-Messfensters kann über eine interne Offsetschaltung um bis zu 20 pF verschoben werden, beispielsweise um die Grundkapazität der Messelektrode zu kompensieren. Diese Offsetkompensation besitzt eine Auflösung von 7 bit (158 fF/bit). Eine Rekalibration der Offsetkapazität erfordert eine kurzzeitige Unterbrechung der kapazitiven Messung.

Der AD7142 arbeitet bei einer Versorgungsspannung zwischen 2.6-3.6 V und sitzt in einem 32-Pin LFCSP Gehäuse mit einem Fußabdruck von 5 mm x 5 mm. Als Außenbeschaltung werden lediglich 100-nF-Stützkondensatoren an den Spannungseingängen benötigt. Die Konfiguration des AD7142 erfolgt je nach Chipvariante entweder über eine I²C³ - oder SPI⁴ -Schnittstelle durch einen Mikrocontroller. Der AD7142 kann direkt nach der Konfiguration die ersten Messwerte liefern, allerdings kommt es in der Aufwärmphase, die etwa fünf bis zehn Minuten beträgt, zu erhöhter Sensordrift (Abbildung 15).

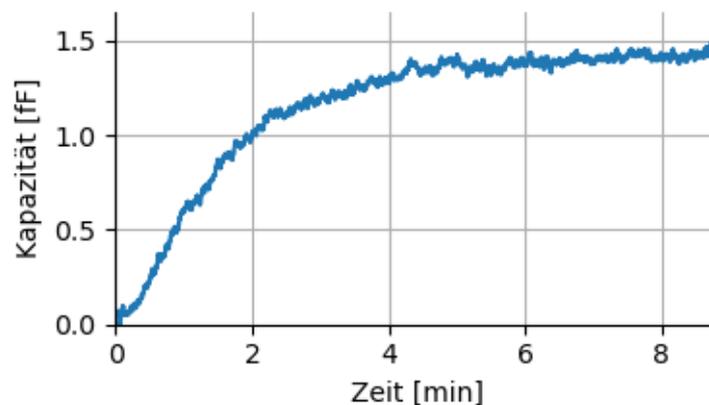


Abbildung 15: Einschaltverhalten des AD7142. Die absolute Höhe der Drift ist von der Geometrie der Sensorelektrode abhängig, nach 5-10 Minuten stellt sich stets ein konstanter Messwert ein.

Zur Kapazitätsmessung benötigt der AD7142 für jeden aktiven Messeingang einen „Sensor“, der aus einer auf der Platine ausgeführten Mess- (CINx / Rx) und Anregungselektrode (SRC / Tx) besteht. Zur Kapazitätsmessung wird ein Rechteckssignal mit einer Frequenz von 250 kHz auf die Anregungselektrode angelegt. Dadurch entsteht ein elektrisches Feld, das sich zwischen Anregungs- und Messelektrode ausbreitet, wie in Abbildung 16 dargestellt ist. Das Feld induziert eine Spannung in der Messelektrode, die proportional zur Kapazität des Sensors ist und über den Σ - Δ -Wandler in einen digitalen Messwert umgewandelt wird.

2.4.2 Kapazitive Überwachung von mikrofluidischen Kanälen

Der AD7142 wurde ursprünglich als Touchscreen-Controller entwickelt, der Interaktionen mit einer berührungsempfindlichen Oberfläche detektieren soll. Diese Berührungserkennung erfolgt über ein Shunt-Prinzip: Wenn ein geerdetes Objekt, zum Beispiel ein Finger, in das elektrische Feld des Sensors eintritt, werden einige Feldlinien zur Masse kurzgeschlossen („shunted“). Sie erreichen dadurch die Messelektrode nicht mehr (Abbildung 16a) und die gemessene Kapazität sinkt. Zur

³ Inter-Integrated Circuit, Kommunikationsschnittstelle und -protokoll für Mikrocontroller

⁴ Serial Peripheral Interface, Kommunikationsschnittstelle und -protokoll für Mikrocontroller

Dosierüberwachung in mikrofluidischen Kanälen wird ein anderer Effekt verwendet: die Änderung der relativen Permittivität des Dielektrikums, also des Materials, das Anregungs- und Messelektrode umgibt.

Die Permittivität ε beschreibt die Polarisationsfähigkeit eines Dielektrikums durch elektrische Felder. Sie wird normalerweise als Vielfaches der elektrischen Feldkonstante ε_0 angegeben, die die Permittivität des Vakuums angibt:

$$\varepsilon = \varepsilon_0 * \varepsilon_R$$

Wobei ε_R die sogenannte relative Permittivität ist. Die relative Permittivität ist keine Materialkonstante, sondern von Umgebungsparametern und von der Messfrequenz abhängig. Für den vorliegenden Anwendungsfall kann allerdings für Luft in sehr guter Näherung $\varepsilon_R = 1.0$ und für Wasser $\varepsilon_r \approx 80$ angenommen werden.

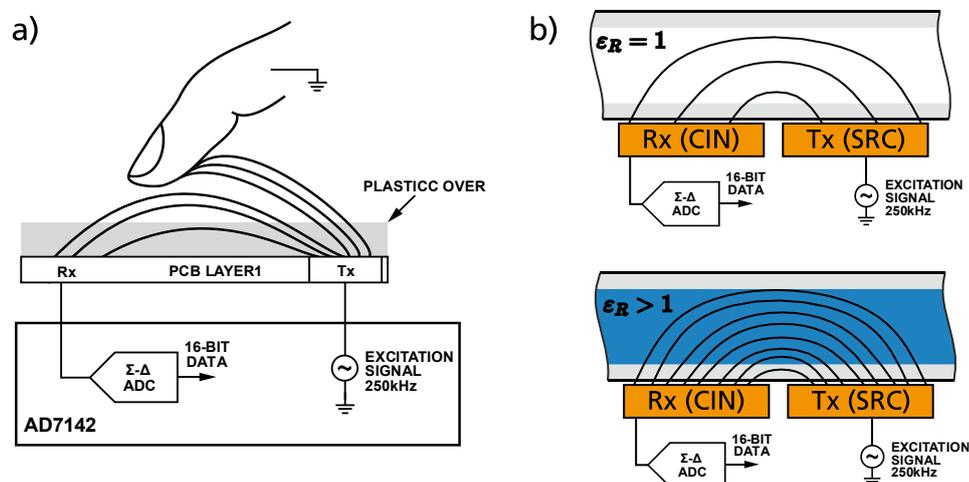


Abbildung 16: **(a)** Messprinzip des AD7142: Beim Eintritt eines geerdeten Objekts in das elektrische Feld zwischen Mess- und Anregungselektrode werden Feldlinien zur Masse hin abgelenkt, der Sensor detektiert so zum Beispiel eine Berührung eines Touchscreens. Grafik entnommen aus [141]. **(b)** Messprinzip in der Mikrofluidik: Änderung der dielektrischen Parameter im Feldbereich, insbesondere der relativen Permittivität ε_r beim Befüllen des Fluidkanals, führt zur Änderung der Feldstärke (die Feldstärke bzw. Kapazität ist in der Grafik durch die Anzahl der Feldlinien dargestellt).

Wenn zwei parallele Elektroden der Fläche A im Abstand d zueinander angeordnet sind und sich zwischen ihnen ein Dielektrikum mit relativer Permittivität ε_R befindet (Plattenkondensator) kann die Kapazität der Anordnung mit der folgenden Formel berechnet werden [142]:

$$C = \varepsilon_0 \varepsilon_R \frac{A}{d}$$

Ein Plattenkondensator mit Wasser als Dielektrikum hätte also eine 80-mal höhere Kapazität als ein identischer Plattenkondensator, der Luft als Dielektrikum benutzt.

In der Mikrofluidik werden die Elektroden aus fertigungstechnischen Gründen oft nicht als Plattenkondensator auf beiden Kanalseiten angeordnet, sondern befinden sich als koplanare Elektroden auf einer einzelnen Kanalseite. Die Sensorelektroden werden dabei so in die Nähe des Fluidkanals gebracht, dass das elektrische Feld, das sich zwischen Anregungs- und Messelektrode ausbreitet, in den Kanal hineinreicht (Abbildung 16b). Wenn dann der zunächst leere Fluidkanal mit Wasser gefüllt wird, ändert sich die relative Permittivität im Bereich des Feldes und die gemessene Kapazität steigt. Die Kapazität dieser koplanaren Elektrodenanordnung kann im Gegensatz zum Plattenkondensator nicht einfach analytisch bestimmt werden. In Kapitel 3 wird daher eine Auslegung für die in dieser Arbeit verwendeten Elektroden- und Kanalgeometrien durchgeführt.

3 KAPAZITIVE SENSORELEKTRODEN

Zum Erfassen der Fluidbewegung in den mikrofluidischen Kanälen kommen in dieser Arbeit kapazitive Sensoren zum Einsatz, die über den Sensor-IC AD7142 ausgewertet werden. Die kapazitiven Sensoren bestehen jeweils aus zwei Elektroden, zwischen denen sich ein elektrisches Feld ausbreiten kann. Die Geometrie der Elektroden hängt von ihrem Verwendungszweck ab. Zur Anwendung in der Mikrofluidik sind grundsätzlich zwei Sensoranordnungen geeignet, die in Abbildung 17 dargestellt sind.

Die Sensorelektroden können entweder über einen langen Kanalbereich ausgedehnt sein (nachfolgend „kontinuierlicher Sensor“ bezeichnet) oder an einer eng definierten Position des Kanals sitzen („diskreter Positionssensor“). Kontinuierliche Sensoren werden eingesetzt, um die stetige Kapazitätsänderung während der Befüllung eines Kanals zu messen, woraus der Kanalfüllstand bestimmt werden kann. Diskrete Positionssensoren erlauben dagegen die Detektion des exakten Orts der Phasengrenze, wenn diese den Sensor erreicht.

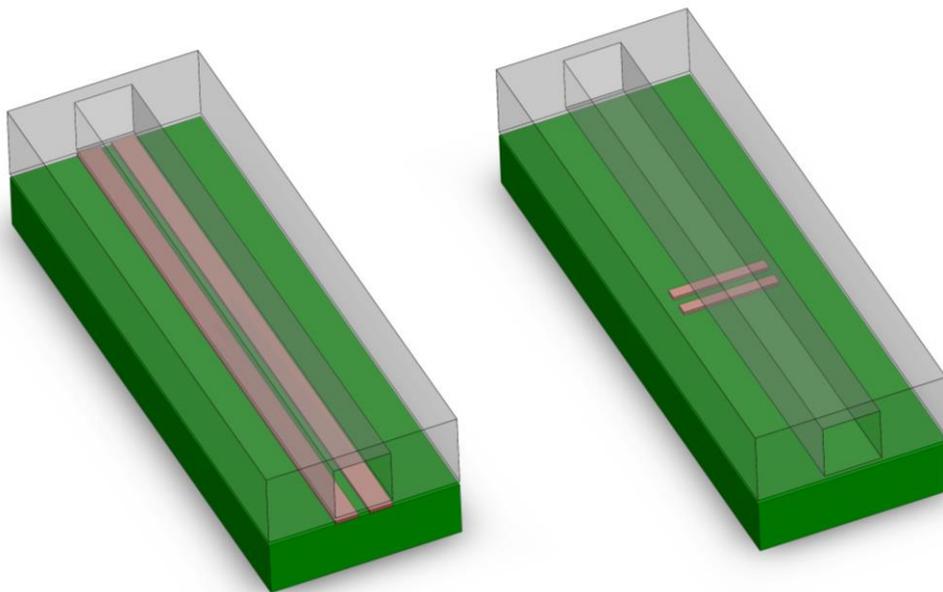


Abbildung 17: Mögliche Elektrodendesigns für kapazitive Dosierüberwachung eines Mikrokanals.

Links: „Kontinuierlicher“ Kapazitätssensor zum Überwachen einer ausgedehnten Kanalstrecke. **Rechts:** „Diskreter“ Positionssensor zur Detektion von Phasengrenzen an einer definierten Kanalposition.

Diskrete Positionssensoren müssen möglichst klein sein, um ihre Ortsauflösung zu erhöhen. Gleichzeitig muss der Signalhub des Sensors ausreichend groß sein, um daraus zuverlässig das Auftreten einer Phasengrenze im Fluidkanal detektieren zu können. Kontinuierliche Sensoren besitzen im Gegensatz dazu eine große Elektrodenfläche, was wiederum zu einer hohen Grundkapazität des Sensors führt.

Bei der Auslegung der kontinuierlichen Kapazitätssensoren ist darauf zu achten, dass die Gesamtkapazität sowohl bei leerem als auch bei gefülltem Kanal den Messbereich des Sensor-ICs AD7142 nicht überschreitet. Gleichzeitig ist eine Maximierung des Signalhubs während der Kanalfüllung wünschenswert, um die Genauigkeit der Flusssteuerung zu erhöhen. In dieser Arbeit werden sowohl diskrete als auch kontinuierliche Sensorelektroden verwendet, deren Kapazität genau ausgelegt werden muss.

3.1 KONTINUIERLICHE KAPAZITÄTSENSOREN

Bei der Auslegung der kontinuierlichen Kapazitätssensoren müssen zwei Extremwerte berücksichtigt werden. Einerseits die Grundkapazität C_0 der Sensorelektroden bei leerem Fluidkanal und andererseits die Kapazität C_{voll} , wenn der durch den Kapazitätssensor überwachte Kanalbereich komplett mit Flüssigkeit ($\epsilon_R > 1$) gefüllt ist. Gemäß des in Kapitel 2.4 beschriebenen Zusammenhangs zwischen Permittivität und Kapazität gilt dabei stets:

$$C_0 < C_{voll}$$

Der Signalhub ΔC , der beim Befüllen des Kanals erzeugt wird, kann aus diesen beiden Werten berechnet werden und beträgt:

$$\Delta C = C_{voll} - C_0$$

Je größer der Signalhub bei gleichem Fluidkanal ist, desto genauer kann die Fluidbewegung innerhalb des Kanals durch die Sensorelektroden überwacht werden. Dabei ist allerdings stets zu beachten, dass sowohl C_0 als auch C_{voll} den Messbereich des eingesetzten Sensor-Chips nicht überschreiten dürfen. Für den verwendeten Sensor-Chip AD7142 beträgt der Messbereich 24 pF, wobei 4 pF auf das eigentliche Messfenster und 20 pF auf die variabel zuschaltbare Offsetkompensation entfallen [141].

Für die Systemvariante A, die nachfolgend in Kapitel 4 vorgestellt wird, werden drei kapazitiv überwachte Fluidkanäle mit 495 μl , 570 μl und 720 μl Innenvolumen benötigt. Die Kanäle besitzen jeweils eine rechteckige Querschnittsfläche von 1.5 x 1.5 mm², woraus sich eine Länge der Fluidkanäle (und damit eine Länge der kontinuierlichen Kapazitätssensoren) von 220 mm, 250 mm und 320 mm ergibt. Die Kanäle werden mäanderförmig gestaltet, um die Fluidchip-Fläche optimal auszunutzen. In Abschnitt 3.1.1 wird zunächst ein analytisches Berechnungsmodell für die Kapazität koplanarer Elektroden vorgestellt und für die drei gewünschten Kanallängen ausgewertet. Da das analytische Modell aber die tatsächliche, mäanderförmige Elektrodengeometrie und den Einfluss der Fluidkanalstruktur

vernachlässigt, wird anschließend in Abschnitt 3.1.2 eine FEM-Simulation vorgestellt, bei der die genaue Systemgeometrie und der Füllzustand des Kanals bei der Kapazitätsbestimmung berücksichtigt werden.

3.1.1 Kapazitätsberechnung mit Parallel-Microstrip-Lines-Modell

Kontinuierliche Kapazitätssensoren bestehen aus zwei koplanaren Elektroden, die durch einen Spalt mit definierter Breite voneinander getrennt sind. Diese Art der Elektrodenanordnung wird in der Literatur als „parallel microstrip lines“ bezeichnet [143]. Das Modell zur Kapazitätsberechnung der Elektrodenanordnung beschreibt zwei Elektroden mit jeweils rechteckigem Querschnitt der Breite w , der Höhe t und Länge l , die durch einen Separationsspalt der Breite s getrennt sind. Die Elektroden sitzen auf einer Platine der Dicke h , auf deren Gegenseite sich eine Massenfläche befindet. Die Platine und die Elektroden sind bei diesem Modell von Luft umgeben ($\epsilon_R = 1$). Außerdem wird angenommen, dass die Elektroden gerade und parallel verlaufen, wie in der Schemazeichnung in Abbildung 18 dargestellt.

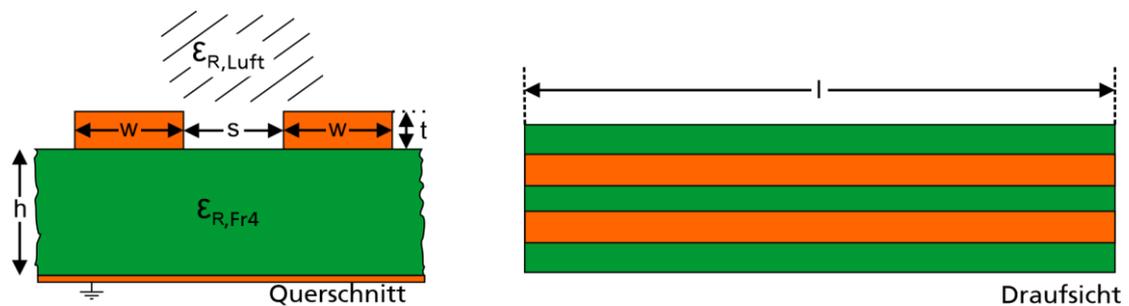


Abbildung 18: Das „parallel microstrip lines“-Modell zur Berechnung der Sensorkapazität modelliert ein Elektrodenpaar auf der Oberseite einer Platine der Dicke h , auf deren Unterseite sich eine Massenfläche befindet. Als Dielektrikum auf der platinenabgewandten Seite wird Luft ($\epsilon_r = 1$) angenommen.

Die spezifische Kapazität c pro Längeneinheit der in Abbildung 18 gezeigten Elektrodenanordnung lässt sich bei Vernachlässigung der Elektrodendicke t durch die folgende Gleichung berechnen [144]:

$$c = \begin{cases} \frac{\epsilon'_R}{120v_0 \ln\left(2 \frac{1+\sqrt{k}}{1-\sqrt{k}}\right)}, & \frac{1}{\sqrt{2}} \leq k \leq 1 \\ \frac{\epsilon'_R \ln\left(2 \frac{1+\sqrt{k'}}{1-\sqrt{k'}}\right)}{377\pi v_0}, & 0 \leq k \leq \frac{1}{\sqrt{2}} \end{cases}$$

v_0 steht dabei für die Lichtgeschwindigkeit ($3 \cdot 10^8 \frac{m}{s}$). Die Geometrieparameter k und k' beschreiben den Anteil des Spaltes an der Gesamtbreite der Elektrodenanordnung und sind folgendermaßen definiert:

$$k = \frac{s}{s + 2w}$$

$$k' = \sqrt{1 - k^2}$$

Der Parameter ε'_R beschreibt die effektive relative Permittivität. Die effektive relative Permittivität wird benötigt, da sich die Feldlinien des elektrischen Feldes partiell im Substrat der Platine und partiell in der Luft oberhalb der Elektroden ausbreiten. Würde dieses inhomogene Medium stattdessen durch ein einheitliches Medium mit relativer Permittivität ε'_R ersetzt, würden die Feldstärke des resultierenden Feldes unverändert bleiben [145]. ε'_R wird für das vorliegende Modell durch die folgende Formel berechnet [144]:

$$\varepsilon'_R = \frac{\varepsilon_{RP} + 1}{2} \left\{ \tanh \left[0.775 \ln \left(\frac{h}{w} \right) + 1.75 \right] + \frac{kw}{h} [0.004 - 0.7k + 0.001(1 - 0.1\varepsilon_{RP})(0.25 + k)] \right\}$$

Die Elektrodendicke t wird bei der Kapazitätsberechnung vernachlässigt, da die Dicke der Elektrode typischerweise deutlich geringer ist als deren Ausdehnung, und deshalb die zusätzliche Kapazität durch das elektrische Feld zwischen den Seitenflächen der Elektroden nicht ins Gewicht fällt.

Die Gesamtkapazität C der Elektrodenanordnung ergibt sich schließlich durch Multiplikation der relativen Kapazität c mit der Länge der Elektroden:

$$C = c * l$$

Neben diesen allgemein für das Modell gültigen Formeln gibt es weitere Randbedingungen, die bei der Berechnung beachtet werden müssen. Die relative Permittivität ε_R der Platine, deren Substratdicke h und die Höhe der Elektroden t sind durch den Fertigungsprozess vorgegeben. In dieser Arbeit werden Platinen mit FR4-Kern mit den folgenden Parametern verwendet:

$$h = 1.55 \text{ mm}$$

$$t = 35 \text{ } \mu\text{m}$$

$$\varepsilon_R = 4.0$$

Auch die Geometrie der Sensorelektroden wird zum großen Teil durch die Abmaße des zu überwachenden Fluidkanals definiert. So soll die gesamte Breite der Elektroden und des Separationsspalts identisch zur Kanalbreite sein und die Elektrodenlänge l soll der Kanallänge entsprechen, um eine vollständige kapazitive Erfassung des Kanals zu ermöglichen. Für das geplante Fluidsystem bedeutet das:

$$s + 2w = 1.5 \text{ mm}$$

$$l \in \{220 \text{ mm}, 250 \text{ mm}, 320 \text{ mm}\}$$

Die Kapazität des Modells hängt unter den gegebenen Randbedingungen von einem einzelnen freien Designparameter ab: Der Breite s des Separationsspalts, der Mess- und Anregungselektrode trennt. Je kleiner der Separationsspalt ist und je länger die Elektroden sind, desto höher ist die Kapazität des Systems. Tabelle 1 gibt einen Überblick der mittels „parallel microstrip lines“-Modell berechneten Elektrodenkapazität für die drei verwendeten Kanallängen bei unterschiedlichen Spaltbreiten. Deutlich zu erkennen ist, dass die Kapazität eines kontinuierlichen Sensors bei kleinen Werten für s bereits höher wäre als der maximal per Offsetkompensation kompensierbare Messbereich des Kapazitäts-Messchips AD7142 ($>20 \text{ pF}$). Da der berechnete Wert der Kapazität des ungefüllten Kanals entspricht und bei der Befüllung des Fluidkanals noch steigen würde, können diese Geometrievarianten bereits durch die analytische Abschätzung ausgeschlossen werden. In Tabelle 1 sind diese Geometrievarianten rot markiert.

Tabelle 1: Grundkapazität der kontinuierlichen Kapazitätssensoren nach „parallel microstrip lines“-Modell bei verschiedenen Elektrodenabständen s und für verschiedene Elektrodenlängen l . Werte, die den maximalen Bereich der Offsetkompensation des AD7142 überschreiten sind rot markiert.

Kapazität [pF]	s				
	0.1 mm	0.3 mm	0.5 mm	0.8 mm	1.2 mm
220 mm	20.3	14.8	12.2	9.6	6.8
250 mm	23.4	17.0	14.0	11.0	7.9
320 mm	29.5	21.5	17.7	13.9	9.9

3.1.2 FEM-Simulation der Elektrodenkapazität

Die in Abschnitt 3.1.1 vorgestellte analytische Betrachtung liefert einen Näherungswert für die Grundkapazität C_0 der kontinuierlichen Kapazitätssensoren. Allerdings vernachlässigt das „parallel microstrip lines“-Modell die mäanderförmige Biegung der Elektroden, die aus Gründen der Platzersparnis erfolgen soll, sowie den Einfluss der auf den Sensoren angebrachten Kanalstruktur und des Kanalmediums auf die Kapazität. Außerdem ermöglicht die analytische Lösung nicht die Auswertung des Kapazitätshubes, der beim Wechsel zwischen leerem und fluidgefülltem Kanal auftritt. Aus diesem Grund wurde in einem zweiten Schritt eine FEM-Simulation durchgeführt, mit der die Elektrodenkapazität des kontinuierlichen Sensors auf Basis der realen Systemgeometrie analysiert werden kann. Die FEM-Simulationen wurden mit dem Programm EMPro 2019 (Keysight Technologies Inc., Santa Rosa, CA, USA) durchgeführt. Dazu wurde ein Modell des ersten

Mäanderkanals mit 220 mm Länge erstellt, von dem wiederum sechs Variationen mit verschiedener Elektrodengeometrie abgeleitet wurden (Abbildung 19b). Die Modelle beinhalten die Komponenten Platine, Sensorelektroden, Massefläche, Fluidchip mit Kanal und Kanalfluid (Luft bzw. Wasser). Den einzelnen Komponenten wurden Materialien mit Eigenschaften entsprechend Tabelle 2 zugewiesen.

Tabelle 2: Materialparameter für FEM-Kapazitätssimulation.

	Material	Relative Permittivität	Leitfähigkeit [S/m]
Platine	FR-4	4.6	2.6e-03
Elektroden, Massefläche	Kupfer	1.0	5.8e+07
Kanalstruktur mit Deckfolie	PMMA	2.6	1.0e-03
Kanalfluid: Wasser	Wasser	78.4	5.5e-05
Kanalfluid: Luft	Luft	1.0	1.0e-12

Die Geometrie des Fluidkanals wurde als gegeben angenommen, wodurch die Breite der Elektrodenanordnung automatisch auf 1.5 mm begrenzt wird. Wieder verbleibt als freier Parameter die Separationsspaltbreite s . In einer ersten Simulationsreihe wurde die Grundkapazität C_0 bei leerem Kanal für verschiedene Werte von s simuliert ($s = [0.1 \text{ mm}; 0.2 \text{ mm}; 0.5 \text{ mm}; 0.8 \text{ mm}; 1.2 \text{ mm}; 1.4 \text{ mm}]$). Abbildung 19c zeigt die Ergebnisse der FEM-Kapazitätssimulation und stellt diese der analytischen Berechnung mittels „parallel microstrip lines“-Modell gegenüber. Der Graph enthält außerdem Messpunkte, die an realen Kanalstrukturen und Sensorelektroden mit 0.2 mm, 0.5 mm und 0.8 mm bestimmt wurden.

Analog zur analytischen Berechnung steigt die Kapazität auch in der Simulation bei sinkendem Elektrodenabstand an. Für sehr kleine Elektrodenabstände ($s < 0.2 \text{ mm}$) ist dieser Anstieg überproportional hoch, was sich auch an der gemessenen Sensorkapazität zeigt. Die analytisch berechnete Kapazität ist stets etwas höher als die per FEM-Simulation bestimmte Kapazität, stimmt aber in der Kurvenform mit der FEM-Simulation überein.

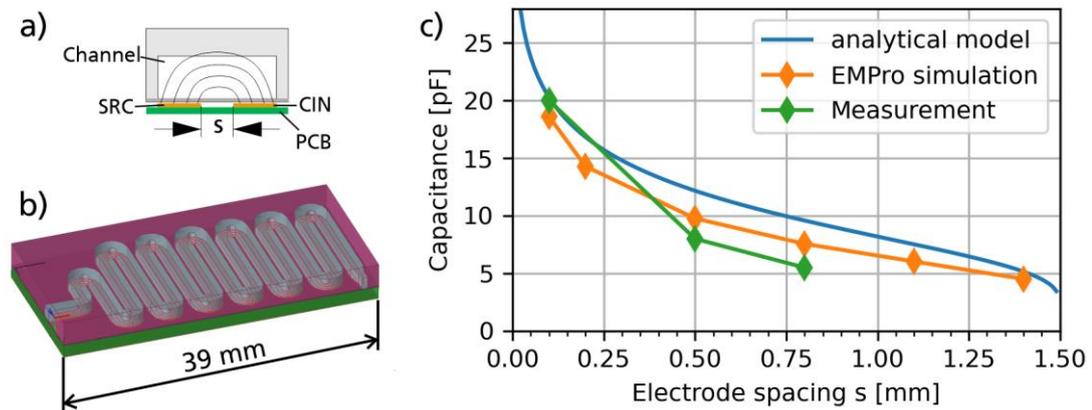


Abbildung 19 (a) Schematischer Querschnitt durch Fluidkanal, Sensorelektroden und Platine. Der Abstand s zwischen den Elektroden wird variiert, während die Gesamtbreite der Elektroden plus Elektrodenpalt auf 1.5 mm fixiert ist. (b) CAD-Simulationsmodell des mäandrierenden Kanals ($l = 220$ mm). Die Platine mit den Sensorelektroden ist grün, der Acryl-Fluidchip violett und der Fluidkanal grau dargestellt. (c) Gegenüberstellung der analytisch berechneten, per FEM simulierten und an realen Systemen gemessenen Kapazität des leeren 220-mm-Kanals bei Variation des Elektroden-Separationsspalts.

In einer zweiten Simulationsreihe wurde, wieder anhand des 220-mm-Kanal-Simulationsmodells, die Sensorkapazität für die verschiedenen Separationsspaltbreiten s bei wassergefülltem Fluidkanal berechnet. Das Ergebnis dieser Simulation ist die Maximalkapazität C_{Voll} des kontinuierlichen Sensors bei gefülltem Fluidkanal. Außerdem kann aus der Differenz der Kapazität C_{Voll} und der Grundkapazität C_0 der Signalhub berechnet werden. Die Ergebnisse sind in Abbildung 20 dargestellt. Es zeigt sich das folgende Verhalten: Bei Elektroden, deren Separationsspalt kleiner als ca. 0.4 mm ist, übersteigt die Kapazität C_{Voll} den Messbereich des AD7142. Gleichzeitig ist zu beobachten, dass der Signalhub ΔC gegenläufig zum Elektrodenabstand s verläuft. Je kleiner der Elektrodenabstand, desto höher ist der erzielte Signalhub.

Die Simulationsergebnisse in Abbildung 20a zeigen die Grund- und Endkapazität des ersten Mäanderkanals. Wie am Anfang von Kapitel 3 besprochen, werden für das spätere System zwei weitere Mäanderkanäle mit $l = 250$ mm und $l = 320$ mm benötigt, die durch kontinuierliche Kapazitätssensoren überwacht werden sollen. Da die Kapazität der Sensorelektroden in guter Näherung proportional zur Kanallänge ist, kann aus den vorangegangenen Simulationen die Kapazität der beiden weiteren Sensoren berechnet werden. Die Hochrechnung ist in Abbildung 21 dargestellt.

3 Kapazitive Sensorelektroden

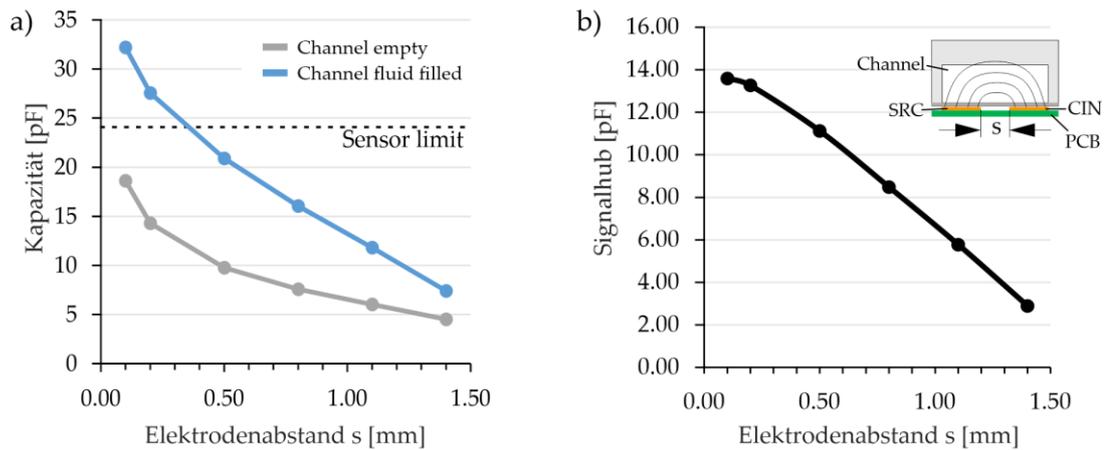


Abbildung 20: **(a)** Simulation der Elektrodenkapazität bei luftgefülltem (grau) bzw. wassergefülltem (blau) Fluidkanal ($l = 220$ mm). Zusätzlich ist die Grenze der Offset-Kapazität des AD7142 eingezeichnet, die nicht überschritten werden darf. **(b)** Signalhub des Sensors, also Differenz der Kapazität bei leerem und fluidgefülltem Kanal. Kleine Spaltbreiten s führen zu höherem Signalhub. Das Inlay zeigt einen schematischen Querschnitt der simulierten Elektroden- und Kanalgeometrie mit Anregungs- (SRC) und Messelektrode (CIN), zwischen denen sich das elektrische Feld ausbreitet. Quelle: Angelehnt an eigene Grafik, veröffentlicht in [146].

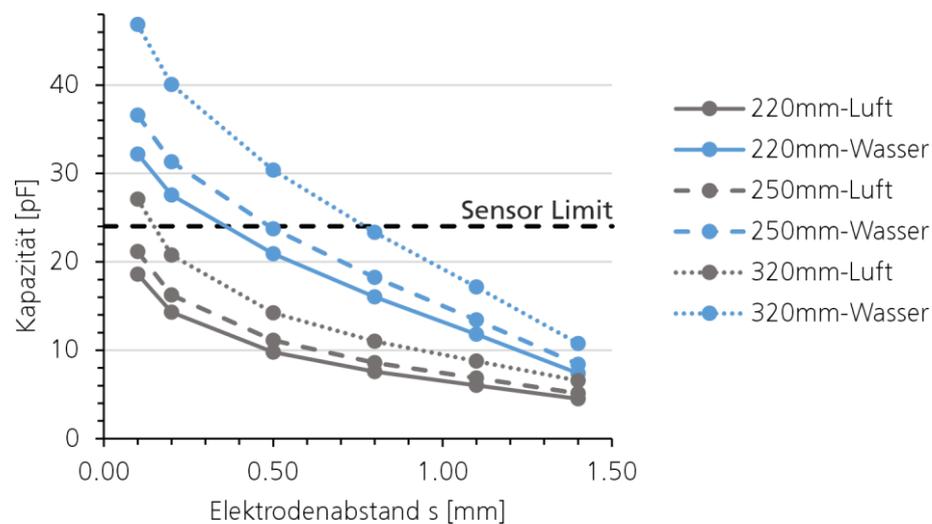


Abbildung 21: Kapazität der kontinuierlichen Sensoren mit 220 mm, 250 mm und 320 mm Länge bei leerem Kanal (C_0) und wassergefülltem Kanal (C_{voll}) und Variation des Elektrodenabstands s . Proportionale Hochrechnung ausgehend von den Simulationsergebnissen des 220-mm-Simulationsmodells.

In Abbildung 21 ist zu erkennen, dass die Kapazität der 320-mm-Elektrode den Messbereich des AD7142 überschreitet, wenn ein Separationsspalt kleiner als 0.8 mm gewählt wird. Die Fluidkanäle mit 250 mm und 220 mm Länge könnten zwar durch eine Elektrodenanordnung mit 0.5 mm bzw. 0.4 mm Spaltbreite überwacht werden, allerdings würde dies zu einem Sensitivitätsunterschied zwischen den verschiedenen kontinuierlichen Sensoren führen. Aus diesem Grund wird für alle kontinuierlichen Kapazitätssensoren in dieser Arbeit der Wert von s auf 0.8 mm festgelegt. Bei einer Kanalbreite von 1.5 mm ergibt sich demnach als Elektrodengeometrie:

$$s = 0.8 \text{ mm}$$

$$w = \frac{1.5 \text{ mm} - s}{2} = 0.35 \text{ mm}$$

3.2 DISKRETE POSITIONSENSOREN

Der zweite in dieser Arbeit eingesetzte kapazitive Sensortyp wird verwendet, um Phasengrenzen an definierten Punkten im Fluidkanal zu detektieren. Dieser Sensortyp wird im Folgenden als „diskreter Positionssensor“ bezeichnet. Es werden Positionssensoren betrachtet, die aus quer zur Flussrichtung des Fluidkanals stehenden, koplanaren Mess- und Anregungselektroden bestehen. Abbildung 22 zeigt exemplarisch einen solchen Sensor und den darüberliegenden transparenten Fluidkanal.

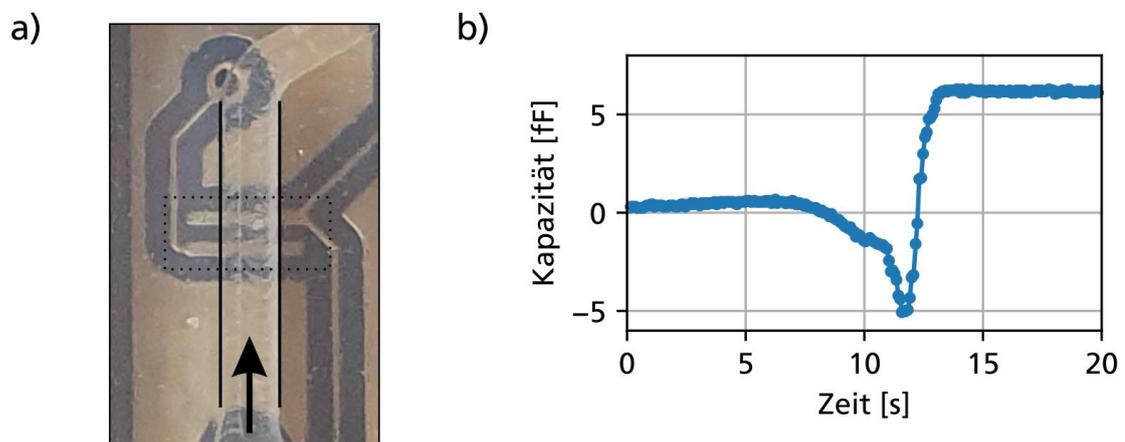


Abbildung 22: **(a)** Positionssensor bestehend aus Mess- und Anregungselektrode auf Platine und darüberliegender Fluidkanal mit markierter Flussrichtung. **(b)** Kapazitätsverlauf der links abgebildeten Sensorelektrode beim Übergang einer Luft/Wasser-Phasengrenze.

In dieser Arbeit werden als Positionssensoren Elektroden mit rechteckiger Grundfläche der Maße 0.2 x 1.5 mm² eingesetzt, die durch einen Separationsspalt der Breite 0.2 mm getrennt sind. Durch die kleine Elektrodenfläche ist der Signalhub beim Wechsel zwischen leerem und befülltem Kanal gering, er beträgt etwa 1-10 fF.

Durch das geringe Grundrauschen des AD7142, das nur etwa 0.05-0.1 fF beträgt, ist es trotz des geringen Signalhubs möglich, den Übergang der Phasengrenze über den Positionssensor genau zu detektieren.

In der Dissertation von Hoffmann (2018) wurde ein sehr ähnlicher Aufbau aus rechtwinklig zum Kanal stehenden Mess- und Anregungselektroden als kapazitiver Positionssensor zur Detektion von Phasengrenzen ausführlich charakterisiert [135]. Hoffmann konnte insbesondere die Ursache des Über- und Unterschwingens des Kapazitätssignals erklären, das beim Übergang der Phasengrenze über den Sensor entsteht und auch in Abbildung 22 zu sehen ist.

Die Ursache für die auftretenden Minima und Maxima ist die Brechung des elektrischen Feldes, die an einer Phasengrenze mit zwei Medien mit unterschiedlichen Permittivitäten auftritt. Durch die Brechung kann es dazu kommen, dass das elektrische Feld von der Messelektrode weggebrochen und in die Abschirmung eingeleitet wird, oder dass durch Reflektionen an der Phasengrenze zusätzliche Feldlinien die Messelektrode erreichen [135]. Ein exemplarischer Signalverlauf zur Illustration dieses Sachverhalts ist in Abbildung 23 dargestellt.

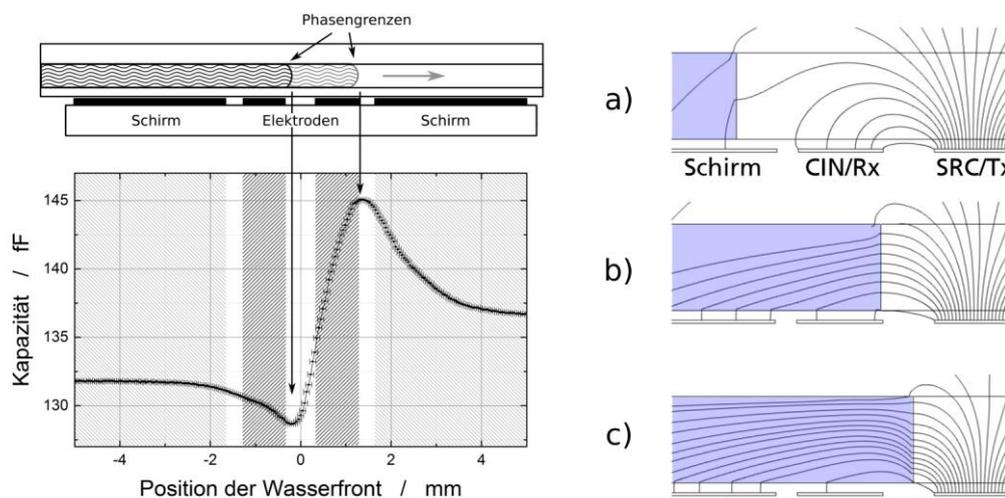


Abbildung 23: Simulation des Signalverlaufs von koplanaren, senkrecht zur Flussrichtung liegenden Elektroden. **Links:** Kapazitätsverlauf. **Rechts:** (a) Verteilung des elektrischen Feldes vor dem Auftreffen der Phasengrenze auf den Sensorbereich. (b) Befindet sich die Phasengrenze zwischen Mess- und Anregungselektrode treffen die Feldlinien senkrecht auf die Phasengrenze auf und verlaufen im Fluid aufgrund der höheren Permittivität flacher. Dadurch treffen weniger Feldlinien auf die Messelektrode auf, es entsteht ein Signalminimum. (c) Die Phasengrenze befindet sich mittig zwischen Mess- und Anregungselektrode, die Feldlinien werden weiter hin zur Abschirmung gebrochen. Trotzdem steigt die gemessene Kapazität aufgrund der Zunahme der Felddichte an. Nicht abgebildet: Wenn die Phasengrenze sich rechts der Anregungselektrode befindet, werden die Feldlinien reflektiert und es entsteht ein Kapazitätsmaximum. Abbildungen entnommen aus [135].

Ist der komplette Fluidkanal im Bereich des Positionssensors mit Luft oder mit Flüssigkeit gefüllt, befindet sich das System in einem stabilen Zustand mit konstanter

Kapazität (Abbildung 23a). Wenn sich der Meniskus allerdings genau zwischen Mess- und Anregungselektrode befindet, können die Feldlinien von der Messelektrode weg und zur Abschirmung hin gebrochen werden, wodurch ein Kapazitätsminimum entsteht (Abbildung 23b). Liegt die Phasengrenze dagegen von der Messelektrode aus gesehen hinter der Anregungselektrode, können manche Feldlinien so reflektiert werden, dass sie zurück auf die Messelektrode gebogen werden. Bei einem bestimmten Abstand der Phasengrenze zur Elektrodenkante ergibt sich dadurch ein Kapazitätsmaximum.

4 SYSTEMVARIANTE A

In Kapitel 4 wird der erste Systemaufbau vorgestellt, der im Rahmen dieser Arbeit zur Umsetzung des in Kapitel 2.1.4 beschriebenen Markierungsprozesses entwickelt wurde. Bei Systemvariante A erfolgt die Mischung der einzelnen Reagenzien in drei aufeinanderfolgenden, mäanderförmigen Kanälen. Der Dosierprozess wird durch diskrete Positionssensoren am Anfang und am Ende jedes Kanalabschnitts sowie über kontinuierliche Sensoren entlang der Mäanderkanäle sensorisch überwacht.

Kapitel 4 gibt zunächst ein Überblick über das Gesamtsystem und den Ablauf des fluidischen Prozesses, anschließend wird detaillierter auf die Steuerungsalgorithmen und die konkrete Systemumsetzung eingegangen. Am Ende des Kapitels wird das System experimentell charakterisiert, wobei die Dosiergenauigkeit betrachtet und eine Radiomarkierung mit echten Reagenzien durchgeführt wird, gefolgt von einer Bewertung der erzielten Ergebnisse. Eine Beschreibung des Systemaufbaus und des Messprinzips sowie Ergebnisse zur Dosiergenauigkeit wurden in [146] veröffentlicht.

4.1 SYSTEMAUFBAU

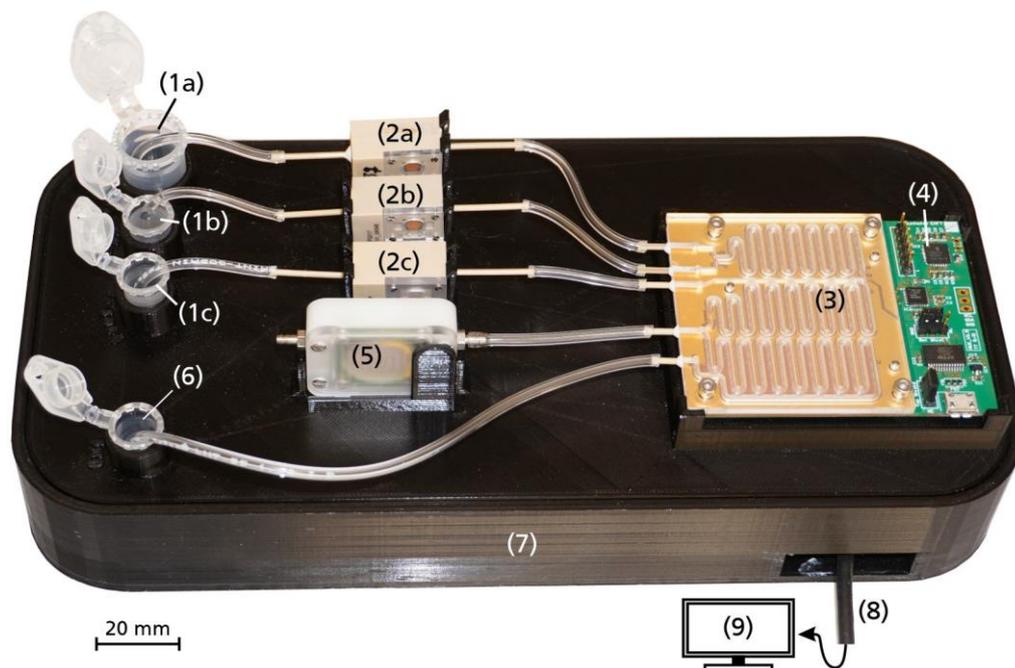


Abbildung 24: Aufbau der Systemvariante A. (1a-c) Einlassreservoirs, (2a-c) Mikropumpen für Reagenziodosierung, (3) Mikrokanalstruktur, (4) Kapazitive Sensorplatte, (5) Luftpumpe, (6) Auslassreservoir, (7) Gehäuse mit Halterungen und Pumpen-Treiberelektronik, (8) USB-Kabel, (9) Steuercomputer

Abbildung 24 zeigt das entwickelte Dosiersystem. Auf der linken Seite sind die Reservoirs für Pufferlösung (1a), Zirkonium (1b) und Antikörper (1c), die für die Radiomarkierung benötigt werden. Jedes Reservoir ist über einen Schlauch mit einer

Mikropumpe (2a-c) verbunden, die wiederum an die Kanalstruktur (3) angeschlossen ist. Eine weitere Mikropumpe (4) wird verwendet, um Luft aus der Kanalstruktur in das Auslassgefäß (6) auszustoßen. Die Mikropumpen werden über eine integrierte Treiberelektronik angesteuert, die sich im Inneren des Gehäuses (7) befindet. Ein USB-Kabel (8) als Daten- und Stromverbindung verbindet das System mit dem Steuercomputer (9).

Eine gefräste Kanalstruktur (3) bildet zusammen mit der darauf angepassten Platine für die kapazitive Sensorik (4) das Kernstück des Dosiersystems, in dem der eigentliche Radiomarkierungsprozess stattfindet. Es ist in Abbildung 25 vergrößert dargestellt. Die Kanalstruktur enthält drei mäanderförmige Kanäle (Abbildung 25, M1-M3), in denen die drei Mischschritte des Radiomarkierungsprozesses ablaufen. Jeder Mäanderkanal besitzt zwei Eingänge und einen Auslass. Die Platine mit kapazitiven Sensorelektroden und der dazugehörigen Auswerteschaltung ist über eine Verschraubung an die Unterseite der Kanalstruktur angebracht, wodurch freie Sicht auf die Fluidkanäle ermöglicht wird. Passstifte zwischen Platine und Kanalstruktur sorgen für die korrekte Platzierung der Elektroden unter der Kanalstruktur.

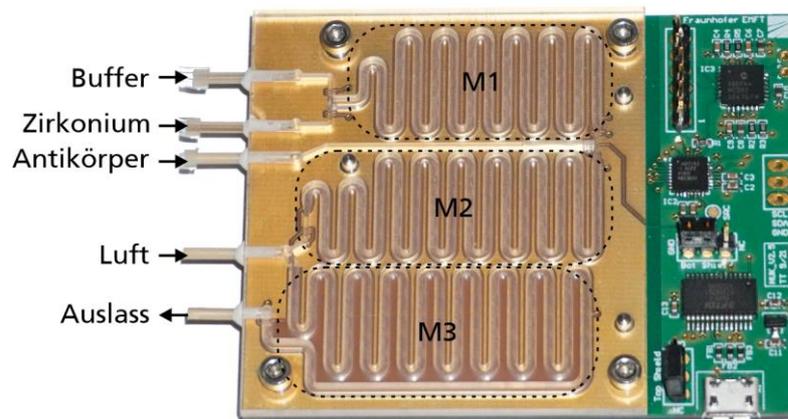


Abbildung 25: Kanalstruktur und kapazitive Sensorelektronik der Systemvariante A. Die Kanalstruktur enthält drei Mäander (M1, M2, M3) und Ein- und Auslässe für Reagenzien, Luft und das erzeugte Produkt. Die Sensorelektronik enthält u.a. den Sensorchip AD7142 und die Sensorelektroden, die sich auf dem vom Lötstopplack freigestellten linken Platinenteil unterhalb der Kanalstruktur befinden.

Die Sensorplatine ist in zwei Bereiche unterteilt. Im linken Platinenbereich befinden sich die Sensorelektroden, auf diesen Bereich wird die Kanalstruktur montiert. Im rechten Platinenbereich die elektrischen Komponenten der Auswerteschaltung.

Die Sensorplatine enthält neun kapazitive Sensoren zur Überwachung des Fluidprozesses, deren Anordnung und Art (kontinuierlich oder Position) in Abbildung 26 gezeigt ist. Jeder Mäanderkanal wird über einen kontinuierlichen Sensor überwacht (M1, M2 und M3) und besitzt zusätzlich einen kapazitiven

Positionssensor am Kanalende (M1-Full, M2-Full, M3-Full), um zu detektieren wann der jeweilige Mäanderkanal komplett befüllt ist. Außerdem befinden sich drei weitere Positionssensoren am Ende der Zuleitungskanäle für Zirkonium, Puffer und Antikörperlösung (R1, R2, R3).

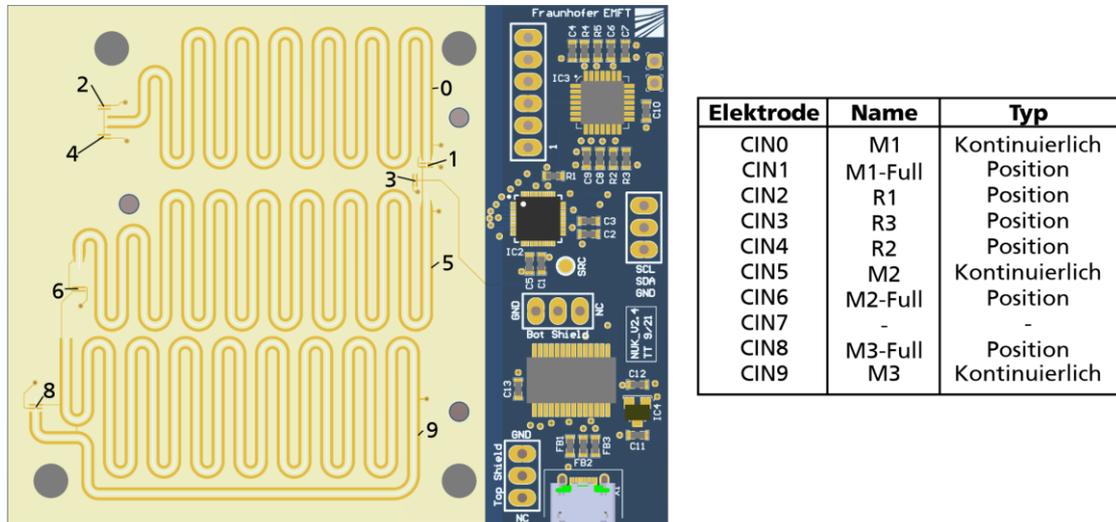


Abbildung 26: Anordnung und Funktion der Sensorelektroden für Systemvariante A. Zur Prozesssteuerung werden insgesamt neun Sensoren verwendet: drei kontinuierliche Kapazitätssensoren zur Überwachung der drei Mäanderkanäle (CIN0/M1, CIN5/M2 und CIN9/M3), drei diskrete Positionssensoren an den Zuleitungskanälen der Reagenzien (CIN2/R1, CIN3/R3, CIN4/R2) und je ein Positionssensor am Ende jedes Mäanderkanals (CIN1/M1-Full, CIN6/M2-Full, CIN8/M3-Full), um zu detektieren wann dieser komplett gefüllt ist.

Auf der rechten Seite der Sensorplatte befindet sich die Auswerteschaltung. Im Zentrum der Schaltung befindet sich der Kapazitätssensor AD7142, der kontinuierlich die Kapazität der Sensorelektroden misst. Die Messwerte werden über einen Mikrocontroller (dsPIC33EP64MC202, Microchip Technology Inc., Chandler, AZ, USA) mit einer Frequenz von 25 Hz ausgelesen und auf Anfrage über eine USB-Schnittstelle an den Steuercomputer weitergegeben. Abbildung 27 illustriert den Informationsfluss zwischen Messelektroden und Steuercomputer und die beteiligten Kommunikationsprotokolle.

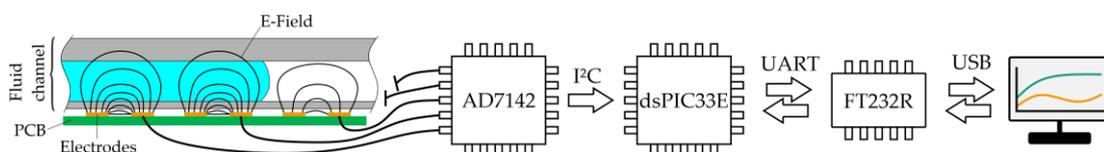


Abbildung 27: Informationsfluss und verwendete Kommunikationsprotokolle zwischen kapazitiven Sensoren auf dem Fluidkanal und Messprogramm auf dem Steuercomputer. Quelle: Grafik entnommen aus eigener Veröffentlichung [146].

Die Sensorplatte enthält vier Kupferlagen mit je 35 μm Kupferdicke, die in symmetrischen Paaren um einen 1.6 mm dicken Platinenkern aus dem Material FR4 angeordnet sind. Die Sensorelektroden sind auf der obersten Kupferlage ausgeführt,

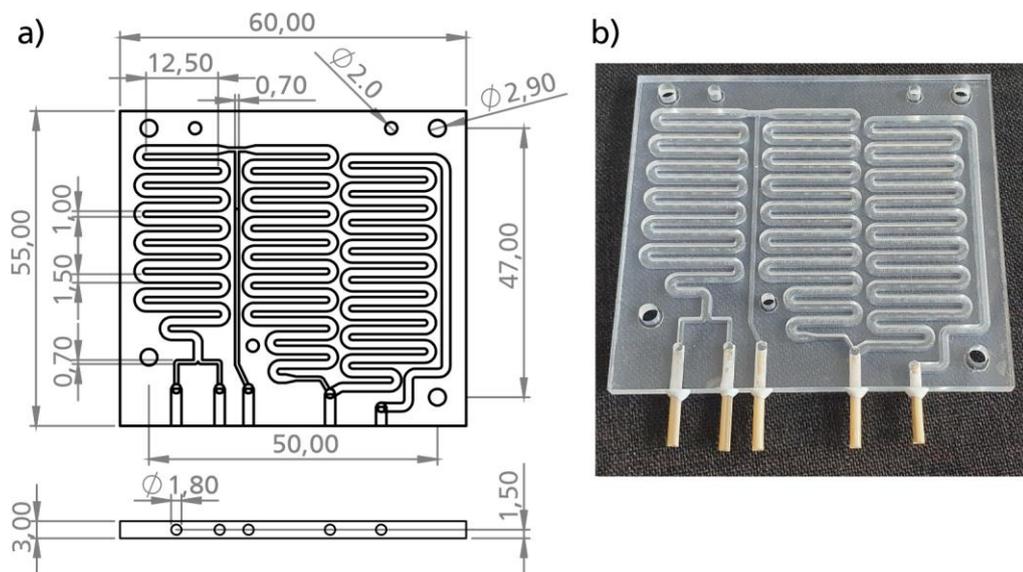


Abbildung 29: **(a)** Fertigungszeichnung des Fluidchips für Systemvariante A mit wichtigsten Maßen. **(b)** Gefräste Kanalstruktur mit eingeklebten Kapillar-Fluidanschlüssen und Deckfolie.

Zur Herstellung des Fluidchips wird eine CNC⁵-Portalfräse (Diadrive 2000, MUTRONIC GmbH, Rieden am Foggensee) eingesetzt. Dazu wird zunächst mit Hilfe des CAD-Programmes Solidworks 2020 (Dassault Systèmes, Vélizy-Villacoublay, Frankreich) ein 3D-Modell des Fluidchips konstruiert. Ausgehend von diesem Modell werden über das Softwaremodul Solidworks-CAM die Fräsbahnen für Fluidkanäle, Bohrungen und Chipkontur erzeugt und als G-Code exportiert. Da Solidworks 2020 standardmäßig über keinen Postprozessor für Diadrive-Fräsmaschinen verfügt, wird stattdessen der weitestgehend kompatible und vorinstallierte Phillips-432-Postprozessor eingesetzt. Bei der Verwendung des Postprozessors zur Erzeugung von G-Code für die Diadrive 2000 Fräsmaschine ist allerdings darauf zu achten, dass keine Radiuskorrektur-Optionen aktiviert sind (G-Codes G41 und G42), da diese von der Diadrive 2000 nicht ausgeführt werden können und zu einer Fehlermeldung führen. Außerdem muss die Vorschubgeschwindigkeit (G-Code F) vom Einheitensystem mm/s in mm/min umgerechnet werden. Der so angepasste G-Code kann über das Steuerprogramm EdiTasc (MUTRONIC GmbH) auf der Diadrive-Fräsmaschine ausgeführt werden.

Als Fräswerkzeuge kommen einschneidige Schaftfräser mit einem Durchmesser von $\varnothing 1.0$ mm und $\varnothing 0.6$ mm zum Einsatz. Der Vorschub beträgt 400 mm/min bzw. 150 mm/min bei einer Spindeldrehzahl von jeweils 10000 U/min. Die Zustelltiefen betragen 0.3 mm (1 mm Fräser) und 0.15 mm (0.6 mm Fräser). Die Fräszeit für einen Fluidchip beträgt 27 Minuten, dazu kommen weitere Arbeitsschritte zur

⁵ Computerized Numerical Control; Computergesteuerte Fräsmaschine

Materialvorbereitung, für den Werkzeugwechsel und für das Bohren der Kapillaranschlüsse.

Die Bohrungen für die Kapillaren befinden sich auf der Seitenfläche des Fluidchips. Sie können daher nicht auf der Fräsmaschine gefertigt werden, da diese nur eine 2.5-dimensionale Bauteilbearbeitung ermöglicht. Die Bohrungen werden deshalb nach dem Fräsen der Mikrokanäle manuell an einer Standbohrmaschine gefertigt. Zum Anfertigen der Bohrungen wird ein 1.8 mm HSS-Spiralbohrer verwendet, dadurch ergibt sich bei einem Kapillardurchmesser von 1.6 mm ein umlaufender Klebspalt von 0.1 mm. Während des Bohrens muss auf ausreichende Kühlung geachtet werden, um ein Schmelzen des Acrylglasses zu verhindern. In die Bohrungen werden anschließend PEEK-Kapillaren eingeklebt. Als Klebstoff wird biokompatibler Zweikomponenten-Epoxydharzkleber (Loctite EA 9429, Henkel AG, Düsseldorf, Deutschland) verwendet. Der Kleber wird mit einem kleinen Spachtel ringförmig auf der Außenseite der Spitze der Kapillare aufgebracht und die Kapillare anschließend unter leichtem Drehen in das Bohrloch eingeführt. Nach etwa zwei Stunden ist der Kleber ausgehärtet und die Kapillaren werden auf eine Länge von 10 mm zugeschnitten.

Zur Deckelung der offen gefrästen Kanalstruktur wird eine hydrophobe Klebefolie mit einer Dicke von 50 μm verwendet (9964 Transparent Microfluidic Diagnostic Tape, 3M, Saint Paul, MI, USA, Datenblatt: [147]). Die Klebefolie verfügt über einen druckempfindlichen Acrylkleber, der bei leichtem Druck auf der Acryloberfläche haftet und anschließend über ein Rakelwerkzeug dicht und blasenfrei mit der gefrästen Kanalstruktur verbunden werden kann. In Versuchen zeigte sich, dass sich hydrophobe Folie besser zum Verschließen der Mikrokanäle eignet, da hydrophile Deckfolie durch den Kapillareffekt ansaugend wirkt und auch bei abgeschalteter Pumpe Fluid durch das Kanalsystem transportiert. Die ungewollte Fluidausbreitung kann durch eine Deckelung der Fluidkanäle mit hydrophober Folie effektiv verhindert werden.

4.2 TREIBERELEKTRONIK FÜR MIKROPUMPEN

Zum Erzeugen des Spannungssignals für die Mikropumpen wurde eine Treiberelektronik entwickelt, die auf der in [139] gezeigten Boosterschaltung basiert. Die Boosterschaltung wurde um eine Multiplexerstufe erweitert, mit der das Signal der Boosterstufe auf vier Ausgänge verteilt werden kann. Zudem wurde die Treibersoftware des Boosters weiterentwickelt, sodass neben rechteckförmigen Signalverläufen auch sinusförmige Signale und Mischformen erzeugt werden

können. Signalform, Frequenz und Amplitude können über eine serielle Kommunikationsschnittstelle eingestellt werden.

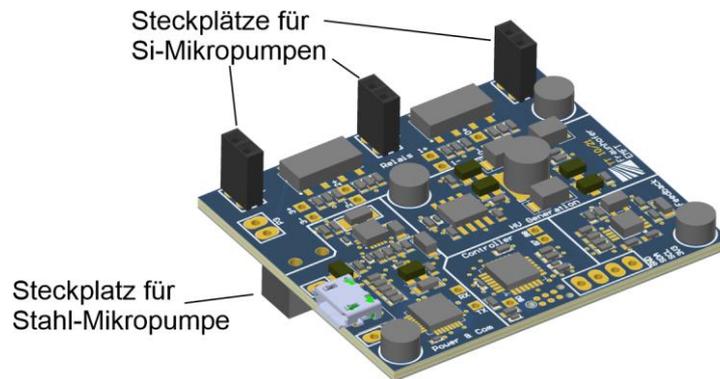


Abbildung 30: Mikropumpen-Treiberelektronik mit vier Ausgängen

Die Spannungsversorgung der Treiberschaltung erfolgt über einen USB-Anschluss, der auch als Kommunikationsschnittstelle dient. Die USB-Eingangsspannung von 5 V wird über einen Low-Dropout Spannungsregler (MCP1700-3302, Microchip Technology Inc., Chandler, AZ, USA) in 3.3 V umgewandelt. Der Spannungspegel dient als Betriebsspannung für die digitalen Komponenten der Schaltung wie Mikrocontroller und USB-UART-Konverter. Ein Aufwärts-Spannungswandler (TPS61080, Texas Instruments) wird verwendet, um die USB-Eingangsspannung auf 10 V zu erhöhen. Dieser 10-V-Spannungspegel dient als Eingang für die analogen Schaltungskomponenten, insbesondere für den MOSFET-Treiber und die Boosterschaltung, die zur Erzeugung des Pumpensignals verwendet werden.

Das logische Zentrum der Treiberelektronik ist ein **Mikrocontroller** des Typs dsPIC33EP64MC202 (Microchip Technology Inc., Chandler, AZ, USA) mit einer Taktfrequenz von 60 MHz. Der Mikrocontroller generiert die pulswertenmodulierten Signale zur Steuerung der Boosterschaltung und ist außerdem für die Kommunikation mit dem Steuercomputer zuständig. Um Daten des Steuercomputers zu empfangen, ist der Mikrocontroller über eine UART-Schnittstelle an einen FT232R-Chip (FTDI Ltd, Glasgow, UK) angeschlossen, der als Vermittler zwischen USB- und UART-Protokoll dient. Der Chip stellt nach Installation eines Treibers am Steuercomputer eine serielle Schnittstelle zur Verfügung, über die Steuerbefehle im String-Format zwischen Computer und Mikrocontroller ausgetauscht werden können.

Die Mikropumpen benötigen ein alternierendes Spannungssignal mit einer Amplitude von bis zu +300 V / -80 V. Dieses Signal wird von einem kombinierten **Buck-Boost-Konverter** erzeugt, der in [139] beschrieben wurde. Der relevante Teil der Schaltung ist in Abbildung 31 dargestellt. Im Zentrum der Schaltung sitzen eine Spule (L2), die auf einer Seite über einen P-Mosfet (T3) mit der

10-V-Spannungsquelle und auf der anderen Seite über einen N-Mosfet (T5) mit dem Massepotential verbunden ist, zwei Bipolartransistoren (T2, T4) und zwei Dioden (D3, D5). Mosfets und Bipolartransistoren dienen als Schalter, um den Stromfluss über die Spule zu steuern.

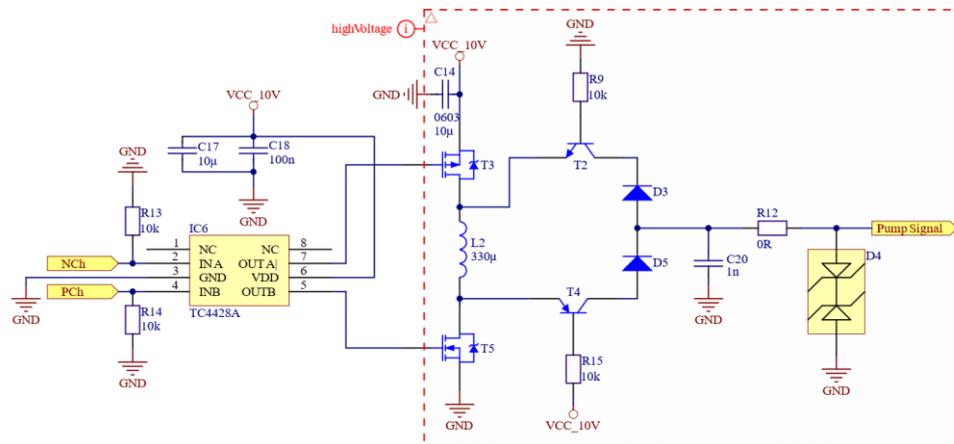


Abbildung 31: Buck-Boost-Konverter zum Erzeugen des Spannungssignals für Stahl- und Siliziummikropumpen.

Sowohl positive als auch negative Hochspannung wird in zwei Schritten erzeugt. Zuerst muss die Spule aufgeladen werden. Dazu werden beide MOSFETs leitend geschaltet, wodurch eine fast direkte Verbindung zwischen 10 V Spannungsquelle und Masse über die Spule entsteht. Sobald das Laden der Spule abgeschlossen ist, wird die Verbindung unterbrochen, indem wahlweise T3 oder T5 gesperrt werden. Dadurch bricht das elektrische Feld der Spule zusammen und die induktiv gespeicherte Energie wird an den Ausgang der Treiberstufe übertragen. Je nachdem, ob N- oder P-MOSFET geschaltet wird, kann positive oder negative Spannungen erzeugt werden. Ein RC-Glied am Ausgang der Treiberstufe (R12, C20) kann zur Glättung des Ausgangssignals verwendet werden. Die Schaltfrequenz der Boosterschaltung wird vom Mikrocontroller gesteuert und beträgt 50 kHz. Ein Mosfet-Treiberchip (TC4428A, Microchip Technology Inc.) dient dabei als Pegelwandler zwischen dem 3.3-V-Pegel des Mikrocontrollers und des 10-V-Pegels der Mosfets.

Die Boosterschaltung kann in der in Abbildung 31 gezeigten Konfiguration Spannungen bis zu +400 V im positiven und -100 V im negativen Bereich erreichen. Da Spannungen dieser Amplitude die auf den Pumpen verwendete Piezokeramik zerstören können, muss die Ausgangsspannung stets überwacht werden. Dazu wird die Ausgangsspannung der Treiberstufe kontinuierlich über eine Operationsverstärkerschaltung an einen **Analog-Digital-Konverter** des Mikrocontrollers zurückgeführt und mit dem Soll-Spannungswert verglichen. Dieses

Spannungsfeedback ermöglicht neben einer absoluten Spannungsbegrenzung auch eine Signalformung, sodass rechteck- und sinusförmige Signale sowie Mischformen erzeugt werden können.

Das Spannungssignal der Boosterstufe wird über einen **Hochspannungs-Multiplexer** an die vier Mikropumpen verteilt. Dazu werden zwei Zweikanal-Festkörperrelais vom Typ AQW210S (Panasonic Corp., Kadoma, JP) verwendet, ihre Verschaltung ist in Abbildung 32 dargestellt. Die Relais besitzen eine Spannungsfestigkeit von 350 V bei bis zu 100 mA Laststrom. Drei Ausgänge der Relais sind an 2.54 mm Buchsenleisten angeschlossen (Abbildung 32, P0-P2), auf die direkt eine Siliziumpumpe aufgesteckt werden kann. Für die Stahlpumpe, die statt einer Stiftleiste einen 2.1 x 5 mm Hohlstecker zur elektrischen Verbindung verwendet, ist eine eigene Buchse vorgesehen (P3a).

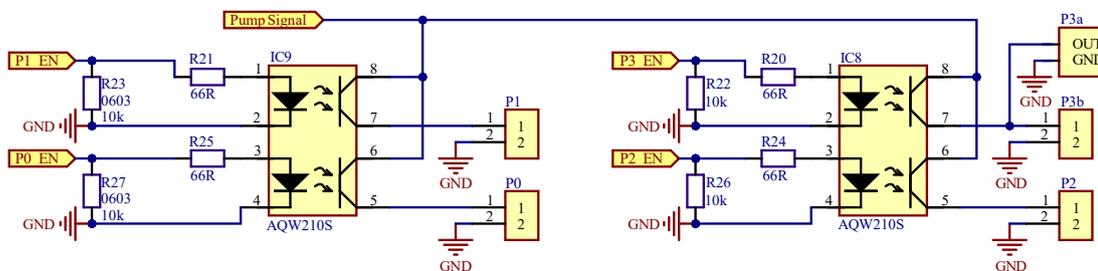


Abbildung 32: Multiplexer-Schaltung zum Aufteilen des Pumpensignals auf die vier Ausgänge.

4.3 ABLAUF DES MARKIERUNGSPROZESSES

Abbildung 33 zeigt anhand einer schematischen Systemdarstellung den Ablauf der fluidischen Schritte, die auf dem Fluidchip zur Umsetzung der Radiomarkierung ausgeführt werden. Der Dosierprozess startet mit dem Befüllen der Einlassreservoirs mit den Reagenzien Puffer (blau), Zirkonium (gelb) und Antikörper (rot) (Abbildung 33a). Im ersten Prozessschritt werden die Zuleitungskanäle befüllt, bis die Reagenzien diese komplett ausfüllen (b). Kapazitive Positionssensoren am Ende der Zuleitungskanäle detektieren, wann diese vollständig gefüllt sind. Sobald das Befüllen der Zuleitungen abgeschlossen ist, beginnt der erste der drei Mischschritte. Dabei werden 145 μl Zirkonium und 350 μl Puffer in den ersten Mäanderkanal dosiert und darin vermischt (c). Die Reagenzien werden nicht gleichzeitig in den Kanal dosiert, sondern es werden immer abwechselnd kleine Volumepakete der Reagenzien in den Kanal abgegeben. Die Größe der Fluidpakete wird durch einen kontinuierlichen Kapazitätssensor gemessen, der dem Mäanderverlauf folgt. Der erste Mischschritt endet, sobald die Flüssigkeitssäule den kapazitiven Sensor am Ende des ersten Mäanders erreicht, womit der Mäander komplett gefüllt ist.

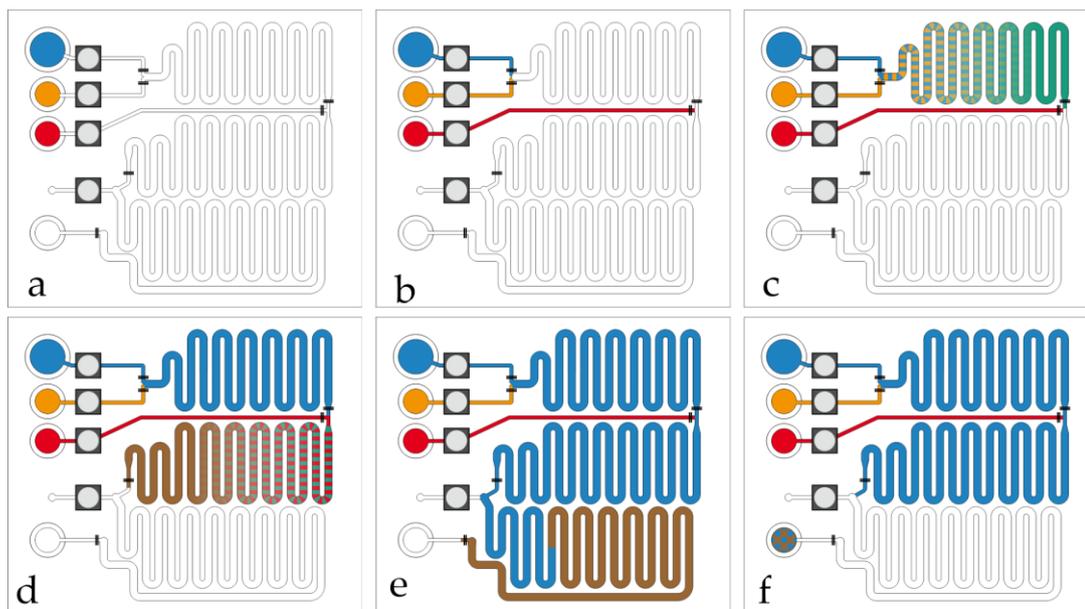


Abbildung 33: Schematischer Ablauf des Dosierprozesses in der Kanalstruktur. Zur Vereinfachung sind die Mikropumpen und Reservoirs als Teil des Kanalsystems gezeichnet. Elektroden sind als schwarze Querbalken dargestellt, die großen Mäanderelektroden, die die Kapazität der drei Mäanderkanäle überwachen sind nicht dargestellt. **(a)** Befüllen der Reservoirs. **(b)** Befüllen der Zuleitungskanäle. **(c)** Befüllen des ersten Mäanders, Mischen der Pufferlösung und Radioisotop. Die abwechselnd dosierten Volumenpakete vermischen sich im Verlauf des Mäanderkanals. **(d)** Befüllen des zweiten Mäanders, Mischen des Zwischenproduktes aus dem ersten Mäander mit Protein, es entsteht das zweite Zwischenprodukt. **(e)** Befüllen des dritten Kanals, Zugabe von weiterer Pufferlösung zum zweiten Zwischenprodukt. **(f)** Ausstoßen des Inhalts des dritten Mäanders durch Luftpumpe. **Farbcodierung der Fluide:** Blau: Puffer, Gelb: Zirkoniumlösung, Rot: Antikörperlösung, Grün: Zwischenprodukt #1, Braun: Zwischenprodukt #2.

Sobald der erste Mäanderkanal gefüllt ist, beginnt der zweite Mischschritt, bei dem das Zwischenprodukt aus dem ersten Mäander mit 75 μl Antikörperlösung vermischt wird. Dazu wird der Inhalt des ersten Mäanders in den zweiten Mäanderkanal weitertransportiert, indem weiterer Puffer in den ersten Mäander gepumpt wird. Der Dosiervorgang des Puffers zum Vortrieb des Zwischenproduktes erfolgt wieder im stetigen Wechsel mit der Dosierung der Antikörper, sodass auch im zweiten Mäander eine möglichst homogene Mischung entsteht. Auch dieser Prozess endet, sobald die Elektrode am Ende des zweiten Mäanderkanals Fluid detektiert.

Nachdem der zweite Mäander komplett gefüllt ist, muss im dritten Dosierschritt ein weiteres Mal Pufferlösung zur Mischung hinzugefügt werden. Dazu wird der Inhalt des zweiten Mäanders wieder mit Puffer in den dritten Mäander weitertransportiert, der um 150 μl größer ist als der zweite Mäander. Diese Volumendifferenz wird mit Puffer aufgefüllt, womit der dritte Mischschritt abgeschlossen ist (e). Im finalen Schritt wird der Inhalt des dritten Mäanders mit einer Luft fördernden Mikropumpe in ein Ausgangsreservoir ausgestoßen (f).

Während der Befüllung der Mäanderkanäle kommt es zu einem spezifischen Signalverlauf der kapazitiven Sensorelektroden, der zur Prozesssteuerung verwendet wird. Abbildung 34 zeigt idealisiert einen solchen Signalverlauf am Beispiel des ersten Mäanders.

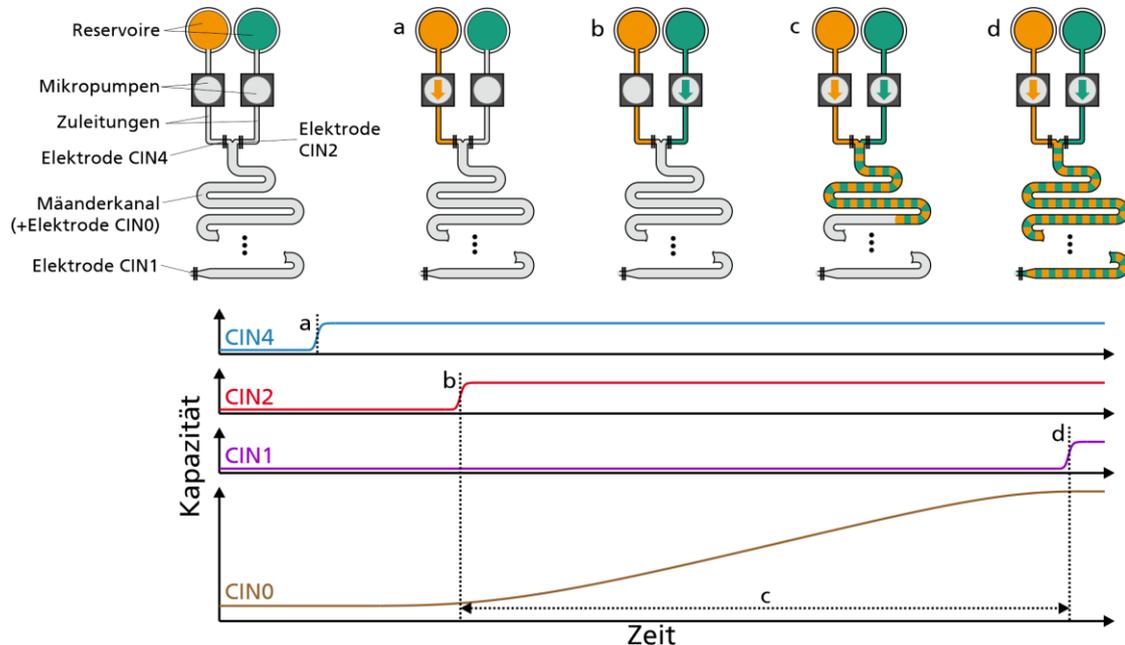


Abbildung 34: Elektrodenanordnung und Prozesssteuerung über die Elektrodenkapazität am Beispiel des ersten Mäanders. Die Sensorelektrode CIN0 ist in der Übersicht nicht dargestellt. **(a)** und **(b)**: Befüllen der Zuleitungskanäle, die Elektroden CIN4 und CIN2 zeigen einen Kapazitätssprung, sobald die Flüssigkeitssäule sie erreicht. **(c)** Befüllen des Mäanderkanals durch wechselweises Fördern beider Reagenzien, die Kapazität der Mäanderelektrode CIN3 steigt an. **(d)** Ein Kapazitätssprung an CIN1 zeigt, dass der Mäanderkanal komplett gefüllt ist. Grafik entnommen aus eigener Veröffentlichung [146].

An der kapazitiven Überwachung des ersten Mäanders sind vier Elektroden beteiligt. Elektroden CIN2 und CIN4 befinden sich als Positionssensoren am Ende der Zuleitungskanäle für Zirkonium- und Pufferlösung. Elektrode CIN0 ist ein kontinuierlicher Kapazitätssensor, der unter dem Mäanderkanal verläuft, und Elektrode CIN1 ist der Positionssensor am Ende des Mäanderkanals.

Zu Beginn des Dosierprozesses werden, wie oben beschrieben, die Zuleitungskanäle mit den Reagenzien befüllt. Das Ende dieses Dosierschritts wird durch einen Kapazitätssprung an den Positionssensoren CIN2 bzw. CIN4 detektiert. Sobald die gemessene Kapazität eine sprunghafte Änderung von mindestens 3 fF (entspricht 50 digitalen Zählschritten bei einer Sensorauflösung von 61 aF/bit) zeigt, wird die zugehörige Pumpe ausgeschaltet (Abbildung 34a und b). Anschließend beginnt das Befüllen des Mäanders, bei dem abwechselnd kleine Volumenpakete durch die beiden Pumpen in den Mäanderkanal dosiert werden. Dabei steigt die Kapazität des kontinuierlichen Sensors CIN0 stetig an (Abbildung 34c). Die Kapazitätsänderung wird durch das Steuerprogramm analysiert und verwendet, um daraus wie in

Abschnitt 4.4 beschreiben die Pumpenansteuerung zu berechnen. Der Prozess dauert an, bis ein Kapazitätssprung an der Positionselektrode CIN1 erkannt wird, welcher die vollständige Befüllung des Kanals anzeigt. Der Befüllprozess wird analog für den nächsten Mischschritt mit Mäander 2 wiederholt, wobei andere Elektroden (CIN1, CIN3, CIN5 und CIN6) verwendet werden.

4.4 STEUERSOFTWARE

Die Steuerung des Fluidprozesses erfolgt über ein Python-Programm auf einem Steuercomputer. Das Programm fragt kontinuierlich die Kapazitätsmessdaten der Sensorelektronik ab, analysiert diese und berechnet daraus die Ansteuerbefehle für die Pumpentreiber-Elektronik. Abbildung 35 zeigt ein vereinfachtes Klassendiagramm der Steuersoftware. Die Pumpentreiber-Elektronik ist über die Klasse *nuk_pumps* repräsentiert, die eine Kommunikationsschnittstelle und Methoden zum Einstellen und Ansteuern der Treiber-Elektronik implementiert. Die Kapazitätssensor-Elektronik wird durch die Klasse *nuk_capSense* dargestellt. Beim Anlegen eines Objektes dieser Klasse wird ein Thread gestartet, der im Hintergrund kontinuierlich die Messdaten der Sensorelektronik abfragt, diese in eine Logdatei abspeichert und gleichzeitig für andere Programmteile zur Verfügung stellt. Die Klasse *nuk_system* fasst die zwei untergeordneten Klassen *nuk_pumps* und *nuk_capSense* zu einem virtuellen System zusammen und bietet unter anderem kombinierte Auswerte- und Steuerfunktionen, um zum Beispiel eine bestimmte Pumpe zu aktivieren, bis eine Sensorelektrode einen gewählten Kapazitätswert erreicht hat. Diese Steuerfunktionen werden beim Funktionsaufruf ebenso in einem eigenen Thread gestartet, um zu verhindern, dass der Prozessablauf bis zum (nicht vorhersagbaren) Ende des Funktionsablaufes blockiert wird. Die Klasse *nuk_process* stellt die Funktionen zur Steuerung des konkreten Prozessablaufs der Zirkonium-Radiomarkierung für Anwender bereit.

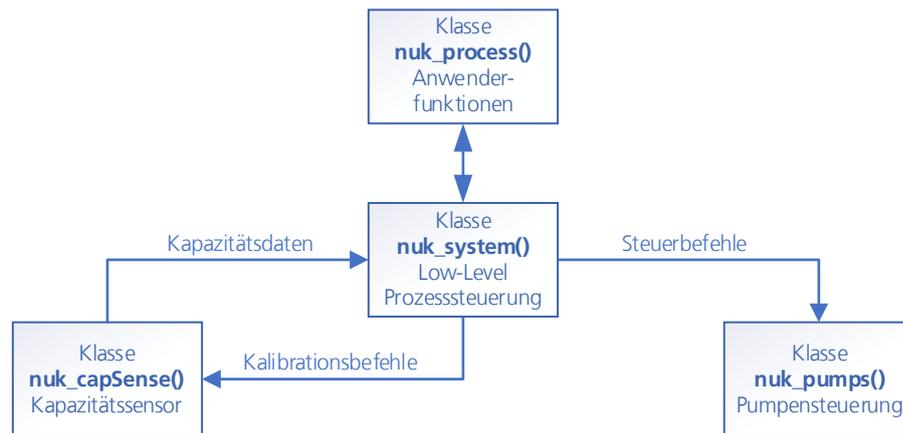


Abbildung 35: Vereinfachtes Klassendiagramm der Python-basierten Prozesssteuerung.

Die Prozesssteuerung der Klasse *nuk_systems* unterscheidet zwischen zwei fluidischen Vorgängen. Der erste, einfachere Vorgang ist das Befüllen eines (Zuleitungs-)Kanals mit einer einzelnen Mikropumpe, der über die *fill_reagent*-Methode gestartet wird. Bei diesem Prozess wird eine ausgewählte Pumpe gestartet, die so lange Fluid in das Kanalsystem fördert, bis an der assoziierten Sensorelektrode am Ende des Zuleitungskanals Fluid detektiert wird. Die Fluiddetektion erfolgt hierbei wie in Kapitel 4.3 beschrieben über eine Schwellwertvorgabe: Sobald der Kapazitätsmesswert sich innerhalb weniger Sekunden um einen definierten Schwellwert (3 fF) ändert, befindet sich Fluid im Elektrodenbereich. Der Kanal ist damit vollständig befüllt und die Pumpe wird deaktiviert.

Der zweite Vorgang ist das Befüllen eines Mäanderkanals mit einer definierten Mischung aus zwei Fluiden. Dabei werden zwei Pumpen angesteuert, die immer abwechselnd kleine Fluidpakete in den Mäanderkanal eindosieren. Zunächst wird die *fill_reagent*-Methode aufgerufen um die Zuleitungskanäle, die die Reagenzienbehälter mit dem Mäanderkanal verbinden, zu befüllen. Sobald dieser Schritt abgeschlossen ist, befindet sich die Phasengrenze der zwei Reagenzien direkt am Beginn des Mäanderkanals. Anschließend wird die *fill_meander*-Methode aufgerufen. Diese Methode bekommt für jede Pumpe einen Schwellwert vorgegeben, wobei das Verhältnis der Schwellwerte dem Mischverhältnis der Reagenzien im Mäander entspricht. Die Funktion berechnet aus dem aktuellen Kapazitätsmesswert und dem Schwellwert eine Zielkapazität, bis zu deren Erreichen der Fluidkanal befüllt werden soll. Der Zielkapazitätswert wird der Unterfunktion *fill_fraction* (siehe Abbildung 37) übergeben. Diese Funktion vergleicht kontinuierlich die aktuelle Kapazität der Mäanderelektrode mit dem Zielwert und schaltet die aktive Mikropumpe ab, sobald dieser überschritten wird, oder sobald das Fluid das Kanalende erreicht, was über eine weitere Elektrode am Kanalende

registriert wird. Die zwischen An- und Abschalten der Pumpe gemessene Kapazitätsdifferenz wird an die Funktion *fill_meander* zurückgegeben, wo sie zur dynamischen Schwellwertanpassung benötigt wird.

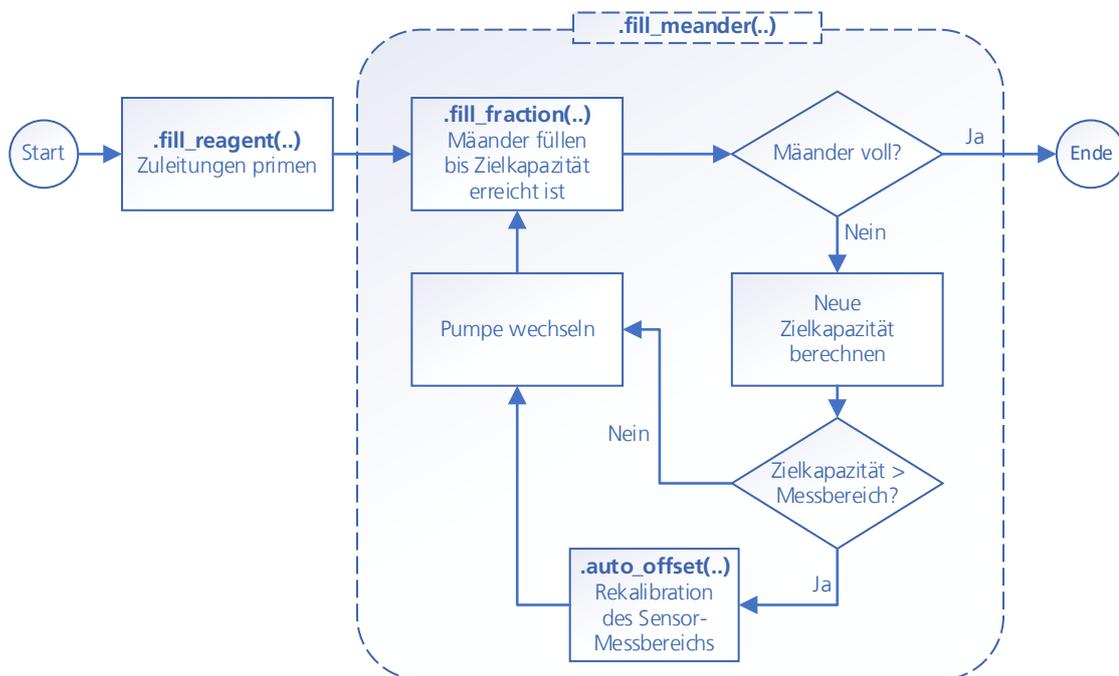


Abbildung 36: Flussdiagramm der Befüllung eines Mäanderkanals mit zwei Reagenzien. Nachdem die Zuleitungskanäle befüllt wurden, wird die Schleife der Funktion *fill_meander* aufgerufen. Diese wechselt zwischen zwei Pumpen hin und her, der Wechselzeitpunkt wird dabei über die vorgegebenen Kapazitäts-Schwellwerte definiert. Falls die Kapazität zu nahe an die Grenze des Sensor-Messbereichs kommt, wird die entsprechende Elektrode recalibriert, indem ein neuer Kapazitäts-Offset eingestellt und so der Messwert zurück in den Messbereich verschoben wird. Das tatsächliche Befüllen des Mäanders bis zu einer vorgegebenen Zielkapazität wird über die Methode *fill_fraction* ausgeführt, deren Flussdiagramm in Abbildung 37 dargestellt ist. Der Prozess endet, sobald die Elektrode am Ende des Mäanderkanals Fluid detektiert, der Mäander ist damit vollständig gefüllt.

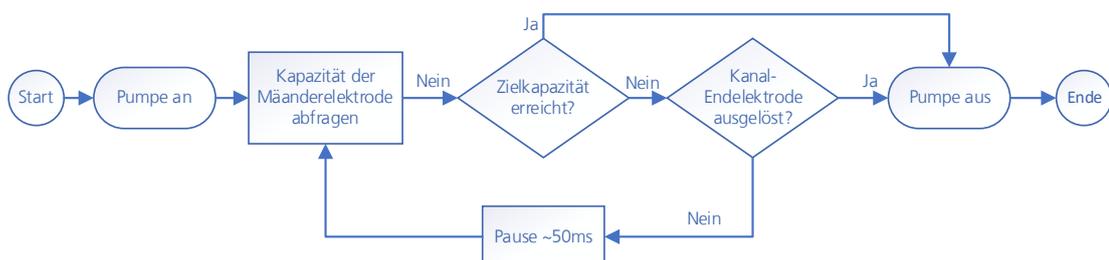


Abbildung 37: Flussdiagramm der *fill_fraction*-Methode, die zum Befüllen des Fluidkanals mit einer definierten Fluidmenge verwendet wird. Die Methode wird wiederholt aufgerufen, wobei jeweils die aktive Pumpe gewechselt wird, um eine definierte Mischung der zwei Eingangsfluide im Mischkanal zu erzeugen.

Die dynamische Schwellwertanpassung berechnet ausgehend von einem vorgegebenen Dosierverhältnis der Reagenzien die Dosiermenge, die in einem einzelnen Dosierschritt von einer Mikropumpe in den Mischkanal abgegeben wird. Für jede Pumpe wird dazu zunächst ein Soll-Schwellwert vorgegeben, der das Volumenverhältnis der Reagenzien beschreibt. Der Schwellwert repräsentiert die Kapazitätsdifferenz, die pro Dosierschritt durch ein Reagenz erzeugt werden soll, und wird in Zählern angegeben. Ein Zähler entspricht dabei einem Mess-Bit und damit einer Kapazitätsänderung von 61 aF. Wenn beispielsweise ein Mischverhältnis der Reagenzien von 2:1 erzeugt werden soll, wird der Schwellwert S_A der ersten Pumpe (Pumpe A) auf 200 Zähler und der Schwellwert S_B der zweiten Pumpe (Pumpe B) entsprechend auf 100 Zähler festgelegt, wobei für diese Beispielrechnung von Fluiden mit identischer Permittivität ausgegangen wird:

$$\begin{aligned}S_A &= 200 \\S_B &= 100 \\S_A:S_B &= 2:1\end{aligned}$$

In einem idealen Prozessablauf beginnt Pumpe A damit, Reagenz in den Mäanderkanal zu dosieren. Sobald die Kapazität um exakt 200 Zählschritte gestiegen ist, wird Pumpe A abgeschaltet und Pumpe B aktiviert. Nun wird wiederum gewartet, bis die Kapazität um weitere 100 Zähler gestiegen ist, bevor wieder zurück auf Pumpe A gewechselt wird. Dieser Prozess wird wiederholt, bis die Sensorelektrode am Ende des Mäanderkanals anzeigt, dass der Kanal komplett gefüllt ist.

In der praktischen Durchführung ist es allerdings nicht immer möglich, die Pumpen exakt dann anzuhalten, wenn der gewünschten Schwellwert erreicht ist. Die Pumpfrequenz ist mit 100 Hz deutlich höher als die Messfrequenz der Kapazitätssensoren, die bei ~ 15 Hz liegt, was theoretisch zu einer Überdosierung von bis zu sieben Pumphyben beziehungsweise etwa $0.35 \mu\text{l}$ führen kann, wenn von einem Hubvolumen von 50 nl ausgegangen wird. Ein Verringern der Pumpfrequenz verkleinert diese Dosierauflösung, würde aber auch zu deutlich längeren Prozessdauern führen. Außerdem kann es durch fluidische Kapazitäten und Trägheitseffekte auch kurz nach dem Abschalten einer Pumpe noch zu Kapazitätsänderungen kommen, die mit in die Kapazitätsmessung einfließen.

Um das gewünschte Dosierverhältnis trotzdem beizubehalten wird deshalb ein Kompensationsschritt eingefügt, bei dem aus den Ziel-Schwellwerten der Pumpen (S_A und S_B) zusammen mit der kumulierten Kapazitätsänderung, die seit Beginn des Dosierprozesses durch Pumpe A (Δ_A) bzw. Pumpe B (Δ_B) erzeugt wurde, ein dynamischer Schwellwert für Pumpe B, S_B^* , berechnet wird:

$$S_B^* = \Delta_A * \frac{S_B}{S_A} - \Delta_B$$

Während der Schwellwert für Pumpe A immer konstant bleibt, wird der Schwellwert von Pumpe B bei jedem Dosierschritt dynamisch neu berechnet. Diese dynamische Schwellwertberechnung für Pumpe B kompensiert den kumulierten Fehler der vorherigen Pumpvorgänge, so dass am Ende der Mäanderfüllung nur der Dosierfehler des zuletzt dosierten Volumenpakets übrigbleibt. Da ein einzelnes Volumenpaket im Vergleich zum gesamten Mäandervolumen sehr klein ist, führt dieses Vorgehen zu einer Minimierung des Dosierfehlers.

Über die gewählten Schwellwerte wird neben dem relativen Mischverhältnis auch das Volumen der einzelnen Fluidpakete vorgegeben. Der erste Mäanderkanal besitzt ein Volumen von 530 μl ⁶. Der Kapazitätsunterschied zwischen leerem und komplett gefülltem Mäander beträgt bei einer Befüllung des Kanals mit Wasser etwa 140.000 Zählschritte (≈ 8.5 pF). Ein Volumenpaket mit einer Kapazitätsänderung von 100 Zählschritten entspricht demnach ~ 0.38 μl .

Während der Befüllung eines Mäanderkanals muss sichergestellt sein, dass die Kapazität der Sensorelektrode des Fluidkanals nicht den Messbereich des Sensorchips übersteigt. Deshalb prüft die *fill_meander*-Methode vor einem Pumpenwechsel stets, ob die Zielkapazität des nächsten Dosierschrittes diesen Messbereich überschreitet. Ist das der Fall, wird eine Offsetkompensation ausgelöst, bei der der Messbereich des Sensors an die Kapazität der Sensorelektrode angepasst wird. Durch die vorherige Auslegung der Kanal- und Elektrodengeometrie (siehe Kapitel 3) ist sichergestellt, dass die maximale Kapazität aller Elektroden bei allen Systemzuständen immer im Bereich dieser Offsetkompensation liegt.

4.5 EXPERIMENTELLE CHARAKTERISIERUNG DES DOSIERSYSTEMS

In Abschnitt 4.5 werden verschiedene fluidische Charakteristiken wie das Mischverhalten und die Dosiergenauigkeit des entwickelten Systems experimentell untersucht. Außerdem werden die Ergebnisse eines Radiomarkierungsvorgangs präsentiert, bei dem das System mit realen Reagenzien zur Herstellung eines Radiopharmakons verwendet wurde. Der Systemaufbau, die experimentelle Bestimmung der Dosiergenauigkeit und die Versuche zum Mischverhalten sind in [146] veröffentlicht.

⁶ Per Design besitzt der erste Mäander ein Innenvolumen von 495 μl , für die Beispielrechnung wird aber das tatsächlich gemessene Innenvolumen herangezogen, das aufgrund von Fertigungstoleranzen beim Fräsen 530 μl beträgt.

4.5.1 Alternierendes Pumpen

Bei der alternierenden Dosierung der Reagenzien in den Mäanderkanal, der in Abschnitt 4.3 beschrieben ist, wird die Kapazitätsänderung jedes Pumpvorgangs zur Bestimmung des Mischverhältnisses verwendet. Deshalb ist es essenziell, dass nur die Kapazitätsänderung, die tatsächlich durch die jeweilige Mikropumpe hervorgerufen wird, auf diese angerechnet wird. Aufgrund von fluidischen Kapazitäten, die durch flexible Kanalelemente und Luftblasen entstehen, kann es allerdings auch nach dem Abschalten einer Mikropumpe zu einer Bewegung der Phasengrenze kommen. Diese nachträglichen Fluidbewegungen können bei einem zu schnellem Pumpenwechsel dem falschen Reagenz zugeordnet werden und so zu einem fehlerhaften Mischverhältnis führen.

Beim Wechsel zwischen den Mikropumpen wird eine Pause von 0.2 Sekunden Dauer zwischen dem Abschalten der Mikropumpe und dem Messen des erzielten Kapazitäts-Endwertes eingehalten. Dadurch erhält das Fluidsystem die Möglichkeit, in den Gleichgewichtszustand zurückkehren. Um zu prüfen, ob diese Zeitdauer ausreichend ist, wurde ein Versuch durchgeführt, bei dem während der Befüllung des ersten Mäanderkanals aufgezeichnet wurde, welche Pumpe zum jeweiligen Zeitpunkt aktiv ist. Abbildung 38 zeigt den Kapazitätsverlauf der Sensorelektrode des Mäanders, der je nach gerade aktiver Pumpe entweder rot (Pumpe A) oder blau (Pumpe B) eingefärbt wurde. Beide Pumpen arbeiteten während des Versuchs mit einer Pumpfrequenz von 100 Hz, als Flüssigkeit wurde DI-Wasser verwendet.

Im Kapazitätsverlauf ist deutlich der schnelle Wechsel der Pumpen sichtbar, bei dem die Pumpen jeweils nur für wenige Sekunden oder Sekundenbruchteile aktiv sind. Bei genauerer Betrachtung des Kapazitätsverlaufs wird ein stufenförmiger Signalverlauf sichtbar, dessen Steigung von der jeweils aktiven Pumpe abhängig ist. Wenn Pumpe A aktiv ist, zeigt sich eine lineare Kapazitätsänderung. Wenn Pumpe B aktiv ist, zeigt sich ebenso eine lineare Änderung, die aber eine deutlich höhere Steigung besitzt. Aus dem Signalverlauf können zwei Schlüsse gezogen werden. Erstens ist aufgrund der unterschiedlichen Steigung der Kapazitätsänderung ersichtlich, dass Pumpe A bei gleicher Ansteuerung eine deutlich geringere Flussrate als Pumpe B erzeugt. Zweitens kann durch das klar heraustretende Stufenprofil aber auch abgeleitet werden, dass es nach der gewählten Wartezeit von 0.2 s zu keiner relevanten Fluidbewegung mehr kommt, da diese sonst im Signalverlauf als Buckel oder Delle am Anfang der Kapazitätsstufe sichtbar wäre.

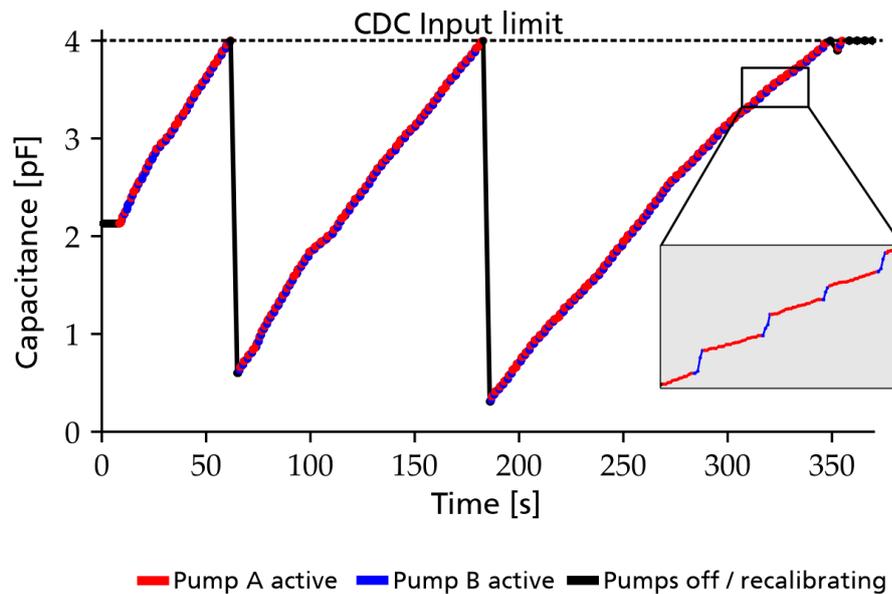


Abbildung 38: Signalverlauf an Mäanderelektrode beim Befüllen des ersten Mäanders. Der Signalverlauf ist farbig codiert um zu zeigen, welche Pumpe zum jeweiligen Zeitpunkt aktiv ist. In der Vergrößerung wird ersichtlich, dass Pumpe B eine höhere Flussrate als Pumpe A besitzt, da die ihr zugeordneten Messpunkte eine höhere Steigung aufweisen, trotz identischem Ansteuersignal. Schwarze, vertikale Linien kennzeichnen den Rekalibrationsschritt beim Überschreiten des Sensor-Messbereichs von 4 pF. Grafik entnommen aus eigener Veröffentlichung [146].

4.5.2 Dosiergenauigkeit

In Experimenten zur Dosiergenauigkeit soll nachgewiesen werden, dass das durch die kapazitive Sensorik gemessene Mischverhältnis dem realen Mischverhältnis der Fluide im Mäanderkanal entspricht. Dazu wurde ein Versuchsaufbau aufgesetzt, bei dem Fluid aus zwei Eingangsreservoirien in einem definierten Mischverhältnis in den Mäanderkanal eindosiert werden, bis dieser komplett gefüllt ist. Eines der Eingangsreservoirie wird dabei mit einer Feinwaage (WXTP-26, Mettler Toledo, Columbus, OH, USA; Auflösung $\pm 1 \mu\text{g}$) überwacht, um so gravimetrisch das entnommene Fluidvolumen zu bestimmen. Als Medium wurde für die Versuche DI-Wasser verwendet, dessen Dichte bei 20°C Labortemperatur 0.998 mg/ μl beträgt.

Die Versuche wurden am ersten der drei Mäanderkanäle des Dosiersystems durchgeführt. Zunächst wurde dazu das genaue Innenvolumen des Mäanders bestimmt, indem der Kanal 10-mal mit DI-Wasser gefüllt und das Gewicht des Fluids gravimetrisch bestimmt wurde. Per CAD-Entwurf besitzt der Kanal ein Innenvolumen von 495 μl . Die Messungen ergaben ein durch Fertigungstoleranzen leicht erhöhtes Innenvolumen von $529.9 \pm 1.0 \mu\text{l}$. Dieser Wert dient als Kalibrationsgröße für die folgenden Messungen: Wird ein Volumen von 265 μl in

den Kanal dosiert, entspricht dies einem Mischverhältnis von $265 \mu\text{l} / 529.9 \mu\text{l} = 50 \%$.

In drei Versuchen wurden die Parameter Paketgröße, Pumpfrequenz und Mischverhältnis variiert, um zu bestimmen, ob diese Parameter einen messbaren Einfluss auf das Mischverhältnis der erzeugten Mischung haben. Die Paketgröße beschreibt das Volumen des Fluidpakets, das durch eine einzelne Pumpe in den Mäanderkanal gefördert wird, bevor die Steuerung zur anderen Pumpe wechselt (Abbildung 39).



Abbildung 39: Der Parameter „Paketgröße“ beschreibt das Volumen eines Fluidpakets, das von einer Mikropumpe in den Kanal eindosiert wird, bevor die aktive Pumpe gewechselt wird. Da „gelbes“ und „grünes“ Fluid in dieser Grafik die gleiche Paketgröße verwenden ($1 \mu\text{l}$ bzw. $2 \mu\text{l}$), ergibt sich ein Mischverhältnis von 50:50.

Im ersten Versuch wurde die Paketgröße variiert, während die Pumpfrequenz bei 100 Hz und das Mischverhältnis auf 50:50 fixiert wurden. Die Vorgabe der Paketgröße erfolgt über den Kapazitäts-Schwellwert. Das Befüllen des kompletten Mäanderkanals mit DI-Wasser führt zu einer Kapazitätsänderung von 8.5 pF, was bei einem Kanalvolumen von 530 μl einer relativen Kapazitätsänderung von 16 fF/ μl entspricht. Soll also ein Paket der Größe 1 μl pro Pumpe dosiert werden, entspricht dies einem Schwellwert von 16 fF (bzw. 264 digitalen Zählern). Es wurden die Paketgrößen 0.25 μl , 0.5 μl , 0.75 μl , 1 μl , 1.5 μl und 2 μl getestet, pro Paketgröße wurden $n=5$ Dosiervorgänge durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 40a dargestellt.

Im zweiten Versuch wurde die Pumpfrequenz zwischen 50 Hz und 100 Hz variiert, um so eine variable Flussrate zu simulieren. Das Mischverhältnis wurde bei diesem Versuch bei 50:50 und die Paketgröße bei 1 μl fixiert. Wieder wurden pro Parametersatz $n=5$ Versuchsdurchläufe ausgeführt. Die Ergebnisse des Versuchs sind in Abbildung 40b dargestellt.

Sowohl bei der Variation der Paketgröße als auch bei der Variation der Flussrate über die Pumpfrequenz kann kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen einzelnen Parametersets nachgewiesen werden. Das gravitativ gemessene Mischverhältnis beträgt über alle $n=45$ Versuchsdurchläufe gemittelte $50.3 \pm 0.9 \%$, bei einem theoretischen Dosierziel von 50 %. Es traten allerdings auch einzelne Ausreißer auf, bei denen das Dosierziel um bis zu 3.4 % vom Soll abwich. Die kapazitive Messung ergab ein durch das Dosiersystem bestimmte Dosierverhältnis von $50.0 \pm 0.1 \%$.

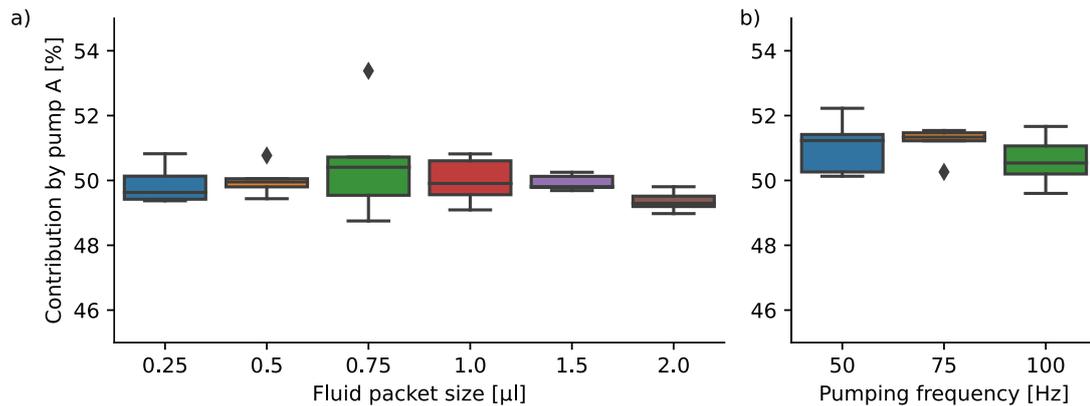


Abbildung 40: Gravimetrisch gemessene Dosierergebnisse. **(a)** Paketgrößenvariation ($n = 6 \cdot 5$) bei 100 Hz Pumpfrequenz. Mittelwert und Standardabweichung der einzelnen Messungen betragen: 0.25µl: $49.9 \pm 0.6\%$; 0.50µl: $50.0 \pm 0.5\%$; 0.75µl: $50.6 \pm 1.8\%$; 1.00µl: $50.0 \pm 0.7\%$; 1.50µl: $49.9 \pm 0.2\%$; 2.00µl: $49.4 \pm 0.3\%$. **(b)** Dosieren von 0.25-µl-Paketen bei den Pumpfrequenzen 50 Hz, 75 Hz und 100 Hz ($n = 3 \cdot 5$). Mittelwert und Standardabweichung der Ergebnisse: 50Hz: $51.1 \pm 0.9\%$; 75Hz: $51.2 \pm 0.5\%$; 100Hz: $50.6 \pm 0.8\%$. Es konnte kein statistisch signifikanter Unterschied in der Dosiergenauigkeit einzelner Gruppen nachgewiesen werden. Entnommen aus eigener Veröffentlichung [146].

In einer dritten Versuchsreihe wurde das Ziel-Mischverhältnis der Flüssigkeiten variiert, wobei die Paketgröße des kleinsten Pakets immer auf 0.25 µl festgelegt wurde. Die Pumpfrequenz beider Pumpen betrug 100 Hz. Es wurden vier verschiedene Mischverhältnisse getestet, 97.5:2.5; 95:5; 90:10 und 75:25. Die Ergebnisse der Versuche sind in Abbildung 41 dargestellt. Erneut konnte eine hohe Übereinstimmung der gewählten Mischverhältnisses zum real dosierten Mischverhältnis nachgewiesen werden, die Abweichung zum Sollwert beträgt gemittelt über alle $n=20$ Versuche $0.3 \pm 0.3 \%$.

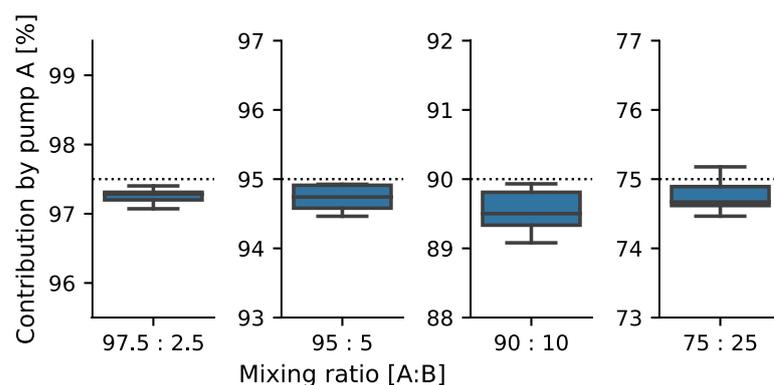


Abbildung 41: Erzielte Mischverhältnisse beim Erzeugen von Mischungen im Verhältnis 2.5:97.5 bis 25:75. Jedes Mischverhältnis wurde $n=5$ -mal erzeugt. Die Mittelwerte und Standardabweichungen der einzelnen Messungen sind: 97.5: $97.3 \pm 0.1\%$; 95: $94.7 \pm 0.2\%$; 90: $89.5 \pm 0.3\%$ und 75: $75.8 \pm 0.3\%$. Die Gesamtabweichung vom Ziel-Mischverhältnis über alle $n=20$ in dieser Grafik dargestellten Datenpunkte beträgt $0.3 \pm 0.3\%$. Abbildung entnommen aus eigener Veröffentlichung [146].

4.5.3 Mischverhalten

In mikrofluidischen Kanälen herrscht aufgrund der kleinen Kanalgeometrie häufig ein laminarer Strömungszustand, der das Vermischen zweier getrennt in den Kanal injizierter Fluide erschwert. Um nachzuweisen, dass es innerhalb der Mäander-Kanalstruktur zu einer ausreichenden Vermischung der Reagenzien kommt, wurde ein Versuch durchgeführt, bei dem abwechselnd Flüssigkeitspakete von klarem und mit Trypanblau gefärbtem Wasser in den Kanal dosiert wurden. Die Paketgröße während der Dosierung beträgt bei beiden Pumpen 10 μl . Die gewählte Paketgröße ist damit größer als die typische Paketgröße während eines Mischvorgangs, welche etwa 0.2 μl bis 2 μl beträgt. Durch die Verwendung großer Fluidpakete wird das Verhältnis der Stirnfläche zum Volumen der Pakete verringert, wodurch die diffusive Mischung zwischen den Paketen erschwert wird. Die Verwendung von 10- μl -Paketen stellt demnach eine Abschätzung des schlechtesten Falls dar.

Abbildung 42 zeigt die Ergebnisse des Versuchs anhand einer Bilderserie, die die Mischung der Fluide im Einlaufbereich des Mäanderkanals zeigt. In den Aufnahmen ist deutlich zu erkennen, dass bereits nach der Dosierung eines einzelnen Pakets der gefärbten und ungefärbten Flüssigkeit eine deutliche Vermischung auftritt. Durch die Mäander im weiteren Kanalverlauf, an denen jeweils die Richtung des Fluidstroms umgekehrt wird, ist eine zusätzliche Durchmischung der Fluide zu erwarten.

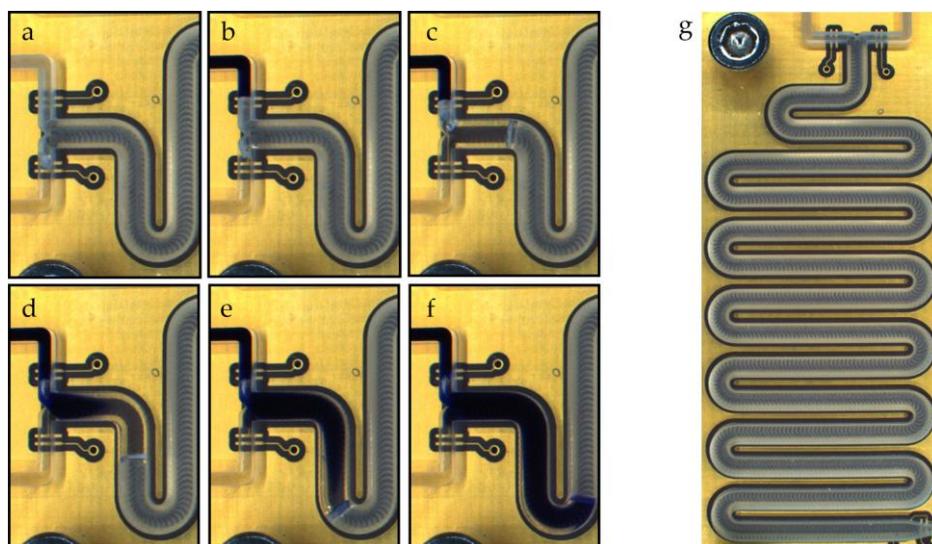


Abbildung 42: Mischung im Mäanderkanal. **(a)** Befüllen des ersten Zuleitungskanals mit DI-Wasser. **(b)** Befüllen des zweiten Zuleitungskanals mit Trypanblau-gefärbtem DI-Wasser. **(c)** Ein $\sim 10 \mu\text{l}$ Paket DI-Wasser wird in den Mäander dosiert. **(d)-(f)**: Ein $\sim 10 \mu\text{l}$ großes Fluidpaket des gefärbten Wassers wird in den Mäander dosiert, wobei eine deutliche Durchmischung auftritt. **(g)** Gesamtansicht des ersten Mäanderkanals, die Mischung erfolgt bereits im Bereich des ersten Mäanders. Abbildung entnommen aus eigener Veröffentlichung [146].

4.5.4 Radiomarkierung

Am 4. Oktober 2021 wurde an der nuklearmedizinischen Abteilung des Klinikums rechts der Isar ein Praxistest mit Systemvariante A durchgeführt. Dabei wurde eine Radiomarkierung gemäß des in Abschnitt 2.1.4 beschriebenen Protokolls mit dem entwickelten Dosiersystem und parallel dazu ein zweiter Markierungsvorgang manuell per Pipettieren durchgeführt. Als Markierungsziel wurden Anti-Gal3-Fab-Antikörperfragmente verwendet. Abbildung 43 zeigt den Versuchsaufbau zur automatischen Radiomarkierung.

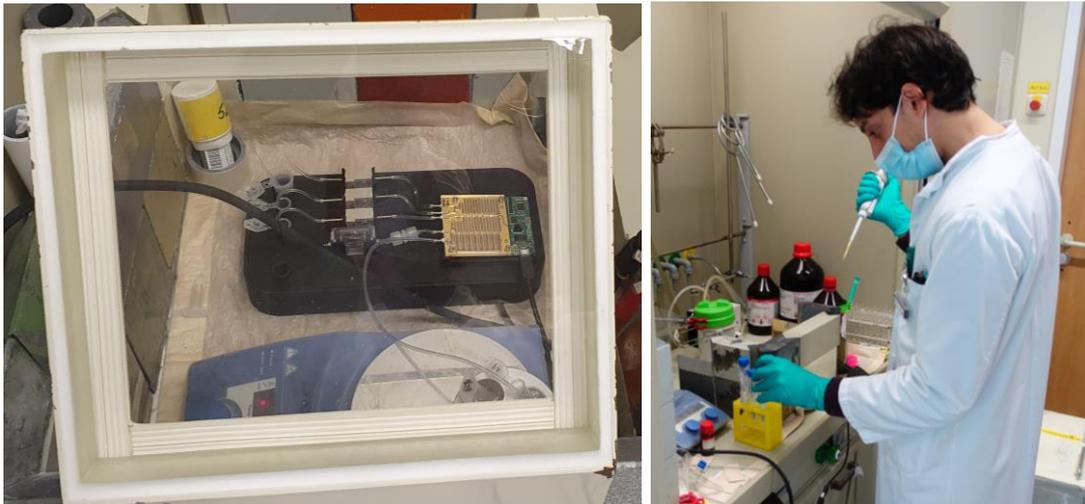


Abbildung 43: **Links:** Automatisches Dosiersystem in Bleiburg, gesehen durch eine abschirmende Bleiglasscheibe. Das Auslassgefäß befindet sich in einem auf 37 °C angewärmten Wasserbad. **Rechts:** Manuelle Durchführung einer Radiomarkierung (im Bild: Dr. de Rose, Chemiker am Klinikum München rechts der Isar)

Das Dosiersystem wurde in einer Bleiburg aufgebaut, einer durch Bleibausteine abgeschirmten Arbeitsfläche, durch die der Anwender vor radioaktiver Strahlung geschützt wird. Die einzige Verbindung des Systems „nach außen“ ist ein USB-Kabel, welches das Dosiersystem mit dem Steuercomputer verbindet. Nach dem Aufbau wurden die gemäß Kapitel 2.1.4 vorbereiteten Reagenzien in die Einlassreservoirs des Systems gefüllt und der automatische Dosierprozess gestartet. Das System konnte den Dosierprozess automatisch durchführen, allerdings wurde der Dosierprozess an einigen Punkten geplant unterbrochen, um eine visuelle Prozesskontrolle zu ermöglichen. Solche Pausen erfolgten jeweils nach dem Befüllen der Zuleitungskanäle und nach der vollständigen Befüllung eines Mäanders. Bei jeder Pause wurde der Prozessfortschritt auf Über- und Unterdosierungen überprüft, bevor das pausierte Steuerprogramm fortgesetzt wurde. Bei den visuellen Prozesskontrollen konnten keine Fehler festgestellt werden. Nach dem letzten Prozessschritt wurde das Produkt durch die Luftpumpe über einen an den Auslass angeschlossenen Schlauch direkt in ein Auslassgefäß ausgestoßen, das sich in einem

auf 37 °C beheizten Wasserbad befindet. In diesem Wasserbad wurde das Produkt für genau 30 Minuten inkubiert.

Nach Abschluss der Inkubationszeit erfolgte die Aufreinigung, bei der die markierten Antikörperfragmente von verbleibendem freiem Zirkonium getrennt werden. Dazu wurde eine Größenausschlusschromatografie durchgeführt, bei der das Produkt über eine Säule anhand der Größe der molekularen Inhaltsstoffe aufgetrennt wird. Die feste Phase der Säule besteht aus einem porösen Polymer, das für große Moleküle durchlässiger ist als für kleine Moleküle und einzelne Atome. Das Produkt wurde in die Säule eingeführt, zusätzlich wurde diese mit einem Lösemittel (0.25 mol/l Acetat (pH 5.5) + 0.5 g/l Gentisinsäure als Radikalfänger) gespült. Aufgrund ihrer Größe verlassen die Antikörperfragmente die Säule früher als das ungebundene Zirkonium. Bei Betrachtung des zeitlichen Verlaufs der Aktivität des Eluats, das aus dem in die Säule eingeführten Produkt und dem zugegebenen Lösemittel besteht, werden zwei Maxima sichtbar. Das erste Aktivitätsmaximum wird durch die markierten Antikörper erzeugt, das zweite Aktivitätsmaximum durch freies Zirkonium. Das Eluat wurde deshalb in einzelnen Phiolen zu je 400 µl (entspricht 10 Tropfen) aufgefangen, die mit den Ziffern 1.1 bis 8.2 beschriftet sind. Die markierten Antikörper befanden sich nach der Auftrennung in den Phiolen 3.2-5.1, freies Zirkonium war in den Phiolen 5.2-8.2 enthalten.

Die Aktivitäten der Phiolen der automatischen Synthese sind in Tabelle 3 aufgelistet, die Aktivitäten der Phiolen der manuell ausgeführten Radiomarkierung sind in

Tabelle 4 wiedergegeben. Durch Messen der Aktivität der einzelnen Phiolen und Vergleich mit der insgesamt in die Säule gegebenen Aktivität kann aus diesen Daten die radiochemische Ausbeute (RCA) berechnet werden, anhand derer die Qualität des Syntheseprozesses evaluiert wird. Die RCA beschreibt den Prozentsatz der Aktivität der markierten Antikörper gegenüber der Gesamtaktivität, die in das System bzw. die Säule gegeben wurde. Im idealen Fall beträgt die RCA also 100 %, wenn jeder Antikörper mit genau einem Isotop markiert wurde und am Ende des Prozesses kein freies Zirkonium verbleibt. Die radiochemische Ausbeute des automatischen Dosiersystems betrug 45.5 %, während bei der parallel durchgeführten manuellen Synthese eine etwas höhere Ausbeute von 56.4 % erzielt werden konnte.

Tabelle 3: Aufreinigungstabelle der Radiomarkierung mit dem automatischen Dosiersystem. Die erzielte radiochemische Ausbeute betrug 45.5 %. Nicht gelistete Phiolen enthielten keine Aktivität.

Phiole Nr.	3.1	3.2	4.1	4.2	5.1	5.2	Säule	Total
Aktivität [μCi]	5	33	76	83	33	15	250	495
Radiochemische Ausbeute (Phiole 3.2-5.1) = 45.5 %								

Tabelle 4: Aufreinigungstabelle der manuell durchgeführten Radiomarkierung. Die erzielte radiochemische Ausbeute betrug 56.4 %. Nicht gelistete Phiolen enthielten keine Aktivität.

Phiole	3.1	3.2	4.1	4.2	5.1	5.2	Säule	Total
Aktivität [μCi]	17	139	231	64	16	33	269	769
Radiochemische Ausbeute (Phiole 3.2-4.2) = 56.4 %								

4.6 KAPAZITÄT BEI MISCHUNG LEITENDER UND NICHTLEITENDER REAGENZIEN

Die Prozessführung beim Befüllen der Mäanderkanäle basiert auf der Annahme, dass die Kapazität der kontinuierlichen Sensoren stetig steigt, solange Flüssigkeit in den Kanal eingeführt wird, da die verwendeten Fluide stets eine höhere Permittivität besitzen als Luft, die durch das Fluid aus dem Kanal verdrängt wird⁷. Dieses Verhalten zeigt sich auch bei der Durchführung von Versuchen mit DI-Wasser und anderen Testreagenzien. Bei der Durchführung der Radiomarkierung konnten allerdings sowohl positive als auch negative Kapazitätssprünge beobachtet werden, die durch die getroffenen Annahmen nicht erklärbar sind und deshalb im Folgenden genauer untersucht werden sollen. Die Kapazitätssprünge treten ausschließlich im ersten Mischschritt auf, bei dem die radioaktive Zirkoniumlösung mit Puffer vermischt wird.

4.6.1 Beobachtung der Kapazitätssprünge

Abbildung 44a zeigt den Signalverlauf des kontinuierlichen Kapazitätssensors des ersten Mäanderkanals bei einem Probelauf mit DI-Wasser. Sobald Wasser in den Kanal eintritt, beginnt die Kapazität des Sensors zu steigen, bis schließlich eine Messkapazität von 4 pF erreicht wird. Daraufhin wird eine Offset-Rekalibration durchgeführt, wodurch das Messfenster des Sensorchips an die Kapazität der Elektrode angepasst wird. Im Signalverlauf der Kapazität ist die Rekalibration als

⁷ Diese Annahme gilt theoretisch nicht nur für die kontinuierlichen Sensoren, sondern auch für die Positionssensoren. Allerdings treten beim Übergang einer Phasengrenze über die Kontur der Sensorelektroden Beugungseffekte des elektrischen Feldes auf (siehe Kapitel 3.2 und Abbildung 23), durch die das Kapazitätssignal kurzfristig unter die Ausgangskapazität fallen kann. Aufgrund der Elektrodenform und -größe ist dieser Effekt bei kontinuierlichen Sensoren im Vergleich zum Signalhub vernachlässigbar klein; bei den deutlich kleineren Positionssensoren ist er dagegen in der gleichen Größenordnung wie das eigentliche Messsignal (siehe Abbildung 22) und kann deshalb nicht vernachlässigt werden.

einzelne Stufe sichtbar, bei der die Kapazität von 4 pF auf etwa 0.5 pF sinkt. Nach der Rekalibration wird der Dosierprozess wieder aufgenommen, wodurch die Kapazität des Sensors wieder steigt, bis der Mäanderkanal schließlich komplett gefüllt ist. Der Kapazitätsanstieg verläuft abgesehen von der Offsetanpassung stetig und proportional zum Füllstand des Mäanders.

Abbildung 44b zeigt eine Wiederholung des Versuchs, wobei allerdings statt DI-Wasser abwechselnd die radioaktive Zirkoniumlösung und Puffer in den Mäander eindosiert wurden. Ebenso wie beim vorherigen Versuchsdurchlauf steigt die Kapazität der Sensorelektrode zunächst stetig an, bevor der Messwert plötzlich auf nahezu 0 pF einbricht, nur um kurz danach wieder zu seinem vorherigen Messwert zurückzukehren. Da immer noch weiteres Fluid in den Kanal dosiert wird, steigt die Kapazität anschließend weiter an und erreicht schließlich mit 4 pF die Grenze des Messbereichs, woraufhin eine Rekalibration des Sensor-Offsets durchgeführt wird. Auch nach der Rekalibration treten immer wieder Signalsprünge mit unterschiedlicher Amplitude und Frequenz auf. Die Sprünge sind in Abbildung 44 mit roten Pfeilen markiert.

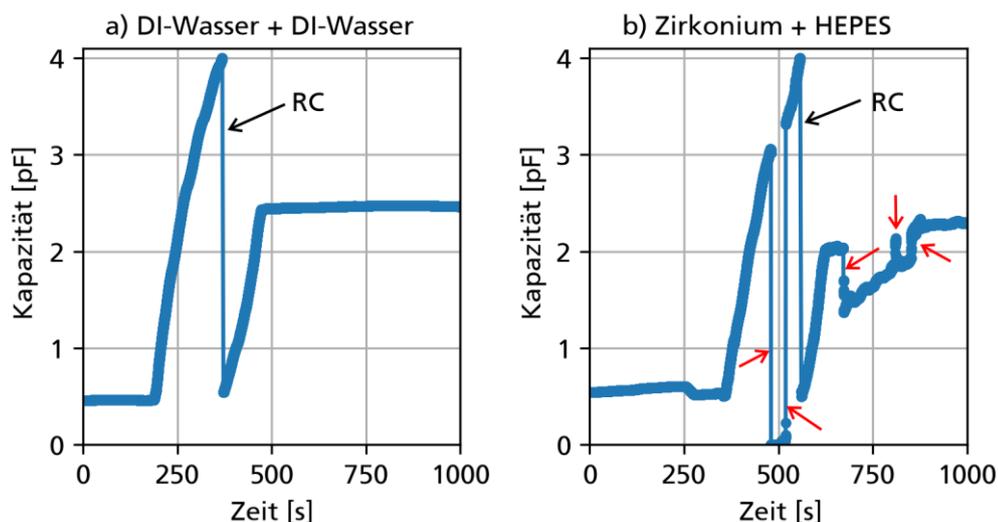


Abbildung 44: Kapazitätsverlauf der ersten kontinuierlichen Kapazitätssensors (CIN0) bei der Befüllung des ersten Mäanderkanals mit **(a)** DI-Wasser (nichtleitend) bzw. **(b)** Zirkoniumacetat und HEPES-Puffer. Geplante Stufen im Messsignal aufgrund einer Offset-Rekalibration (RC) der Messelektrode sind einem schwarzen Pfeil gekennzeichnet. Deutlich zu erkennen sind bei (b) die mit roten Pfeilen markierten Kapazitätssprünge, die bei Versuchsdurchläufen mit DI-Wasser nicht auftreten.

Auffallend ist, dass die beschriebenen Kapazitätssprünge ausschließlich im ersten Mischschritt auftreten, bei dem Zirkoniumlösung und HEPES-Puffer gemischt werden. In Mischschritt zwei und drei, bei denen Antikörperlösung und weitere Pufferlösung hinzugefügt werden, sind die Signalverläufe hingegen wieder stetig und entsprechen dem erwarteten Signalverlauf.

Laut dem in Kapitel 3 beschriebenen Funktionsprinzip der kapazitiven Überwachung von mikrofluidischen Kanälen sollte die Kapazität der Sensorelektrode stets steigen, wenn Fluid in den Mäanderkanal eingeführt wird. Das Auftreten von fallenden Kapazitätsmesswerten und die Existenz von spontanen Kapazitätssprüngen kann durch die Erdung der geförderten Fluide und über die Mischung von leitenden und nichtleitenden Reagenzien erklärt werden.

4.6.2 Erdung des leitenden Fluids über Mikropumpe

Abbildung 45 zeigt schematisch das Verhalten des elektrischen Feldes, das sich zwischen einer Anregungs- und einer Messelektrode ausbreitet, die auf gegenüberliegenden Seiten eines Fluidkanals angebracht sind. Solange der Kanal leer ist, wird an den Elektroden die Grundkapazität C_0 gemessen. Sobald Wasser in den Kanal gefördert wird, verdrängt dieses die Luft und wirkt als neues Dielektrikum. Da die Permittivität von Wasser deutlich höher als die von Luft ist ($\epsilon_{R,Wasser} \approx 80$; $\epsilon_{R,Luft} = 1$), steigt die Feldstärke im wassergefüllten Bereich an, wodurch sich die Kapazität der Elektrodenanordnung erhöht (Abbildung 45b). Der Anstieg der Feldstärke wird in der Abbildung durch die höhere Anzahl an Feldlinien dargestellt. Fraglich ist, wie es dadurch zu einem Absinken der Kapazität kommen kann.

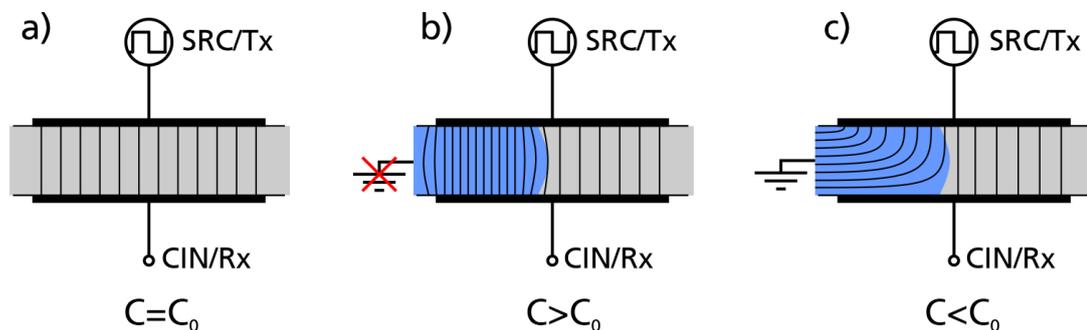


Abbildung 45: Schematisches Verhalten des elektrischen Feldes im Fluidkanal bei Verwendung von leitenden und nichtleitenden geerdeten Flüssigkeiten. Der Kapazitätssensor besteht aus einer aktiv gesteuerten Elektrode (SRC/Tx), von der das E-Feld ausgeht, und einer passiven Messelektrode (CIN/Rx). Die gemessene Kapazität ist proportional zur Anzahl der Feldlinien, die die Messelektrode erreicht. **(a)** Feldverteilung im leeren Kanal. **(b)** Tritt DI-Wasser (nichtleitend) in den Feldbereich ein, erhöht sich aufgrund der höheren relativen Permittivität des Wassers gegenüber der Luft die Feldstärke im wassergefüllten Bereich, die gemessene Kapazität steigt. **(c)** Wird stattdessen leitende Flüssigkeit verwendet, wird das elektrische Feld zur Erdung hin abgelenkt und erreicht die Messelektrode nicht. Dadurch sinkt die gemessene Kapazität.

Ein Absinken der gemessenen Kapazität bedeutet, dass eine geringere Anzahl von der Anregungselektrode ausgehender Feldlinien die Messelektrode erreicht. Dies kann passieren, wenn die Feldlinien durch die Flüssigkeit im Kanal abgelenkt werden. Dazu muss die Flüssigkeit aber erstens ausreichend leitfähig sein und zweitens über eine Erdung oder einen Kontakt zu einer Spannungsquelle verfügen, zu der das elektrische Feld abgelenkt werden kann (Abbildung 45c).

Beide Punkte treffen auf die Dosierung der Zirkoniumlösung zu. DI-Wasser besitzt eine Leitfähigkeit von $0.05 \mu\text{S}/\text{cm}$, die Leitfähigkeit von 0.2-molarer Kaliumcarbonatlösung, welche eine wesentliche Komponente bei der Herstellung der Zirkoniumlösung ist, ist dagegen mit $0.2 \text{ S}/\text{cm}$ deutlich höher [148]. Die ungewollte Erdung der Reagenzien erfolgt über die Mikropumpen, mit denen die Flüssigkeiten in die Kanalstruktur dosiert werden. Die Mikropumpen besitzen eine Pumpmembran aus Silizium, auf deren Oberseite eine Piezokeramik aufgeklebt ist (Abbildung 46). Dabei kommt die Elektrode auf der Unterseite der Piezokeramik fertigungsbedingt mit der Pumpmembran in Kontakt. Da diese Elektrode beim Betrieb der Pumpe auf Massepotential gelegt wird, ist auch der Grundkörper der Pumpe und damit das in ihr enthaltene Fluid geerdet. Aus der Elektrodengeometrie (Sechseck mit 2.1 mm Kantenlänge, Fläche $A = 11.2 \text{ mm}^2$) und den Membranparametern (Dicke $d = 50 \mu\text{m}$, spezifischer Widerstand $\rho = 1\text{-}10 \Omega\text{cm}$) ergibt sich über die Formel:

$$R = \rho * \frac{d}{A}$$

ein Widerstand von weniger als 1Ω zwischen der Massenelektrode und der Flüssigkeit in der Pumpkammer.

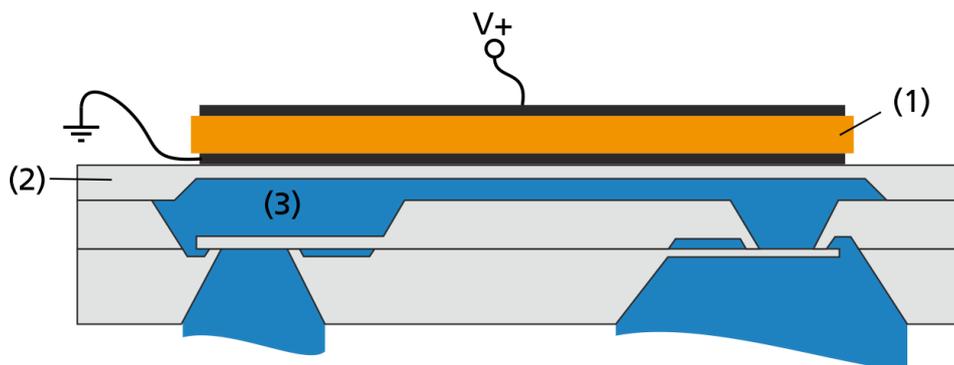


Abbildung 46: Ungewollte elektrische Kontaktierung des gepumpten Fluids in den Mikropumpen. Der piezokeramische Aktor (1) besitzt an seiner Ober- und Unterseite Elektroden, auf die das Ansteuersignal aufgeprägt wird. Die unterseitige Elektrode wird dabei stets auf Massepotential gelegt. Wenn die Piezokeramik beim Montageprozess auf die Pumpmembran (2) aufgeklebt wird kommt es zum Kontakt zwischen Elektrode und Siliziummembran. Da die Membran über eine hohe Leitfähigkeit verfügt wird über diesen Kontakt auch das Fluid in der Pumpkammer (3) geerdet.

Durch die Kombination einer leitfähigen Flüssigkeit mit einer Erdung über die Mikropumpe kann erklärt werden, wieso die Kapazität der Sensorelektroden beim Befüllen des Kanals sinken kann. Diese Beobachtung reicht allerdings nicht aus, um die spontanen Kapazitätssprünge zu erklären, da es bei der Dosierung geerdeter und leitender Fluide zu einer stetigen Kapazitätsänderung kommen würde. Zur Erklärung der beobachteten Kapazitätssprünge muss deshalb ein weiteres Detail des

Dosierprozesses berücksichtigt werden: die gleichzeitige Dosierung und Vermischung von leitfähigen und nichtleitfähigen Fluiden.

4.6.3 Mischung leitender und nichtleitender Flüssigkeiten

Beim Befüllen des ersten Mäanderkanals werden abwechselnd zwei Flüssigkeiten in den Fluidkanal dosiert, von denen eine nichtleitend (HEPES-Puffer) und eine leitend (Zirkonium-Lösung) ist. Abhängig von der Leitfähigkeit des Gemischs im Kanal und insbesondere im Bereich des Kanaleingangs kann es dazu kommen, dass entweder der komplette Kanalinhalt geerdet wird oder dass das Fluid im Kanal durch einen nichtleitenden Flüssigkeitspfropfen im Kanaleingang von der Masse abgetrennt wird und sich dadurch wie eine nichtleitende Flüssigkeit verhält. Dieses Verhalten ist in Abbildung 47 dargestellt.

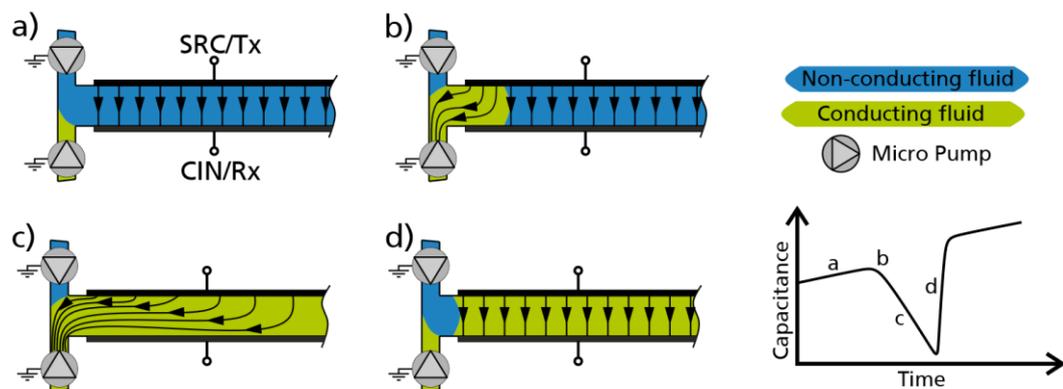


Abbildung 47: Ursache der Kapazitätssprünge, die bei der Dosierung von leitenden zusammen mit nichtleitenden Medien auftreten. **(a)** Kanal wird mit nichtleitender Flüssigkeit gefüllt, die gemessene Kapazität steigt stetig. **(b)** Leitendes, geerdetes Fluid tritt in den Kanal ein, dadurch sinkt die Kapazität, der Signalverlauf bleibt stetig. **(c)** Fluidkanal gefüllt mit leitender Flüssigkeit, die Feldlinien werden zur Erdung hin abgeleitet. **(d)** Nichtleitende Flüssigkeit tritt in den Kanaleingang ein und isoliert die leitende Flüssigkeitssäule von ihrer Erdung. Dadurch werden die Feldlinien auf der gesamten Kanallänge nicht mehr zur Masse abgeleitet, sondern erreichen plötzlich die Messelektrode, die gemessene Kapazität steigt dadurch sprunghaft an.

Solange ausschließlich nichtleitende Flüssigkeit in den Kanal gepumpt wird (Abbildung 47a), entspricht das Systemverhalten der Erwartung: Die gemessene Kapazität steigt langsam an, während das Fluid den Kanal füllt. Das Einbringen von leitender Flüssigkeit (Abbildung 47b) führt zwar dazu, dass die Kapazität des Sensors sinkt, allerdings ist diese Änderung auch kontinuierlich und stetig. Selbst wenn der komplette Fluidkanal mit einer leitenden, über die Pumpe geerdeten Flüssigkeit gefüllt ist, tritt kein Kapazitätssprung auf (Abbildung 47c). Wird nun aber die aktive Pumpe gewechselt, sodass ein nichtleitendes Fluid in den Kanal gefördert wird, tritt dieses in den Eingangsbereich des Kanals ein (Abbildung 47d) und isoliert die leitende Flüssigkeit im restlichen Fluidkanal von ihrer Masseverbindung. Das elektrische Feld des Sensors wird nicht mehr über die Mikropumpe abgeleitet,

stattdessen verhält sich das gesamte Fluid plötzlich wie eine nichtleitende Flüssigkeit. Die Feldlinien erreichen plötzlich wieder die Messelektrode, wodurch deren Kapazität sprunghaft ansteigt.

Ebenso, wie das Auftreten eines positiven Kapazitätssprungs erklärt werden kann, lässt sich auch das Auftreten negativer Kapazitätssprünge erläutern. In diesem Fall befindet sich im Kanal eine Flüssigkeit (bzw. ein Flüssigkeitsgemisch), das leitend ist und nur durch eine nichtleitende Flüssigkeitsbarriere im Eingangsbereich des Kanals von der Massenverbindung isoliert ist. Durch die Isolation verhält sich das Fluid wie eine nichtleitende Flüssigkeit. Sobald leitende Flüssigkeit in den Kanal eintritt, kommt es zu einer Mischung der Flüssigkeiten im Einlaufbereich des Kanals, wodurch eine ausreichend leitenden Fluidbrücke entstehen kann, über die der gesamte Kanalinhalt geerdet wird. Da diese Erdung plötzlich erfolgt, entsteht auch hier ein Sprung im Kapazitätssignal.

4.6.4 Lösungsstrategien gegen Kapazitätssprünge

Die Kapazitätssprünge können durch die Erdung der Fluide über die Mikropumpen und über das Zusammenspiel bei der Mischung der leitenden und nichtleitenden Reagenzien erklärt werden. Die Höhe und die Frequenz der Sprünge hängt von der Leitfähigkeit insbesondere im Eingangsbereich des Mäanderkanals ab, die wiederum vom Mischungszustand der beiden Fluide abhängig ist. Die Mischung ist ein komplexer fluidmechanischer Vorgang, der auch durch zusätzliche Sensoren kaum vollständig erfasst werden kann. Unter anderem beeinflussen Parameter wie die durch die Pumpen erzeugte Flussgeschwindigkeit, die Beschleunigung und Pulsatilität des Fluidstroms, makro- und mikroskopische Geometrie und Rauigkeit der Kanalwände sowie Temperatur, Viskosität und Oberflächenspannung der Fluide das Verhalten des Fluids.

Da es nicht möglich ist, all diese Parameter zu jedem Zeitpunkt ausreichend genau zu bestimmen, können die Kapazitätssprünge nicht vorhergesagt werden. Wenn an einem Kapazitätssensor eine Kapazitätsänderung gemessen wird, kann also im schlimmsten Fall nicht entschieden werden, ob es sich um eine „normale“ Kapazitätsänderung durch die steigende Permittivität oder um einen unerwünschten Kapazitätssprung handelt. Deshalb können die Kapazitätssprünge auch nicht durch den Steueralgorithmus kompensiert werden. Um die korrekte Funktion des Systems sicherzustellen, müssen die Kapazitätssprünge deshalb auf jeden Fall vermieden werden. Dafür kommen zwei Lösungsstrategien in Frage: Entweder muss das Syntheseprotokoll angepasst oder die Erdung der Flüssigkeiten über die Mikropumpen verhindert werden.

Wenn das Syntheseprotokoll angepasst wird, ist darauf zu achten, dass keine Flüssigkeiten verwendet werden, die ausreichend stark leitfähig sind, um das elektrische Feld abzuleiten. Alternativ können auch die bestehenden Reagenzien so weit verdünnt werden, dass sie nicht mehr leitfähig sind. Dieses Vorgehen erfordert jedoch eine komplette Neuentwicklung des etablierten Radiomarkierungsprozesses und ist deshalb sehr aufwendig.

Die einfachere Möglichkeit zur Vermeidung der Kapazitätssprünge ist das Verwenden von isolierten Pumpen, durch die die Erdung des Fluids verhindert wird. Dazu müsste bei den verwendeten Silizium-Mikropumpen eine zusätzliche Isolationsschicht zwischen Pumpmembran und Piezokeramik eingefügt werden, die zum Beispiel als Siliziumoxidschicht oder als verstärkte Klebeschicht ausgeführt sein könnte. Derartige Pumpen werden aktuell an der Fraunhofer EMFT entwickelt und können in der Zukunft für Systemaufbauten verwendet werden, zum Zeitpunkt der Arbeit stehen solche Komponenten aber noch nicht zur Verfügung.

4.7 ZUSAMMENFASSUNG SYSTEMVARIANTE A

In Kapitel 4 wurde ein kapazitiv überwachtes Dosiersystem beschrieben, bei dem der Radiomarkierungsprozess auf einer gefrästen Kanalstruktur durchgeführt wird. Die Kanalstruktur enthält dazu drei Mäanderkanäle, in denen die Mischung der Reagenzien stattfindet, der Fluidtransport erfolgt über Fraunhofer-Mikropumpen.

In Experimenten konnte gezeigt werden, dass es durch die entwickelte kapazitive Sensorik möglich ist, den Dosierprozess zu überwachen und zu steuern. In Versuchen zur Dosiergenauigkeit konnten beliebige Mischungen aus je zwei Reagenzien in den Kanälen erzeugt werden, deren Mischverhältnis in den Versuchen nur um 0.3 ± 0.9 % vom Sollverhältnis abwich. Das Dosiersystem konnte zudem am Klinikum rechts der Isar zur Radiomarkierung eingesetzt werden, wobei eine radiochemische Ausbeute von 45 % erzielt werden konnte, die damit ähnlich erfolgreich war wie ein gleichzeitig manuell durchgeführter Markierungsprozess, bei dem 56 % RCA erzielt wurden.

Eine Herausforderung, die sich bei der Verwendung des Dosiersystems bei der Durchführung der Radiomarkierung zeigte, waren Sprünge im Kapazitäts-Messsignal, deren Ursache auf eine Kombination aus der Erdung der Fluide über die Mikropumpen und der Mischung leitender und nichtleitender Flüssigkeiten zurückgeführt werden kann.

5 SYSTEMVARIANTE B

Auf Basis der Erkenntnisse, die beim Aufbau und Test des in Kapitel 4 vorgestellten Dosiersystems gewonnen werden konnten, wurde eine zweite Systemvariante entwickelt. Im Gegensatz zu Systemvariante A, bei der das Dosiervolumen in jedem Mischschritt durch das Kanalvolumen vorgegeben ist, werden bei Systemvariante B diskrete Volumina der Reagenzien in einem Mikrokanal abgemessen und nach dem Dosierschritt über eine Luftpumpe in das Auslassgefäß ausgestoßen. Diese Art des Systemaufbaus bietet zwei Vorteile. Erstens können im Rahmen der Messauflösung beliebige Volumina dosiert werden, während das Volumen und die Anzahl der Mischschritte bei Systemvariante A durch die verwendete Kanalstruktur fest vorgegeben sind. Zweitens kann bei Systemvariante B auf die Verwendung kontinuierlicher Kapazitätssensoren verzichtet werden, wodurch Störungen des Dosierprozesses durch das Auftreten von Kapazitätssprüngen vermieden werden können.

5.1 SYSTEMAUFBAU

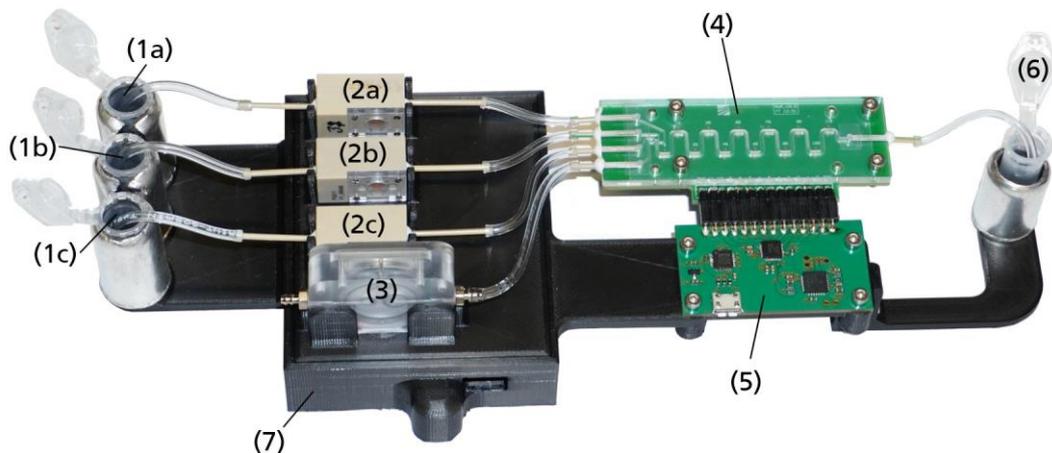


Abbildung 48: Dosiersystem Variante B. (1a-c) Einlassreservoirs für Reagenzien, (2a-c) Mikropumpen zur Dosierung der Reagenzien, (3) Luftpumpe zum Ausstoßen der Reagenzien aus Messkanal, (4) Messkanal und kapazitive Sensorelektroden, (5) Auswerteelektronik für kapazitive Sensoren, (6) Auslassreservoir, (7) Gehäuse mit Pumpentreiberelektronik

Der grundlegende Aufbau von Systemvariante B (Abbildung 48) ist ähnlich zu Variante A und unterscheidet sich primär durch die neu entwickelte Kanalstruktur und die darauf angepasste Sensor- und Auswerteelektronik (4 und 5). Auf der linken Seite des Dosiersystems befinden sich Einlassreservoirs für die Reagenzien (1a-1c), die über Fraunhofer-Mikromembranpumpen (2a-2c) in die Kanalstruktur (4) dosiert werden. Reservoirs, Pumpen und Kanalstruktur sind über flexible Schläuche miteinander verbunden. Eine weitere Mikromembranpumpe (3) wird verwendet, um

Luft in die Kanalstruktur zu pumpen, um damit den Kanalinhalt in das Auslassreservoir (6) auszustoßen. An der Kanalstruktur ist eine Platine mit kapazitiven Sensoren angebracht, die über einen Steckverbinder mit der Auswertelektronik (5) verbunden ist, welche den Kapazitätsmesschip enthält. Alle Komponenten sind auf einem 3D-gedruckten Gehäuse (7) angebracht, das die Pumpentreiberelektronik enthält. Die Halterungen für Ein- und Auslassreservoir sind zum Strahlungsschutz mit Bleiblech ummantelt.

Der Fluidchip der Systemvariante B besteht aus einem rechteckigen Acrylglaschip der Größe $76 \times 26 \text{ mm}^2$, was den Abmessungen eines typischen Mikroskop-Objektträgers entspricht. Der Fluidchip enthält vier Zuleitungskanäle mit einer Tiefe von 0.4 mm und einer Breite von 0.5 mm , die in einen Messkanal mit einem rechteckigen Querschnitt der Maße $1 \times 1 \text{ mm}^2$ und 125 mm Länge münden. Der Messkanal ist leicht mäanderförmig angelegt, um die Fläche des Fluidchips optimal auszunutzen.

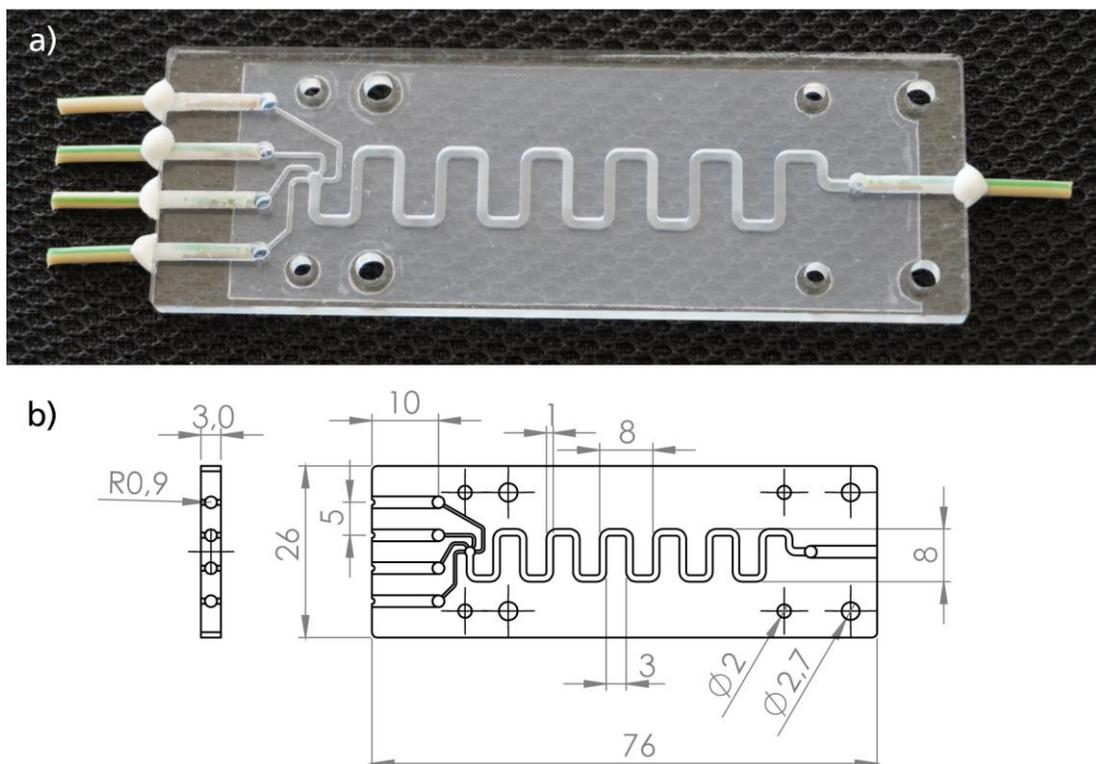


Abbildung 49: **(a)** Gedeckelter und mit Anschlusskapillaren versehener Fluidchip der Systemvariante B. **(b)** Fertigungszeichnung des Fluidchips mit den wichtigsten Maßen.

Die Herstellung der Kanalstruktur erfolgt analog zu Systemvariante A auf einer Fräsmaschine des Typs Diadrive 2000, die Bearbeitungszeit beträgt sieben Minuten. Als Fluidanschlüsse dienen PEEK-Kapillaren, die in die Einlasskanäle und in den Auslass des Messkanals eingeklebt sind. Zur Deckelung der Kanalstruktur wird hydrophobe, selbstklebende Folie verwendet (3M-9964 Transparent Microfluidic

Diagnostic Tape, 3M, Saint Paul, MI, USA). Abbildung 49 zeigt ein Bild der Kanalstruktur sowie eine Fertigungszeichnung mit den wichtigsten Konstruktionsmaßen.

Systemvariante B verwendet zur Überwachung des Dosierprozesses ausschließlich diskrete Positionssensoren. Diese sind in regelmäßigen Abständen entlang des Messkanals angebracht, um den Kanalfüllstand an den diskreten Positionen zu detektieren. Insgesamt werden zwölf Sensorelektroden verwendet. Die erste Sensorelektrode sitzt am Anfang des Messkanals an der Position, die per Design $5 \mu\text{l}$ Kanalfüllstand entspricht. Die weiteren elf Sensorelektroden folgen im Abstand von jeweils $10 \mu\text{l}$, der letzte kapazitive Sensor markiert ein Volumen von $115 \mu\text{l}$. Die Elektroden werden entsprechend ihrer Position als E5, E15, E25 usw. bis E115 bezeichnet. Die Elektrodengeometrie der diskreten Positionssensoren wurde von Systemvariante A übernommen. Mess- und Anregungselektrode besitzen jeweils eine Fläche von $1.5 \times 0.2 \text{ mm}^2$ und sind durch einen 0.2 mm breiten Separationsspalt getrennt. Abbildung 50 zeigt die Sensorplatine mit dem darauf montierten Fluidchip.

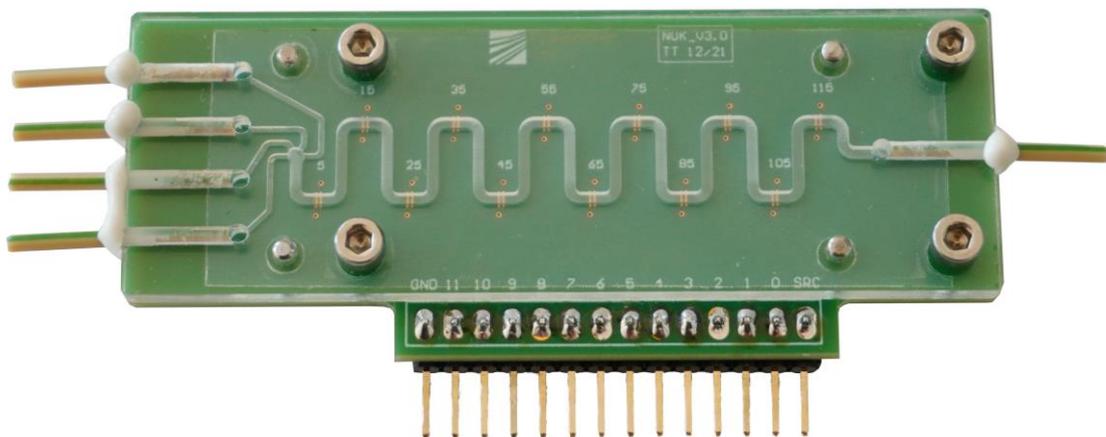


Abbildung 50: Sensorplatine der Systemvariante B mit montierter Kanalstruktur.

Die Sensorelektroden befinden sich auf einer eigenständigen Platine, die über einen 14-poligen Steckverbinder mit der Auswerteelektronik verbunden wird. Die Auswerteelektronik beinhaltet den Kapazitätssensor AD7142, einen Mikrocontroller zum Auslesen und Speichern der Messdaten und eine USB-Schnittstelle, über die die Auswerteelektronik an den Steuercomputer angeschlossen werden kann.

5.2 ABLAUF DES MARKIERUNGSPROZESSES

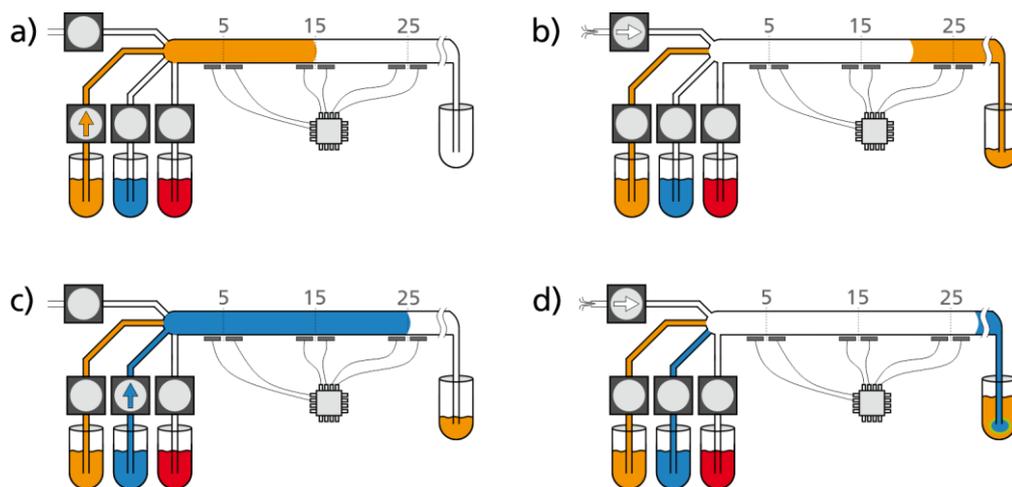


Abbildung 51: Das Dosierprinzip beruht auf dem Abmessen diskreter Volumina in einem Messkanal, die anschließend über einen Luftkolben in das Auslassgefäß transportiert werden. **(a)** Der zunächst leere Kanal wird mit einem Reagenz gefüllt, bis die gewünschte Fluidmenge (in der Grafik 15 μl) erreicht ist und die entsprechende Elektrode die Phasengrenze detektiert. **(b)** Der Kanalinhalt wird durch die Luftpumpe in das Auslassreservoir ausgestoßen. Die Rückschlagventile der Mikropumpen verhindern ein Rückfließen der Medien. **(c)** Das zweite Reagenz wird in den Kanal eingeführt, bis der gewünschte Füllstand erreicht ist. **(d)** Das zweite Reagenz wird ausgestoßen und vermischt sich im Auslassreservoir mit dem bereits dosierten Fluid.

Variante B des entwickelten Dosiersystems führt den Dosierprozess aus, indem schrittweise diskrete Volumenpakete einzelner Reagenzien im Messkanal abgemessen und anschließend in das Auslassgefäß ausgestoßen werden. Der Dosierablauf ist in Abbildung 51 dargestellt. Nach dem Befüllen der Einlassreservoirs wird eine einzelne Mikropumpe aktiviert. Die Pumpe fördert so lange Fluid in den Messkanal, bis an der Sensorelektrode, die dem gewünschten Dosiervolumen zugeordnet ist, die Phasengrenze der eintretenden Flüssigkeit erkannt wird (Abbildung 51a). Sobald die Phasengrenze detektiert wird, schaltet sich die Reagenzienpumpe ab und stattdessen wird die Luftpumpe aktiviert, die den Inhalt des Messkanals in das Auslassgefäß ausstößt (Abbildung 51b). Der Messkanal ist anschließend entleert und der Prozess kann wiederholt werden, wobei entweder dasselbe Reagenz ein zweites Mal dosiert wird oder ein anderes Reagenz zur Dosierung gewählt werden kann (Abbildung 51c und d).

Eine Mehrfachdosierung eines einzelnen Reagenzes muss dann durchgeführt werden, wenn das gewünschte Dosiervolumen größer als das maximale Füllvolumen des Messkanals ist. Der in dieser Arbeit gewählte Messkanal besitzt ein Innenvolumen von 115 μl . Für die Dosierung von Fluidvolumen größer als 115 μl muss demnach das Volumen in kleinere Einzelschritte unterteilt werden, die mit dem Messkanal abgemessen werden können.

Ein weiterer Grund für das Aufteilen des Dosiervolumens auf mehrere Einzelschritte ist die Auflösung der Volumenmessung. Durch die Dimensionierung des Fluidkanals und die Anordnung der Elektroden in 10- μ l-Schritten, beginnend ab 5 μ l, kann eine Auflösung von 5 μ l erreicht werden. Allerdings müssen dabei alle Paketgrößen, die ein Vielfaches von 10 μ l sind, auf eine gerade Anzahl Einzelschritte aufgeteilt werden. Beispielsweise ist eine Dosierung von 70 μ l nicht direkt möglich, obwohl das Volumen kleiner ist als das maximale Füllvolumen des Messkanals. Stattdessen muss diese Dosierung in zwei Einzelschritte aufgeteilt werden, etwa auf zwei Pakete mit je 35 μ l Volumen. Unter Berücksichtigung dieser Faktoren ergibt sich für das Radiomarkierungsprotokoll aus Kapitel 2.1.4 exemplarisch folgender Dosierplan:

Tabelle 5: Exemplarischer Dosierplan für das in Kapitel 2.1.4 gezeigte Radiomarkierungsprotokoll. Durch den Messkanal ist die maximale Größe der Einzel-Volumenpakete auf 115 μ l begrenzt, größere Volumina müssen in mehrere Einzelschritte unterteilt werden.

Dosierschritt	Reagenz	Einzelschritte	Gesamtvolumen
1	Radioisotop	55 μ l + 45 μ l + 45 μ l	145 μ l
2	Puffer	95 μ l + 85 μ l + 85 μ l + 85 μ l	350 μ l
3	Antikörper	75 μ l	75 μ l
4	Puffer	75 μ l + 75 μ l	150 μ l
Summe:			720 μl

5.3 STEUERSOFTWARE UND SIGNALVERARBEITUNG

Systemvariante B verwendet im Gegensatz zu Systemvariante A keine kontinuierlichen Kapazitätssensoren, sondern ausschließlich diskrete Positionssensoren. Das Steuerprogramm zum Abmessen und Dosieren eines Flüssigkeitspakets reduziert sich dadurch im Wesentlichen auf den in Abbildung 52 gezeigten Ablauf. Hintergrund-Funktionsaufrufe wie das Abfragen der Kapazitätsdaten und Logging-Funktionen, durch die kontinuierlich die aktuellen Messwerte und Systemevents gespeichert werden, sind für die Signalverarbeitung nicht relevant und werden deshalb an dieser Stelle nicht beschrieben.

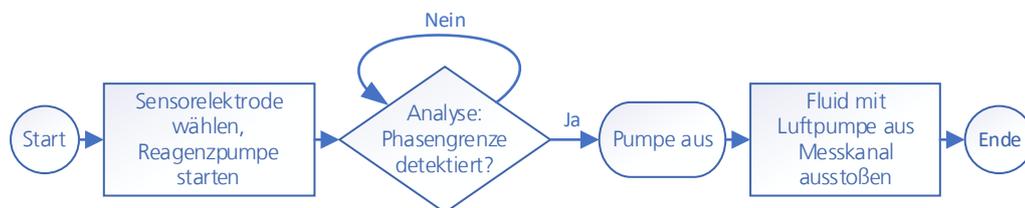


Abbildung 52: Programmablauf beim Abmessen eines definierten Volumens im Messkanal

Der Dosierprozess beginnt mit der Auswahl eines Reagenzes und eines Zielvolumens, das über seine zugehörige Sensorelektrode gewählt wird. Die Mikropumpe wird gestartet und beginnt mit der Dosierung des Reagenzes in den Messkanal. Während

die Pumpe in Betrieb ist, wird fortlaufend die Kapazität der gewählten Sensorelektrode gemessen und die so erhaltene Zeitserie auf das Auftreten einer Phasengrenze analysiert. Wird eine Phasengrenze an der gewählten Sensorelektrode erkannt, wird die Mikropumpe abgeschaltet und anschließend das in den Messkanal eindosierte Fluid durch die Luftpumpe aus dem Messkanal in das Auslassreservoir ausgestoßen.

Die Analyse des Kapazitätssignals auf das Eintreffen einer Phasengrenze erfordert Kenntnis über die zu erwartende Signalform, die von den elektrischen Eigenschaften des dosierten Fluids abhängt. Abbildung 53 bis Abbildung 56 zeigen typische Signalverläufe für DI-Wasser (Leitfähigkeit $0.05 \mu\text{S}/\text{cm}$) und zweimolare Kaliumcarbonatlösung (Leitfähigkeit $0.2 \text{ S}/\text{cm}$). Bei der Dosierung der leitfähigeren Kaliumcarbonatlösung zeigt sich typischerweise ein glatter Signalverlauf, bei dem das Auftreffen der Phasengrenze an der Sensorelektrode durch einen stufenartigen Kapazitätsabfall markiert wird. Zudem kommt es zu einem Kapazitätsverlust von etwa 10 fF , sobald die Flüssigkeit das erste Mal in den Eingangsbereich des Messkanals eintritt (Abbildung 53). Bei der Dosierung von kaum leitfähigem DI-Wasser mit der Mikropumpe zeigt sich dagegen meist ein sägezahnartiger Kapazitätsverlauf, dessen erstes Kapazitätsmaximum den Übergang der Phasengrenze markiert (Abbildung 54). Allerdings können bei der Dosierung von nichtleitenden Flüssigkeiten auch andere Signalverläufe beobachtet werden, bei denen, ähnlich wie bei nichtleitenden Flüssigkeiten, nur eine einzige Stufe im Kapazitätssignal auftritt. Da diese Variationen der Signalform bei der Dosierung von DI-Wasser mit einer isolierenden Einwegspritze nicht vorkommen (Abbildung 55) ist ihre Ursache vermutlich wieder bei der elektrischen Kontaktierung des Fluids über die Mikromembranpumpe zu suchen. Andere Ursachen wie Mikro-Luftblasen können jedoch nicht mit absoluter Sicherheit ausgeschlossen werden.

Aufgrund der Kapazitätsdrift, die unter anderem in Abbildung 53 erkennbar ist, reicht eine einfache Schwellwertanalyse nicht aus, um den Kapazitätssprung im Signalverlauf zu detektieren, der den Übergang der Phasengrenze über die Sensorelektrode markiert. Stattdessen erfolgt die Signalauswertung, indem das Kapazitätssignal zunächst über einen gleitenden Mittelwert mit drei Samples Fensterbreite geglättet und anschließend die Sampedifferenz berechnet wird ($C_{diff,i} = C_i - C_{i-1}$). Durch diese Art der Signalverarbeitung, die in Abbildung 56 anhand einer Auswahl von Kapazitätssignalen gezeigt wird, treten die Übergänge der Phasengrenzen deutlich als Minima aus dem Messsignal hervor und können nun einfach identifiziert werden.

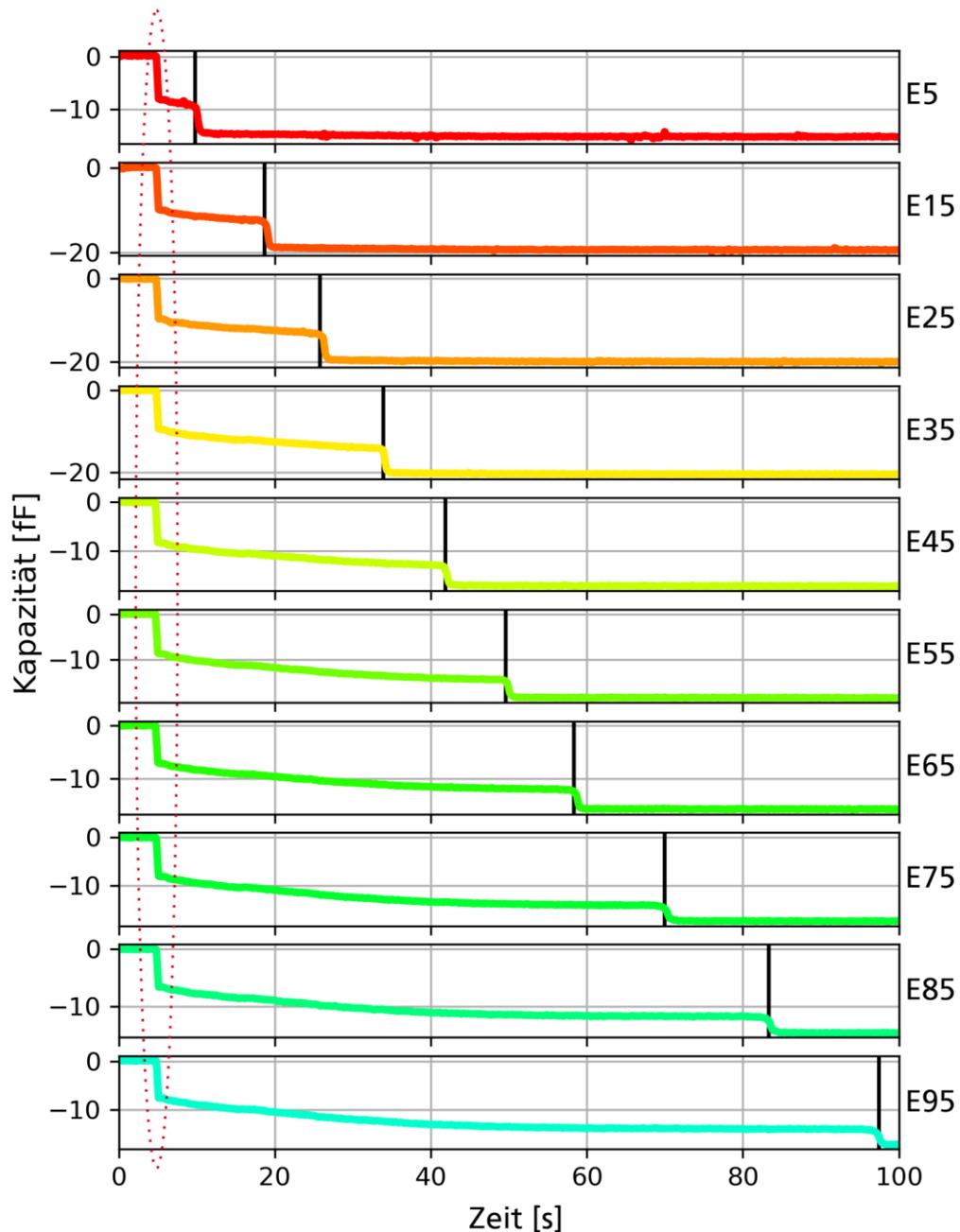


Abbildung 53: Kontinuierliches Befüllen des Messkanals mit $K_2CO_3(aq.)$ 2 mol/l; Leitfähigkeit 0.2 S/cm [148]. Beim ersten Eintreten der Flüssigkeit in den Messkanal kommt es zu einem deutlichen und gleichzeitigen Abfall der Kapazität an allen Elektroden (rotes Oval). Anschließend zeigt die Kapazitätsmessung einen glatten Kapazitätsverlauf mit leichter Drift, der durch einen weiteren Abfall der Kapazität beim Eintreffen der Phasengrenze an der jeweiligen Elektrode (schwarze Linien) unterbrochen wird. Nachdem die Phasengrenze über die Elektrode hinweggelaufen ist, stellt sich ein quasi driftfreier, konstanter Kapazitätsmesswert ein. (Kapazitätssignale geglättet über gleitendem Mittelwert und drei Samples Fensterbreite.)

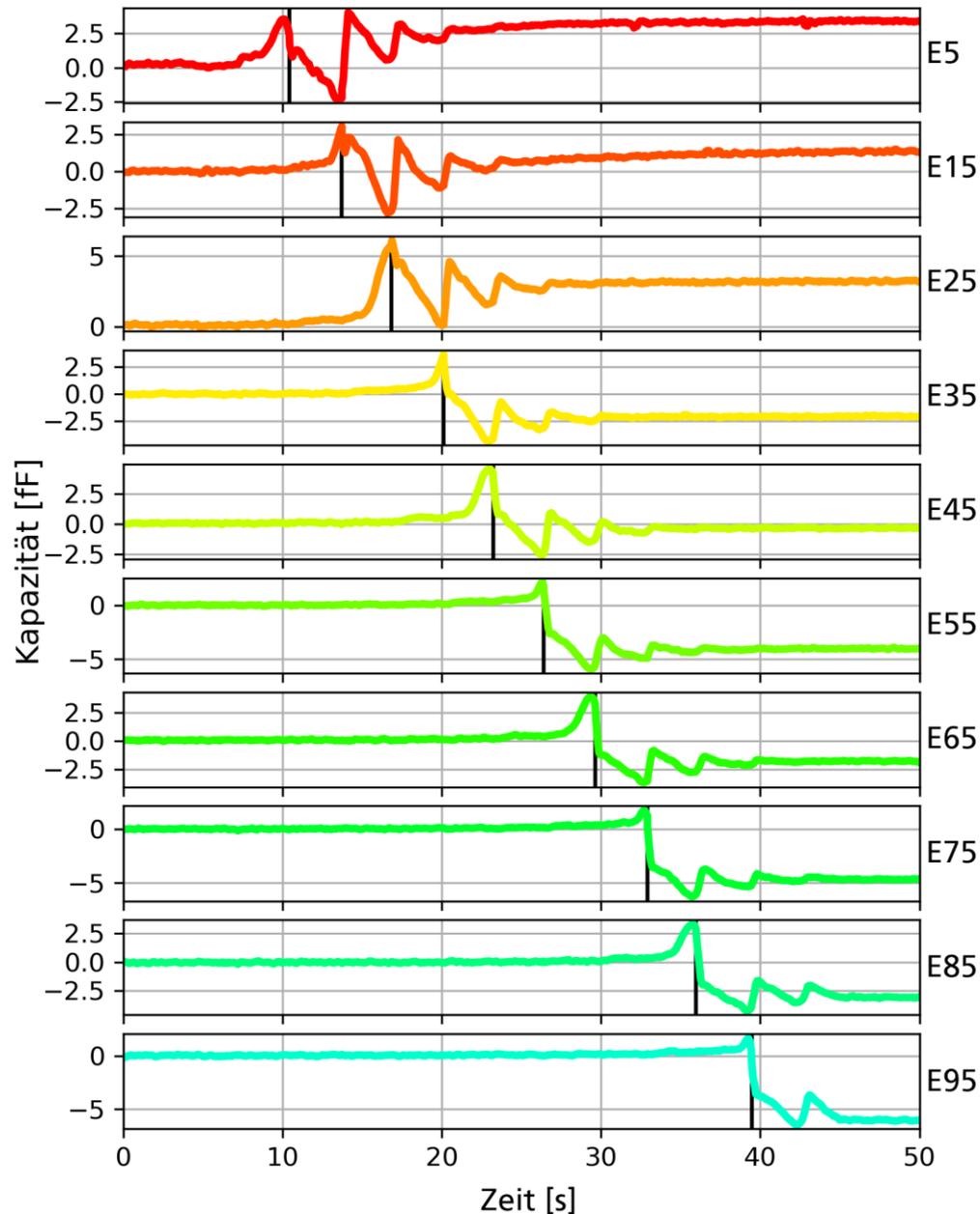


Abbildung 54: Kontinuierliches Befüllen eines anfangs trockenen Messkanals mit DI-Wasser. Schwarze, vertikale Linien markieren den Zeitpunkt, an dem die Phasengrenze die jeweilige Elektrode erreicht. Die Kapazität zeigt ein sägezahnartiges Profil, dessen erstes Maximum mit dem Auftreffen der Phasengrenze korreliert ist. Das nachfolgende Kapazitätsminimum tritt auf, sobald die Phasengrenze die nachfolgende Elektrode erreicht. Weitere Kapazitätsmaxima und -minima folgen mit sinkender Amplitude, bis sich die Kapazität auf einen konstanten Wert einpendelt. Eine weitere Beobachtung ist die Lage der Endkapazität der verschiedenen Elektroden. Bei den Sensorelektroden E5-E25, die am Anfang des Messkanals sitzen, ist die Endkapazität höher als die Startkapazität. (Kapazitätssignale geglättet mit gleitendem Mittelwert über drei Samples Fensterbreite.)

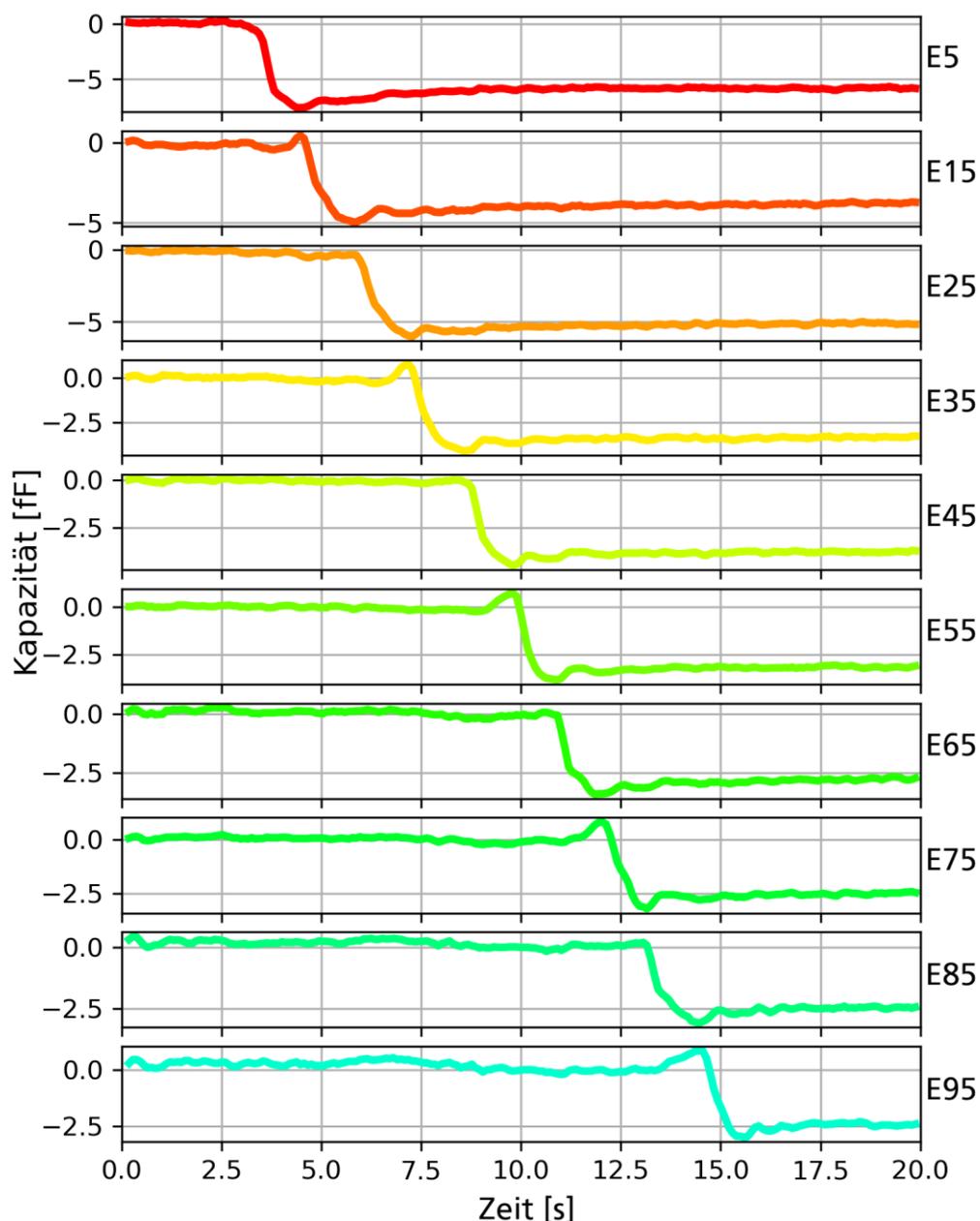


Abbildung 55: Kontinuierliches Befüllen des Meskanals mit DI-Wasser über eine Einwegspritze. Wenn die Phasengrenze eine Sensorelektrode erreicht, tritt das typische Signalverhalten auf, das beispielsweise auch in [135] und [139] beschrieben wird. Es besteht aus einem linearen Abfall der Kapazität zwischen zwei konstanten Kapazitätsniveaus, der durch Kapazitätsüber- und -unterschwinger flankiert sein kann. Das sägezahnartige Muster, das bei der Dosierung von DI-Wasser mit den Mikropumpen beobachtet wurde, tritt nicht auf. (Kapazitätssignale geglättet mit gleitendem Mittelwert über drei Samples Fensterbreite.)

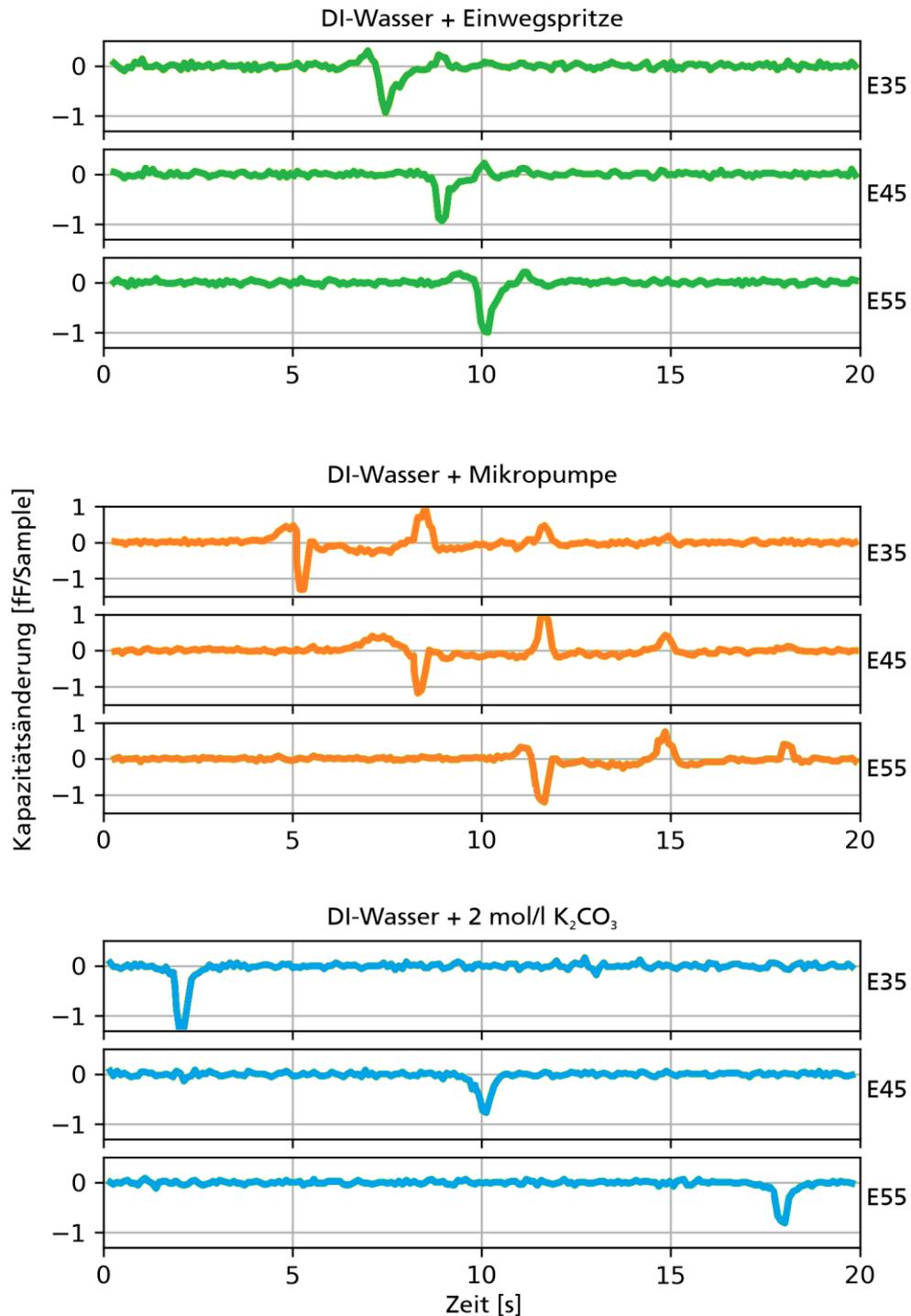


Abbildung 56: Kapazitätsänderung $C_i - C_{i-1}$ der in Abbildung 53 bis Abbildung 55 gezeigten Kapazitätssignale an einer Auswahl an Elektroden. Der Übergang der Phasengrenze zeigt sich stets als Minimum. Sobald die Kapazitätsänderung einen Wert kleiner als -0.5 fF/Sample zeigt, wird dies als Phasengrenze registriert. Die Auswertung funktioniert unabhängig von der Leitfähigkeit der Flüssigkeit und auch beim Auftreten von Nebenmaxima wie in Abbildung 54. (Kapazitätssignal vor Differenzbildung geglättet mit gleitendem Mittelwert und drei Samples Fensterbreite.)

Die beschriebene Signalauswertung durch gleitende Mittelwertbildung, Differenzbildung und anschließende Schwellwertüberprüfung erlaubt eine einfache und zuverlässige Detektion der Phasengrenze. Bei der Ausführung von Dosierungen kann es dennoch in seltenen Fällen zu Fehlerzuständen kommen. Diese können beispielsweise auftreten, wenn aufgrund von Kapillarkräften Restflüssigkeit in den Kanten und Biegungen des Mischkanals verbleibt, die nicht durch die Luftpumpe ausgestoßen wird. Beim erneuten Befüllen des Messkanals können sich diese Fluidpakete lösen und eine Fehldetektion auslösen. Eine Optimierung der Kanalgeometrie und des Kanalmaterials kann die Auftretenswahrscheinlichkeit dieses Fehlerfalls minimieren. Insbesondere sollten kleinere Kanaldurchmesser und eine hydrophobe Kanaloberfläche gewählt werden, damit das Fluid zuverlässiger aus dem Messkanal ausgestoßen wird. Auch das Verwenden eines runden Kanalquerschnitts und die damit verbundene Reduktion von Kapillarspalten verringert die Gefahr von im Kanal verbleibendem Fluid.

5.4 DOSIERGENAUIGKEIT

Die Dosiergenauigkeit von Systemvariante B wurde mittels eines gravimetrischen Messaufbaus untersucht. Dazu wurde DI-Wasser aus einem per Feinwaage (WXTP-26, Mettler Toledo, Columbus, OH, USA; Auflösung $\pm 1 \mu\text{g}$) überwachten Eingangsreservoir in den Messkanal dosiert, bis der gewünschte Füllstand erreicht wurde und das dabei verdrängte Volumen gemessen. Es wurden drei Zielvolumina getestet: 25 μl (Kanalstart), 65 μl (Kanalmitte) und 105 μl (Kanalende). Das Eintreffen der Phasengrenze an der dem Zielvolumen zugeordneten Sensorelektrode wurde in einer ersten Messreihe durch einen automatischen Algorithmus detektiert. In einer zweiten Messreihe wurde die Mikropumpe manuell angehalten, sobald sich die Phasengrenze gemäß optischer Kontrolle exakt an der Sensorelektrode befindet. Der Vergleich zwischen automatischen und manuellen Versuchen lässt Rückschlüsse auf die Dosiergenauigkeit zu, die unabhängig von Fertigungstoleranzen des Fluidkanals sind.

Die Ergebnisse des Versuchs sind in Abbildung 57 dargestellt. Bei der Erzeugung der 25- μl - und 65- μl -Volumen wurde das Zielvolumen mit hoher Genauigkeit erreicht (24.8 \pm 0.3 μl bzw. 65.5 \pm 1.0 μl bei automatischer und 25.0 \pm 0.4 μl bzw. 65.0 \pm 0.6 μl bei manueller Meniskusdetektion). Bei der Erzeugung der 105- μl -Volumen war die abgegebene Fluidmenge bei automatischer Pumpenabschaltung zu niedrig (100.9 \pm 1.2 μl). Ein Vergleich mit der manuell gesteuerten Messung zeigt allerdings, dass auch hier ein zu geringes Volumen dosiert wurde (102.3 \pm 1.0 μl statt 105 μl). Die Unterdosierung ist daher nicht auf einen systematischen Fehler bei der Signalauswertung, sondern auf ein fertigungsbedingtes Untermaß der

verwendeten Kanalstruktur in der zweiten Kanalhälfte zurückzuführen. Werden die Mittelwerte der Verteilungen verglichen, ergibt sich eine maximale Abweichung von 1.4 μl zwischen automatischer und manueller Meniskusdetektion.

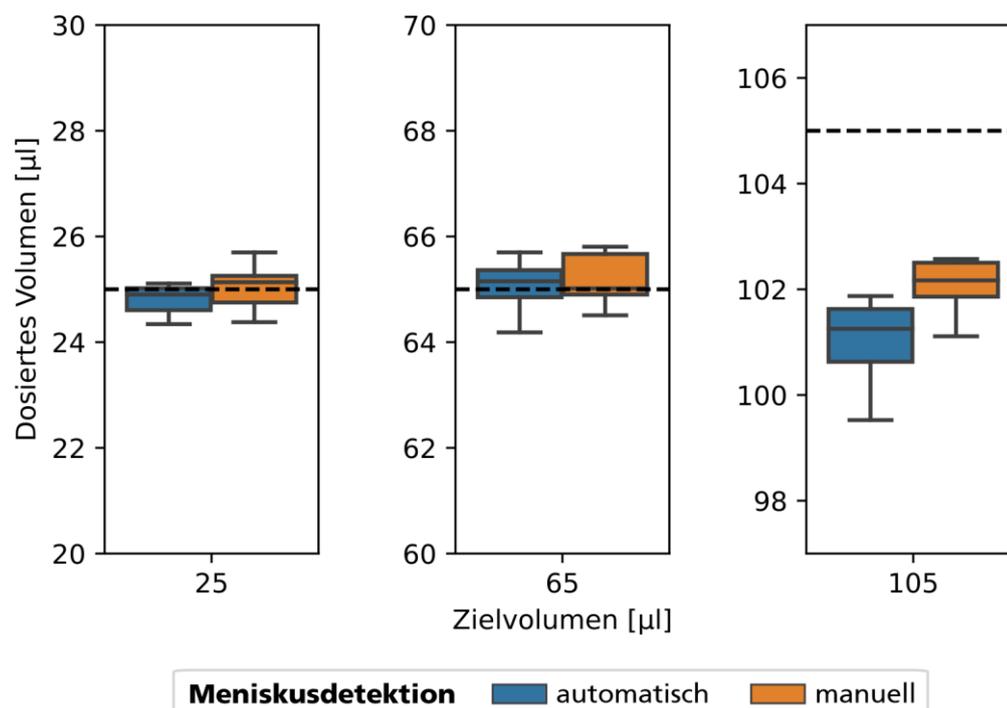


Abbildung 57: Ergebnisse der Dosiergenauigkeitsversuche mit Systemvariante B. Jeder Balken des Diagramms enthält mindestens $n=10$ Datenpunkte. Die Mittelwerte und Standardabweichungen für automatische Detektion der Phasengrenze sind: $24.8 \pm 0.3 \mu\text{l}$, $65.5 \pm 1.0 \mu\text{l}$, $100.9 \pm 1.2 \mu\text{l}$. Bei manueller Detektion der Phasengrenze: $25.0 \pm 0.4 \mu\text{l}$, $65.0 \pm 0.6 \mu\text{l}$, $102.3 \pm 1.0 \mu\text{l}$.

5.5 RADIOMARKIERUNG

Am 21. Februar 2022 wurden mit Systemvariante B zwei Radiomarkierungsdurchläufe am Klinikum rechts der Isar durchgeführt, bei denen F(ab)_2 -Anti-Gal3-Antikörperfragmente mit Zirkonium-89 markiert wurden. Der Versuchsaufbau ist in Abbildung 58 abgebildet. Zur Markierung wurde der in Kapitel 2.1.4 und Abbildung 5 gezeigte Prozess verwendet. Das Syntheseprodukt wurde nach der Dosierung für 30 Minuten bei einer Temperatur von 37°C inkubiert und anschließend mittels Größenausschlusschromatografie purifiziert. Der Prozess entspricht dem in Abschnitt 4.5.4 beschriebenen Protokoll. Die Ergebnisse der Aufreinigung sind in Tabelle 6 aufgelistet, die Gefäße 3.2 bis 5.2 enthalten das markierte Antikörperfragment. Bei jeder der zwei Synthesen konnte eine radiochemische Ausbeute von 21 % erzielt werden.



Abbildung 58: Das Dosiersystem (Variante B) in einer Bleiburg, die den Experimentator vor Gammastrahlung schützt. Im Vordergrund das auf 37°C beheizte Wasserbad.

Tabelle 6: Aufreinigungstabelle der zwei mit dem automatischen Dosiersystem durchgeführten Radiomarkierungen. Bei Dosis #1 wurden Phiole 3.2-5.2 zur Berechnung der radiochemischen Ausbeute (RCA) herangezogen, bei Dosis #2 Phiole 4.1-5.2. Nicht gelistete Phiole enthielten keine Aktivität. Die erzielte RCA betrug bei beiden Versuchsdurchläufen je 21 %.

	Phiole Nr.	3.2	4.1	4.2	5.1	5.2	6	Säule	Total	RCA
Dosis 1	Aktivität [μCi]	4	22	49	29	11	66	373	554	21%
Dosis 2	Aktivität [μCi]	0	6	34	47	19	37	365	508	21%

Bei weiteren Radiomarkierungsversuchen am 11. April 2022, bei denen drei weitere Dosen des Zirkonium-markierten Antikörpers hergestellt wurden, konnte dieses Versuchsergebnis wiederholt werden. Die radiochemische Ausbeute wurde bei diesem zweiten Syntheseversuch nicht aus dem Aufreinigungsprozess, sondern durch eine Dünnschichtchromatografie (DC) bestimmt. Der Vorteil der RCA-Bestimmung über DC gegenüber der (manuellen) Aufreinigung ist eine geringere Strahlenbelastung für den Anwender.

Bei der DC werden wenige Mikroliter des erzeugten Produktes auf einen Streifen Mikrofaser-Chromatografiepapier aufgebracht, das anschließend an einem Ende in Lösemittel eingetaucht wird. Das Lösemittel bewegt sich durch die Kapillarkräfte im Chromatografiepapier nach oben und transportiert dabei die Probenbestandteile mit sich, die abhängig von ihrer Größe unterschiedlich weit fortbewegt werden.

Nach Abschluss der Kapillarbewegung wird der Papierstreifen mit einer Gammakamera ausgewertet, wodurch sich eine Orts-Aktivitäts-Verteilung mit zwei deutlichen Maxima ergibt. Da sich das freie Zirkonium aufgrund seiner Größe schneller durch das Chromatografiepapier bewegt, als die markierten Antikörper kann das erste Maximum den Antikörpern und das zweite Maximum dem freien Zirkonium zugeordnet werden. Durch Integralbildung kann aus der Orts-Aktivitäts-Funktion die relative Aktivität und dadurch die RCA bestimmt werden.

Die erste hergestellte Dosis erzielte eine radiochemische Ausbeute von 21 %. Bei zweiter und dritter Dosis wurden durch einen Anwenderfehler pro Dosis etwa 35 µl zu viel Zirkonium zum Prozess zugeführt, was zu einer verringerten radiochemischen Ausbeute von nur 9 % bzw. 10 % bei diesen Proben führte. Durch einen Aufreinigungsschritt konnte das überschüssige, freie Zirkonium aber wie gewohnt von den markierten Antikörpern getrennt werden. Dies wurde an Dosis Nummer drei getestet. Dazu wurde das gesamte Produkt, das bei dieser Dosis hergestellt wurde, mit dem bereits beschriebenen Verfahren der Größenausschlusschromatografie getrennt, es ergab sich das folgende Ergebnis:

Tabelle 7: Aufreinigungstabelle der wiederholten Radiomarkierung (Dosis 3 von 3). Durch eine Überdosierung von ca. 35 µl Zirkoniumlösung kommt es zu einer Verringerung der radiochemischen Ausbeute. Per TLC wurde eine RCA von 10 % bestimmt, aus der Aufreinigungstabelle kann eine RCA von 12 % berechnet werden.

	Phiole Nr.	3.2	4.1	4.2	5.1	5.2	6	Säule	Total
Dosis 3	Aktivität [µCi]	6	35	27	13	22	150	384	637
		Radiochemische Ausbeute (Phiole 3.2-5.1) = 12 %							

Phiole 4.1 zeigt das Maximum der Radioaktivität, das durch die markierten Antikörper hervorgerufen wurde (erstes Aktivitätsmaximum). Eine HPLC-Analyse des Phioleninhalts ergab, dass in der Lösung über 99 % markierte Antikörper und weniger als 1 % freies Zirkonium enthalten waren. Das zusätzlich eingebrachte Zirkonium verringert also die radiochemische Ausbeute des Markierungsprozesses, kann aber durch den Aufreinigungsschritt vor der Anwendung am Patienten wieder entfernt werden.

Aus Gründen des Strahlenschutzes konnten die Markierungsversuche mit F(ab')₂-Fragmenten nicht von einer manuellen Synthese begleitet werden. In der Praxis wird bei manuell durchgeführten Radiomarkierungen mit vergleichbaren Markierungsprozessen und F(ab')₂-Fragmenten eine radiochemische Ausbeute von rund 50 % erreicht. In veröffentlichten Untersuchungen konnten bereits radiochemische Ausbeuten von bis zu 74 ± 4 % erzielt werden [63]. Allerdings wurde dabei ein optimierter Radiomarkierungsprozess durchgeführt, bei dem zum

Beispiel während der Radiosynthese in einem Zwischen-Dosierschritt Gentisinsäure zugegeben wurde, die als Radikalfänger die Antikörperfragmente vor der schädlichen, radioaktiven Strahlung schützt.

6 VERGLEICH DER SYSTEMVARIANTEN A UND B

In Kapitel 6 werden die Vor- und Nachteile der entwickelten Systemvarianten gegenübergestellt. Zunächst werden dazu der Systemaufbau und der Ablauf des Markierungsprozesses verglichen. Anschließend wird genauer auf die Unterschiede bei der kapazitiven Flusssensorik eingegangen und zuletzt die mit den zwei Systemvarianten durchgeführten Radiomarkierungsvorgänge betrachtet und die erzielten Markierungsergebnisse eingeordnet.

6.1 SYSTEMAUFBAU UND FUNKTIONSWEISE

Beide Systemvarianten verwenden drei 5 x 5 mm Siliziumpumpen zur Dosierung der Reagenzien und eine $\varnothing 20$ mm Stahl-Mikropumpe, um Fluid über eine Luftsäule aus dem System auszustoßen. Die Systeme sind modular aufgebaut, die Pumpenchips sind also nicht direkt in den gefrästen Fluidchip integriert, sondern als ansteckbare Komponente über das Testgehäuse angeschlossen. Ebenfalls identisch ist die Pumpen-Treiberschaltung und die Auswerteschaltung zur Messung der Elektrodenkapazitäten auf Basis des Kapazitäts-Digital-Wandlers AD7142. Der wesentliche Unterschied der Systemvarianten liegt im Ablauf des Markierungsprozesses, der sich jeweils in der Fluidkanalstruktur und den darauf angepassten kapazitiven Sensorelektroden zeigt.

Systemvariante A, die in Kapitel 4 beschrieben wird, verwendet eine gefräste Kanalstruktur mit drei aufeinanderfolgenden Mischkanälen, in die über alternierendes Pumpen kleinste Volumenpakete eindosiert werden. Das Gesamtvolumen eines Mischschritts ist über das jeweilige Kanalvolumen vorgegeben, das Mischverhältnis der Reagenzien kann dagegen über die kapazitive Sensorik erfasst und gesteuert werden. So können mit dem System beliebige Mischungen erzeugt werden. Systemvariante A zeichnet sich dadurch aus, dass der gesamte Mischprozess in einer geschlossenen Kanalstruktur stattfindet. Durch den Einschluss des gesamten radioaktiven Materials in die Kanalstruktur kann das Austreten von radioaktiven Tröpfchen ausgeschlossen werden. Ein weiterer Vorteil der geschlossenen Kanalstruktur ist, dass das Fluid beim Ausstoßen durch die Luftpumpe unter Druck gesetzt werden kann, was bei einem belüfteten Mischkanal nicht möglich ist. Dies ermöglicht ein potenzielles Weiterleiten des Fluids an eine Säule für den Aufreinigungsschritt, ohne dass zusätzliche Pumpen oder Ventile notwendig wären. Eine derartige Integration des Aufreinigungsschritts konnte in der entwickelten Systemvariante bislang nicht implementiert werden.

Die in Kapitel 5 beschriebene Systemvariante B besitzt im Gegensatz dazu lediglich einen singulären Messkanal, der über mehrere Eingänge für die Reagenzien und einen Ausgang zum Auslassreservoir verfügt. Die Komplexität der Kanalstruktur ist gegenüber Systemvariante A deutlich reduziert, dadurch konnte die zur Herstellung benötigte Fräsdauer von 27 Minuten pro Kanalstruktur bei Systemvariante A auf nur 7 Minuten bei Systemvariante B reduziert werden. Gleichzeitig konnte die Größe des Fluidchips durch den vereinfachten Aufbau von $55 \times 60 \text{ mm}^2$ auf $76 \times 26 \text{ mm}^2$ gesenkt werden, was einer Reduktion von 40 % entspricht.

Die Mischung der Reagenzien erfolgt bei Systemvariante B nicht direkt auf dem Fluidchip, sondern im angeschlossenen Auslassreservoir. Dazu werden im Messkanal mittels kapazitiver Positionssensoren diskrete Volumina der einzelnen Reagenzien abgemessen und anschließend durch die Luftpumpe in das Auslassgefäß weitertransportiert. Die mit diesem Systemaufbau erzielbare Dosiergenauigkeit hängt primär von der Kanalgeometrie und vom Abstand der Sensorelektroden ab. Aufgrund der für den gewählten Zirkonium-Markierungsprozess benötigten Volumina wurde in dieser Arbeit ein Messkanal mit $1 \times 1 \text{ mm}^2$ Querschnittsfläche verwendet, in dem über zwölf kapazitive Sensorelektroden Volumina von $5 \mu\text{l}$ bis $115 \mu\text{l}$ in $10\text{-}\mu\text{l}$ -Inkrementen abgemessen werden können. Eine Variation der Kanalgröße oder des Elektrodenabstands kann die Volumenauflösung jedoch leicht an andere Dosieranforderungen anpassen.

Die Entleerung des Messkanals von Systemvariante B am Ende jedes Dosierschrittes ermöglicht, dass mit einem einzelnen Fluidchip mehrere aufeinanderfolgende Radiomarkierungen durchgeführt werden können, solange die Einlassreservoirs ausreichend gefüllt sind. Auch ein Anpassen des Dosierprotokolls bzw. der dosierten Fluidvolumen ist bei Systemvariante B einfach möglich, da das Gesamtvolumen jedes Dosier- und Mischschrittes im Gegensatz zu Systemvariante A nicht fest über das Kanalvolumen vorgegeben ist. System B eignet sich daher auch für die Herstellung von Kleinstmengen markierter Antikörper für patientenindividuelle Radiopharmaka oder kann zur Durchführung von Parameterstudien, bei denen das Mischverhältnis der Reagenzien variiert wird, verwendet werden.

Bei Systemvariante A verbleibt im Gegensatz dazu nach Abschluss eines Markierungsvorgangs stets Restfluid in den ersten zwei Mischmäandern, da nur der Inhalt des letzten, dritten Mäanders in das Auslassreservoir ausgestoßen wird. Die verbleibende Flüssigkeit enthält aufgrund diffusiver Mischvorgänge immer etwas radioaktives Material. Bevor eine weitere Radiomarkierung durchgeführt werden kann, muss der Fluidchip ausgetauscht werden, was einen zusätzlichen Handhabungsschritt und zusätzliche radioaktive Belastung für den Anwender

bedeutet. Auch das Anpassen der Reagenzmenge oder das Umsetzen eines neuen Fluidprozesses ist bei Systemvariante A nicht ohne Weiteres möglich, da die Folge der Mischschritte und die Volumina über die Kanalgeometrie des Fluidchips vorgegeben sind. Eine Änderung des Markierungsprotokolls erfordert bei Systemvariante A demnach stets eine Anpassung der Kanalstruktur.

6.2 KAPAZITIVE SENSORIK

In Kapitel 3 wurden die zwei grundlegenden Sensorarten beschrieben, die in dieser Arbeit zur kapazitiven Dosierüberwachung verwendet werden. Einerseits kommen diskrete Positionssensoren zum Einsatz, die eine Phasengrenze am Ort der Elektrode erkennen können. Andererseits werden kontinuierliche Kapazitätssensoren eingesetzt, mit denen anhand eines kontinuierlichen Messwerts der Füllstand eines Kanals gemessen werden kann. In Systemvariante A werden beide Sensorarten verwendet: Positionssensoren kommen als „kapazitiver Endschalter“ zum Einsatz, um die vollständige Befüllung eines Kanalabschnittes anzuzeigen und kontinuierliche Sensoren werden verwendet, um das Mischverhältnis der Reagenzien in den Mäanderkanälen zu bestimmen und zu steuern. In Experimenten konnten mit diesem kombinierten Sensorsystem Mischungen mit $0.3 \pm 0.9 \%$ Mischgenauigkeit erzeugt werden.

Bei der Durchführung von Radiomarkierungen mit Systemvariante A konnten allerdings immer wieder Störungen der kapazitiven Sensorik beobachtet werden, die sich als Sprünge der gemessenen Kapazität äußern und zur Störung der Dosiersteuerung führen können. Die Ursache der Kapazitätssprünge wird in Kapitel 4.6 ausführlich beschrieben und kann auf Leitfähigkeitsunterschiede der gemischten Reagenzien in Kombination mit der Erdung der Fluide über die verwendeten Silizium-Mikropumpen zurückgeführt werden. Durch die Erdung des Fluids über die Mikropumpe wird das elektrische Feld zwischen Anregungs- und Messelektrode der kapazitiven Sensoren gestört, sodass keine zuverlässige Kapazitätsmessung mehr möglich ist. Zur Behebung des beschriebenen Problems können Mikropumpen eingesetzt werden, die beispielsweise aus undotiertem Silizium hergestellt werden oder über eine zusätzliche Isolationsschicht verfügen, durch die das Fluid gegenüber der Mikropumpe isoliert wird. Derartige Mikropumpen werden zwar aktuell an der Fraunhofer EMFT entwickelt, stehen aber kurzfristig nicht für Systemaufbauten zur Verfügung.

Um das Problem der Kapazitätssprünge zu beheben, wurde bei Systemvariante B auf den Einsatz von kontinuierlichen Kapazitätssensoren verzichtet und ausschließlich diskrete Positionssensoren zur Detektion der Fluidposition eingesetzt.

Zwar reagieren auch diese mit unterschiedlichen Signalverläufen auf verschieden leitfähige Fluide, der Übergang einer Phasengrenze über den Sensor ist aber stets als deutliche Kapazitätsänderung im Signalverlauf sichtbar und kann durch eine automatische Signalanalyse erkannt werden. Durch die Fluiddetektion an diskreten Kanalpositionen ergibt sich außerdem der Vorteil, dass die Volumenmessung unabhängig von der Permittivität der dosierten Reagenzien ist und deshalb nicht eigens kalibriert werden muss.

Bei beiden Systemvarianten kam als Kapazitätswandler der Sensorchip AD7142 zum Einsatz. Der Chip ist aufgrund der 14 möglichen Messkanäle und der hohen Messauflösung von 16 bit bei 4 pF Messbereich, sowie durch die einstellbare Offsetkompensation von bis zu 20 pF ideal für die Anforderungen der entwickelten Dosiersysteme geeignet, bei denen eine Vielzahl an Sensorelektroden mit unterschiedlichen Elektrodengeometrien zum Einsatz kommt. Hilfreich ist zudem die schnelle Aktualisierungsrate des Sensorchips von über 27 Hz (je nach Konfiguration), welche schnelle Steuerungsschritte ermöglicht. Generell ist die kapazitive Sensorik gut für Anwendungen in der Nuklearmedizin geeignet, da durch die berührungslose Flusssensorik eine Kontamination der Sensoren vermieden wird, wodurch diese mehrfach eingesetzt werden können.

6.3 RADIOMARKIERUNGSERGEBNISSE

Beide Systemvarianten konnten erfolgreich zur Durchführung von Radiomarkierungen eingesetzt werden. Die radiochemische Ausbeute lag bei Systemvariante A bei über 45 % und war damit höher als bei System B, mit dem bis zu 21 % erzielt werden konnten.

Beim Vergleich der Syntheseausbeute ist allerdings zu beachten, dass bei den Radiomarkierungen verschiedene Arten von Galectin-3-Antikörperfragmenten verwendet wurden. Die Versuche mit Systemvariante A wurden mit Fab-Fragmenten durchgeführt, die etwa 50 kDa Molekulargewicht besitzen. Bei Systemvariante B wurden dagegen F(ab')₂-Fragmenten eingesetzt, die etwa ~100 kDa wiegen. Da sowohl das dosierte Volumen als auch die Proteinkonzentration der Antikörperlösung in allen Experimenten bei 75 µl und 0.7 g/l konstant gehalten wurden, standen bei den Fab-Markierungen demnach doppelt so viele Antikörperfragmente zur Markierung zur Verfügung. Trotzdem wurde bei allen Experimenten die identische Menge Zirkonium zugegeben. Durch die Halbierung der Fragmentanzahl können auch nur halb so viele Zirkoniumatome an Fragmente gebunden werden, die radiochemische Ausbeute sinkt entsprechend. Auch wenn zwei Radiosynthesen mit unterschiedlichen Antikörperfragmenten nicht direkt

verglichen werden können, erlaubt die Abschätzung dennoch eine Begründung für die um knapp 50 % verringerte radiochemische Ausbeute der Markierungsexperimente mit Dosiervariante B. Durch eine Reduktion der Zirkoniummenge oder eine Erhöhung der Proteinkonzentration kann die radiochemische Ausbeute deutlich erhöht werden.

Bei der Bewertung der radiochemischen Ausbeute ist zudem zu beachten, dass nur eine beschränkte Anzahl an Versuchen mit realen Reagenzien durchgeführt werden konnte. Dies ist einerseits durch die Personalverfügbarkeit am Klinikum rechts der Isar und die hohen Kosten für die Reagenzien bedingt (~370 €/µCi für ⁸⁹Zr inkl. Lieferung in Abschirmbehälter). Außerdem standen für die Versuche auch nur begrenzt Mikropumpen zur Verfügung. Zwar ermöglicht die waferbasierte Herstellung der Silizium-Mikropumpen theoretisch eine günstige Massenfertigung, zum Zeitpunkt dieser Arbeit erfolgt die Fertigung der Pumpen allerdings noch im Labormaßstab und erfordert deshalb aufwendige manuelle Schritte bei Aufbau und Test. Da die Pumpen bei der Durchführung der Radiomarkierung mit Zirkonium oder Antikörpern kontaminiert werden, können die Pumpen nicht beliebig wiederverwendet werden. Außerdem degradieren die Mikropumpen bei Verwendung in einer Nicht-Reinraumumgebung mit ungefilterten Reagenzien, da sich in der Flüssigkeit befindliche Partikel und Mikrofasern in den Pumpenventilen und der Pumpkammer festsetzen und so zu einer Verschlechterung der fluidischen Leistung der Pumpen führen. Sobald eine regelmäßige Versorgung mit Mikropumpen etabliert ist, können aber Versuchsreihen durchgeführt werden, um durch eine Prozessoptimierung die radiochemische Ausbeute zu steigern.

Beide Systeme können prinzipiell nicht nur zur Markierung von Antikörpern, sondern auch zur Markierung anderer Proteine oder sogar für Zellmarkierungen eingesetzt werden. Erste Versuche, bei denen die Fraunhofer-Mikropumpen zur Dosierung einer zellbeladenen Flüssigkeit eingesetzt wurden konnten bereits erfolgreich durchgeführt werden. Herausfordernd bleibt hierbei aber die mechanische Belastung der Zellen durch die Mikropumpe, durch die die Zellen trotz optimierter Membranbewegung geschädigt werden können. [149]

7 ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK

In dieser Arbeit wurde die Entwicklung eines mikrofluidischen Dosiersystems zur Radiomarkierung von Antikörperfragmenten beschrieben, bei dem Mikropumpen der Fraunhofer EMFT zur Dosierung der Reagenzien und kapazitive Sensorik zur Flussüberwachung eingesetzt werden. Nach einer Einführung zum Fachbereich der Nuklearmedizin und der darin verwendeten Radiopharmaka wird ein Markierungsprozess vorgestellt, der am Klinikum rechts der Isar für die manuelle Radiomarkierung eingesetzt wird. Der Markierungsprozess besteht im Wesentlichen aus drei aufeinanderfolgenden Mischschritten und wird durch die in dieser Arbeit entwickelten Systeme automatisiert. Im Rahmen der Arbeit werden dafür zwei Systemvarianten entwickelt.

Systemvariante A verwendet einen komplexen Fluidchip mit einer an den Dosierprozess angepassten Kanalgeometrie, in dem die Reagenzien durch abwechselnde Dosierung kleinster Volumenpakete vermischt werden. Systemvariante B verwendet dagegen einen einfachen Messkanal, in dem diskrete Volumenpakete der einzelnen Reagenzien abgemessen und anschließend in ein Reaktionsgefäß ausgestoßen werden. Durch das geringe Hubvolumen der Mikropumpen von nur ~65 nl können die Reagenzien sehr genau dosiert werden. Im Zusammenspiel mit der realisierten, kapazitiven Sensorik können die benötigten Fluidmengen im Bereich bis zu mehreren hundert Mikrolitern mit einer Genauigkeit von besser als 1.5 % dosiert werden. Der Sensor-IC AD7142, der zum Messen der Elektrodenkapazität für die kapazitive Flusssensorik eingesetzt wurde, eignete sich aufgrund der hohen Auflösung, dem durch eine Offsetkompensation anpassbaren Messbereich und durch die 14 Messeingänge optimal für die Systemanforderungen.

Beide Systemvarianten konnten zur Radiomarkierung von Anti-Galectin-3-Antikörperfragmenten mit Zirkonium-89 in einem realitätsnahen Versuchsaufbau am Klinikum rechts der Isar getestet werden. Dabei konnten mit Systemvariante A ähnlich hohe radiochemische Ausbeuten (RCA) erzielt werden, wie sie auch bei manuellen Vergleichsversuchen erreicht werden (46 % mit dem Dosiersystem zu 56 % manuell). In Versuchen mit Systemvariante B, bei denen ein nicht auf die Antikörperfragmente angepasstes Dosierprotokoll ausgeführt wurde, konnten wiederholbare RCA von 21% erreicht werden, die in Zukunft durch gezielte Optimierung des Dosierprotokolls erhöht werden können.

Die Anwendung von Mikropumpen als fluidische Aktoren und die Verwendung von kapazitiver Sensorik und integrierter Auswerteelektronik ermöglichen einen extrem kompakten Aufbau der Systeme, die zudem unabhängig von weiterer

Laborinfrastruktur arbeiten können. Unterstrichen wird dies durch die Tatsache, dass die Systeme trotz des modularen Aufbaus bei den Experimenten ohne weitere Vorkehrungen in einer bereits bestehenden Bleiburg aufgebaut werden konnten.

Sobald die Mikropumpen in höherer Stückzahl für Versuche zur Verfügung stehen, können die Pumpenchips statt in einem eigenen Gehäuse direkt auf dem Fluidchip aufgebracht werden. Dadurch kann einerseits die Größe des gesamten Systemaufbaus und andererseits das fluidische Totvolumen und damit der Reagenzienverbrauch deutlich verringert werden. Außerdem sollen die mikropumpenbasierten Systeme in Zukunft zur Markierung von Radiopharmaka für einen präklinischen Tierversuch eingesetzt werden, um die Systemfunktionalität und die Handhabung und Strahlenbelastung für den Anwender in einem realen Anwendungsfall zu testen.

VERÖFFENTLICHUNGEN

Als Erstautor

T. Thalhofer, M. Keck, S. Kibler, and O. Hayden, "Capacitive Sensor and Alternating Drive Mixing for Microfluidic Applications Using Micro Diaphragm Pumps", *MDPI Sensors*, vol. 22, no. 3, 2022. <https://doi.org/10.3390/s22031273>. [146]

T. Thalhofer, F. Heinrich and O. Hayden, "Pressure Pulse Classification for Flow Disturbance Detection in Micro Diaphragm Pumps", in *MikroSystemTechnik Congress*, November 08-11, 2021; Stuttgart-Ludwigsburg; pp. 636-640; ISBN 978-3-8007-5656-8. [150]

T. Thalhofer, A. Bussmann, C. Durasiewicz, and O. Hayden, "Effect of Actuation Signal on Single Stroke Volume in Metal Micro Diaphragm Pumps", in *Actuator 2021: International Conference and Exhibition on New Actuator Systems and Applications, February 17-19, 2021*, H. Schlaak, Ed., Berlin, Offenbach: VDE Verlag GmbH, 2021, pp. 337–340. [124]

Als Koautor (Journal Paper)

A. Bußmann, T. Thalhofer, S. Hoffmann, L. Daum *et al.*, "Microfluidic Cell Transport with Piezoelectric Micro Diaphragm Pumps", *Micromachines*, vol. 12, no. 12, p. 1459, 2021. <https://doi.org/10.3390/mi12121459>. [149]

A. Bußmann, L. Grünerbel, C. Durasiewicz, T. Thalhofer *et al.*, "Microdosing for drug delivery application — A review", *Sensors and Actuators A: Physical*, vol. 330, p. 112820, 2021. [119]

Patentbeteiligungen

M. Richter, T. Thalhofer, L. Grünerbel. (2020): Drug Delivery System. European Patent No.: PCT/EP2020/064594. Filed 25.05.2020

M. Richter, J. Häfner, T. Thalhofer *et al.* (2021): Konzept zum Ermitteln äußerer Einflussfaktoren basierend auf dem Ansteuersignal eines Mikrofluidik-Bauelements. Deutsche Patentanmeldung 10-2021-214-091.2 (angemeldet)

LITERATUR

- [1] C. Tschoepe, M. Stark, and G. Brennan, *Deutsche Krebshilfe: Geschäftsbericht 2020*. Bonn, 2020.
- [2] Robert Koch-Institut, *Krebs in Deutschland für 2017/2018*, 2021.
- [3] M. F. Kircher and J. K. Willmann, "Molecular body imaging: MR imaging, CT, and US. part I. principles", *Radiology*, vol. 263, no. 3, pp. 633–643, 2012.
- [4] M. F. Kircher and J. K. Willmann, "Molecular body imaging: MR imaging, CT, and US. Part II. Applications", *Radiology*, vol. 264, no. 2, pp. 349–368, 2012.
- [5] R. Weissleder and M. J. Pittet, "Imaging in the era of molecular oncology", *Nature*, vol. 452, no. 7187, pp. 580–589, 2008.
- [6] R. Nutt, "The history of positron emission tomography", *Molecular Imaging & Biology*, vol. 4, no. 1, pp. 11–26, 2002.
- [7] J. Zhang and M. V. Knopp, Eds., *Advances in PET: The Latest in Instrumentation, Technology, and Clinical Practice*, 1st ed. Cham: Springer International Publishing, 2020.
- [8] M. F. Kircher, H. Hricak, and S. M. Larson, "Molecular imaging for personalized cancer care", *Molecular oncology*, vol. 6, no. 2, pp. 182–195, 2012.
- [9] T. Jones and D. Townsend, "History and future technical innovation in positron emission tomography", *Journal of medical imaging (Bellingham, Wash.)*, vol. 4, no. 1, p. 11013, 2017.
- [10] A. Yordanova et al., "Theranostics in nuclear medicine practice", *OncoTargets and therapy*, vol. 10, pp. 4821–4828, 2017.
- [11] J. H. Turner, "Recent advances in theranostics and challenges for the future", *The British journal of radiology*, vol. 91, no. 1091, p. 20170893, 2018.
- [12] O. de Dreuille et al., "Routine dosimetry in a nuclear medicine department", *Medecine et Armees*, no. 3t30, pp. 213–218, http://inis.iaea.org/search/search.aspx?orig_q=RN:33069399, 2002.
- [13] M. R. Kilbourn and P. J. H. Scott, *Handbook of Radiopharmaceuticals: Methodology and Applications*, 2nd ed. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons Ltd., 2021.
- [14] G. Pascali, P. Watts, and P. A. Salvadori, "Microfluidics in radiopharmaceutical chemistry", *Nuclear medicine and biology*, vol. 40, no. 6, pp. 776–787, 2013.
- [15] G. Pascali and L. Matesic, "How far are we from dose on demand of short-lived radiopharmaceuticals", *Perspectives on nuclear medicine for molecular diagnosis and integrated therapy*, pp. 79–92, 2016.
- [16] M. Volkmer, *Radioaktivität und Strahlenschutz*. Berlin, 2012.
- [17] C. B. Sampson, *Textbook of Radiopharmacy*: CRC Press, 1994.
- [18] R. M. de Kruijff, H. T. Wolterbeek, and A. G. Denkova, "A critical review of alpha radionuclide therapy—how to deal with recoiling daughters?", *Pharmaceuticals*, vol. 8, no. 2, pp. 321–336, 2015.
- [19] M. Wannemacher, F. Wenz, and J. Debus, *Strahlentherapie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2013.
- [20] W. Schlegel, C. P. Karger, and O. Jäkel, *Medizinische Physik*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2018.

- [21] H. Krieger, *Grundlagen der Strahlungsphysik und des Strahlenschutzes*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2019.
- [22] R. Protection, "ICRP publication 103", *Ann ICRP*, vol. 37, no. 2.4, p. 2, 2007.
- [23] K. Zum Winkel, *Nuklearmedizin*, 2nd ed. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 1990.
- [24] J.-P. Bayley and P. Devilee, "The Warburg effect in 2012", *Current opinion in oncology*, vol. 24, no. 1, pp. 62–67, 2012.
- [25] R. J. DeBerardinis and N. S. Chandel, "We need to talk about the Warburg effect", *Nature metabolism*, vol. 2, no. 2, pp. 127–129, 2020.
- [26] F. J. Primus, R. H. Wang, D. M. Goldenberg, and H. J. Hansen, "Localization of human GW-39 tumors in hamsters by radiolabeled heterospecific antibody to carcinoembryonic antigen", *Cancer research*, vol. 33, no. 11, pp. 2977–2982, 1973.
- [27] D. M. Goldenberg *et al.*, "Use of Radiolabeled Antibodies to Carcinoembryonic Antigen for the Detection and Localization of Diverse Cancers by External Photoscanning", *New England Journal of Medicine*, vol. 298, no. 25, pp. 1384–1388, 1978.
- [28] P. Chames, *Antibody Engineering*. Totowa, NJ: Humana Press, 2012.
- [29] M. R. Gill, N. Falzone, Y. Du, and K. A. Vallis, "Targeted radionuclide therapy in combined-modality regimens", *The Lancet Oncology*, vol. 18, no. 7, e414–e423, 2017.
- [30] W. Wei *et al.*, "ImmunoPET: Concept, Design, and Applications", *Chemical reviews*, vol. 120, no. 8, pp. 3787–3851, 2020.
- [31] LMU München, *Therapie von metastasierten Prostata-Tumoren mit Lu-177-PSMA-DKFZ-617*. [Online] Available: <http://www.klinikum.uni-muenchen.de/Klinik-und-Poliklinik-fuer-Nuklearmedizin/de/therapiestation/Therapie-von-boesartigen-Prostataerkrankungen/PSMA/index.html>. Accessed on: Mar. 26 2020.
- [32] IAEA, *Schematic figure overview of a Zr-89 labelled monoclonal antibody*. [Online] Available: <https://www.iaea.org/newscenter/news/new-crp-zr-89-production-and-zr-89-radiopharmaceuticals-f22071>. Accessed on: Oct. 01 2021.
- [33] E. A. Padlan, "Anatomy of the antibody molecule", *Molecular Immunology*, vol. 31, no. 3, pp. 169–217, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0161589094900019>, 1994.
- [34] G. M. Edelman, "Antibody structure and molecular immunology", *Science*, vol. 180, no. 4088, pp. 830–840, 1973.
- [35] F. W. R. Brambell, W. A. Hemmings, C. L. Oakley, and R. R. Porter, "The relative transmission of the fractions of papain hydrolyzed homologous γ -globulin from the uterine cavity to the foetal circulation in the rabbit", *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*, vol. 151, no. 945, pp. 478–482, 1960.
- [36] A. Nisonoff, F. C. Wissler, L. c. Lipman, and D. L. Woernley, "Separation of univalent fragments from the bivalent rabbit antibody molecule by reduction of disulfide bonds", *Archives of Biochemistry and Biophysics*, vol. 89, no. 2, pp. 230–244, 1960.
- [37] T. Kuwert, A. Bockisch, and P. J. Ell, Eds., *Nuklearmedizin: 143 Tabellen*, 4th ed. Stuttgart: Thieme, 2008.

- [38] J. Ermert, "18F-labelled intermediates for radiosynthesis by modular build-up reactions: newer developments", *BioMed research international*, vol. 2014, p. 812973, 2014.
- [39] T. Kroner, A. Margulies, S. Rothschild, and C. Studer, *Medikamente in der Tumorthherapie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2020.
- [40] K. Kossert and O. J. Nähle, "Long-term measurements of ^{36}Cl to investigate potential solar influence on the decay rate", *Astroparticle Physics*, vol. 55, pp. 33–36, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927650514000139>, 2014.
- [41] E. Oberhausen, R. Berberich, G. Brill, B. Glöbel, and R. Kunkel, *Technik der Nuklearmedizin*, 4th ed. Köln: Deutscher Ärzte-Verlag Köln, 1990.
- [42] N. S. Ha, S. Sadeghi, and R. M. van Dam, "Recent Progress toward Microfluidic Quality Control Testing of Radiopharmaceuticals", *Micromachines*, vol. 8, no. 11, 2017.
- [43] N. Gillings *et al.*, "Guideline on current good radiopharmacy practice (cGRPP) for the small-scale preparation of radiopharmaceuticals", *EJNMMI radiopharmacy and chemistry*, vol. 6, no. 1, p. 8, 2021.
- [44] M. Wrzesień, J. Olszewski, and J. Jankowski, "Hand exposure to ionising radiation of nuclear medicine workers", *Radiation protection dosimetry*, vol. 130, no. 3, pp. 325–330, 2008.
- [45] G. Wunderlich, R. Freudenberg, H. Hartmann, P. Herrling, and J. Kotzerke, "Strahlenexposition bei der Herstellung von Radiopharmaka im nuklearmedizinischen Routinelabor, gemessen mit optisch stimulierten Lumineszenzdetektoren (OSL)", *Nuklearmedizin*, vol. 58, no. 06, pp. 470–473, 2019.
- [46] M. Budinsky and S. Kozakova, "Experience with instrumental methods in radiopharmacy as a tool of radiation protection optimization", *European Journal of Oncology Pharmacy*, vol. 1, no. 1, e0002, 2018.
- [47] F. C. J. van de Watering *et al.*, "Zirconium-89 labeled antibodies: a new tool for molecular imaging in cancer patients", *BioMed research international*, vol. 2014, p. 203601, 2014.
- [48] Jack Schubert, "Treatment of Plutonium Poisoning by Metal Displacement", *Science*, vol. 105, no. 2728, pp. 389–390, 1947.
- [49] J. MEALEY, "Turn-over of Carrier-free Zirconium-89 in Man", *Nature*, vol. 179, no. 4561, pp. 673–674, 1957.
- [50] J. M. Link *et al.*, " ^{89}Zr for antibody labeling and positron emission tomography", *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*, vol. 23, no. 10-1, pp. 1297–1298, http://inis.iaea.org/search/search.aspx?orig_q=RN:18082035, 1986.
- [51] L. R. Perk *et al.*, "Preparation and evaluation of (^{89}Zr -Zevalin for monitoring of (^{90}Y -Zevalin biodistribution with positron emission tomography", *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*, vol. 33, no. 11, pp. 1337–1345, 2006.
- [52] J. R. Dilworth and S. I. Pascu, "The chemistry of PET imaging with zirconium-89", *Chemical Society reviews*, vol. 47, no. 8, pp. 2554–2571, 2018.
- [53] G. W. Severin, J. W. Engle, R. J. Nickles, and T. E. Barnhart, " ^{89}Zr Radiochemistry for PET", *Medicinal chemistry (Sharjah (United Arab Emirates))*, vol. 7, no. 5, pp. 389–394, 2011.

- [54] A. R. Jalilian and J. A. Osso, "Production, applications and status of zirconium-89 immunoPET agents", *J Radioanal Nucl Chem*, vol. 314, no. 1, pp. 7–21, 2017.
- [55] S. L. Queern *et al.*, "Production of Zr-89 using sputtered yttrium coin targets 89Zr using sputtered yttrium coin targets", *Nuclear medicine and biology*, vol. 50, pp. 11–16, 2017.
- [56] M. K. Pandey, H. P. Engelbrecht, J. P. Byrne, A. B. Packard, and T. R. DeGrado, "Production of 89Zr via the 89Y(p,n)89Zr reaction in aqueous solution: effect of solution composition on in-target chemistry", *Nuclear medicine and biology*, vol. 41, no. 4, pp. 309–316, 2014.
- [57] Y. Y. Janjigian *et al.*, "Monitoring afatinib treatment in HER2-positive gastric cancer with 18F-FDG and 89Zr-trastuzumab PET", *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*, vol. 54, no. 6, pp. 936–943, 2013.
- [58] M. Chomet *et al.*, "Head-to-head comparison of DFO* and DFO chelators: selection of the best candidate for clinical 89Zr-immuno-PET", *European Journal of Nuclear Medicine*, vol. 48, no. 3, pp. 694–707, 2021.
- [59] D. S. Abou, T. Ku, and P. M. Smith-Jones, "In vivo biodistribution and accumulation of 89Zr in mice", *Nuclear medicine and biology*, vol. 38, no. 5, pp. 675–681, 2011.
- [60] E. B. Silberstein, "Radioiodine: the classic theranostic agent", *Seminars in nuclear medicine*, vol. 42, no. 3, pp. 164–170, 2012.
- [61] S. Califice, V. Castronovo, and F. van den Brùle, "Galectin-3 and cancer (Review)", *Int J Oncol*, vol. 25, no. 4, pp. 983–1075, 2004.
- [62] F. de Rose *et al.*, "Galectin-3 Targeting in Thyroid Orthotopic Tumors Opens New Ways to Characterize Thyroid Cancer", *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*, vol. 60, no. 6, pp. 770–776, 2019.
- [63] Z. Varasteh *et al.*, "Imaging atherosclerotic plaques by targeting Galectin-3 and activated macrophages using (89Zr)-DFO- Galectin3-F(ab')2 mAb", *Theranostics*, vol. 11, no. 4, pp. 1864–1876, 2021.
- [64] A. J. Poot *et al.*, "Fully Automated 89Zr Labeling and Purification of Antibodies", *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*, vol. 60, no. 5, pp. 691–695, 2019.
- [65] M. Hahn, "Galectin-3 und seine Bedeutung bei der Stromareaktion von Tumoren", 2012.
- [66] H. Inohara and A. Raz, "Functional evidence that cell surface galectin-3 mediates homotypic cell adhesion", *Cancer research*, vol. 55, no. 15, pp. 3267–3271, 1995.
- [67] E. Peplau *et al.*, "Effective rational humanization of a PASylated anti-galectin-3 Fab for the sensitive PET imaging of thyroid cancer in vivo", *Scientific reports*, vol. 11, no. 1, p. 7358, 2021.
- [68] C. M. H. Ferreira, I. S. S. Pinto, E. V. Soares, and H. M. V. M. Soares, "(Un)suitability of the use of pH buffers in biological, biochemical and environmental studies and their interaction with metal ions – a review", *RSC Adv.*, vol. 5, no. 39, pp. 30989–31003, 2015.

- [69] R. Hernandez *et al.*, "Radiosensitivity of Fluorophores: Implications for Dual-Modality Imaging", *Journal of Nuclear medicine*, vol. 56, no. supplement 3, p. 616, 2015.
- [70] H. H. Coenen *et al.*, "Open letter to journal editors on: International Consensus Radiochemistry Nomenclature Guidelines", *Annals of nuclear medicine*, vol. 32, no. 3, pp. 236–238, 2018.
- [71] J. W. Brodack, M. R. Kilbourn, M. J. Welch, and J. A. Katzenellenbogen, "Application of Robotics to Radiopharmaceutical Preparation: Controlled Synthesis of Fluorine-18 16 α -Fluoroestradiol-17 β ", *Journal of Nuclear medicine*, no. 27, pp. 714–721, 1986.
- [72] P. Elsinga *et al.*, "Guidance on current good radiopharmacy practice (cGRPP) for the small-scale preparation of radiopharmaceuticals", *European Journal of Nuclear Medicine*, vol. 37, no. 5, pp. 1049–1062, 2010.
- [73] M. F. A. Fadzil, Z. Ashhar, and Z. M. Safee, "Upgrades and regulatory aspects of [18F]Fluorodeoxyglucose ([18F]FDG) production using the FASTLab2 synthesizer", *J Radioanal Nucl Chem*, vol. 331, no. 1, pp. 99–110, 2022.
- [74] M. Haka, J. Walsh, and E. Webster, "Cleaning Validation Concepts for Commercial Radiopharmaceutical Manufacturing: Haka, M., Walsh, J., & Webster, E. (2017, May). Cleaning Validation Concepts for Commercial Radiopharmaceutical Manufacturing. In JOURNAL OF LABELLED COMPOUNDS & RADIOPHARMACEUTICALS (Vol. 60, pp. S632-S632). 111 RIVER ST, HOBOKEN 07030-5774, NJ USA: WILEY.", *Journal of Labelled Compounds & Radiopharmaceuticals*, vol. 60, p. 632, 2017.
- [75] GE Healthcare, "Datenblatt GE FASTlab 2", Waukesha, WI, USA DOC1666396, 2015. [Online] Available: www.gehealthcare.com. Accessed on: Sep. 30 2021.
- [76] H. Jiang, M. K. Jain, and H. Cai, "HPLC-free and cassette-based nucleophilic production of [(18)F]FDOPA for clinical use", *Am J Nucl Med Mol Imaging*, vol. 11, no. 4, pp. 290–299, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34513282>, 2021.
- [77] R. Edwards, H. E. Greenwood, G. McRobbie, I. Khan, and T. H. Witney, "Robust and Facile Automated Radiosynthesis of 18FFSPG on the GE FASTlab", *Molecular imaging and biology*, 2021.
- [78] Y.-Y. Huang *et al.*, "A two-center study for the quality control of (18)FFDG using FASTlab phosphate cassettes", *Annals of nuclear medicine*, vol. 30, no. 8, pp. 563–571, 2016.
- [79] K. A. Cybulska, V. Bloemers, L. R. Perk, and P. Laverman, "Optimised GMP-compliant production of 18FDPA-714 on the Trasis AllinOne module", *EJNMMI radiopharmacy and chemistry*, vol. 6, no. 1, p. 20, 2021.
- [80] S. Li, A. Schmitz, H. Lee, and R. H. Mach, "Automation of the Radiosynthesis of Six Different 18F-labeled radiotracers on the AllinOne", *EJNMMI radiopharmacy and chemistry*, vol. 1, no. 1, p. 15, 2017.
- [81] ORA, "Datenblatt NEPTIS perform", https://www.neptis-versa.com/ora_platform/neptis-perform/, 2018.
- [82] A. Pees, A. D. Windhorst, M. J. W. D. Vosjan, V. Tadino, and D. J. Vugts, "Synthesis of [18F]Fluoroform with High Molar Activity", *Eur. J. Org. Chem.*, vol. 2020, no. 9, pp. 1177–1185, 2020.
- [83] S. Jivan, G. Villeret, K. Neumannn, J. Slater, and H. Vanbrocklin, "Implementation of [18F]GE-180 for routine production on ORA Neptis

- Perform Synthesizer®", *AIP Conference Proceedings*, no. 1845, <https://doi.org/10.1063/1.4983543>, 2017.
- [84] Eckert & Ziegler Eurotope GmbH, "Datasheet Modular-Lab PharmTracer: Cassette-based solution for routine production", Berlin, Mar. 2021. [Online] Available: www.radiopharma.com. Accessed on: Sep. 30 2021.
- [85] M. Petrik *et al.*, "Radiolabelling of peptides for PET, SPECT and therapeutic applications using a fully automated disposable cassette system", *Nuclear medicine communications*, vol. 32, no. 10, pp. 887–895, 2011.
- [86] Eckert & Ziegler Eurotope GmbH, "Modular-Lab eazy Datasheet", Berlin, Nov. 2018. [Online] Available: www.radiopharma.com. Accessed on: Mar. 20 2022.
- [87] S. Boschi, F. Lodi, C. Malizia, G. Cicoria, and M. Marengo, "Automation synthesis modules review", *Applied radiation and isotopes : including data, instrumentation and methods for use in agriculture, industry and medicine*, vol. 76, pp. 38–45, 2013.
- [88] A. R. Sowa *et al.*, "Futureproofing 18FFludeoxyglucose manufacture at an Academic Medical Center", *EJNMMI radiopharmacy and chemistry*, vol. 3, p. 12, 2018.
- [89] Uwe Ackermann, Jason S. Lewis, Kenneth Young, Michael J. Morris, Andrew Weickhardt, Ian D. Davis, Andrew M. Scott, "FLEXLAB Brochure: Multi-step 18F radiotracer production lab", Rowville, Australien, 2021. [Online] Available: <https://www.iphase.com.au/assets/flexlab-brochure.pdf>. Accessed on: Mar. 24 2022.
- [90] U. Ackermann *et al.*, "Fully automated synthesis of (18) Ffluoro-dihydrotestosterone ((18) FFDHT) using the FlexLab module", *Journal of Labelled Compounds & Radiopharmaceuticals*, vol. 59, no. 10, pp. 424–428, 2016.
- [91] S. Lindner *et al.*, "Automated production of 18FSiTATE on a Scintomics GRP™ platform for PET/CT imaging of neuroendocrine tumors", *Nuclear medicine and biology*, vol. 88-89, pp. 86–95, 2020.
- [92] ITM Medical Isotopes GmbH, "ITM Brochure iQS TS", 85748 Garching/Munich, Sep. 2021. [Online] Available: https://itm-radiopharma.com/fileadmin/user_upload/products/ITM_Brochure_iQS-TS_8.0_web.pdf. Accessed on: Sep. 30 2021.
- [93] N. Boonkawin and C. Chotipanich, "The first radiolabeled 68Ga-FAPI-46 for clinical PET applications using a fully automated iQS-TS synthesis system in Thailand", *J Chulabhorn Royal Acad*, vol. 3, pp. 180–188, <https://he02.tci-thaijo.org/index.php/jcra/article/view/249531>, 2020.
- [94] Elysia-raytest GmbH, Ed., "Gaia V2 product Flyer", Straubenhardt, Deutschland, 2022. [Online] Available: www.elysia-raytest.com. Accessed on: Mar. 24 2022.
- [95] M. Meisenheimer, S. Kürpig, M. Essler, and E. Eppard, "Manual vs automated 68 Ga-radiolabelling-A comparison of optimized processes", *Journal of Labelled Compounds & Radiopharmaceuticals*, vol. 63, no. 4, pp. 162–173, 2020.
- [96] GE Healthcare, "TRACERlab* FX M - Data Sheet", Waukesha, WI RDPH-0138-06.11-EN-US, 2022. [Online] Available: www.gehealthcare.com. Accessed on: Mar. 19 2022.

- [97] L. Allott, C. Da Pieve, D. R. Turton, and G. Smith, "A general [18F]AlF radiochemistry procedure on two automated synthesis platforms", *React. Chem. Eng.*, vol. 2, no. 1, pp. 68–74, 2017.
- [98] J.-P. Meyer, P. Adumeau, J. S. Lewis, and B. M. Zeglis, "Click Chemistry and Radiochemistry: The First 10 Years", *Bioconjugate chemistry*, vol. 27, no. 12, pp. 2791–2807, 2016.
- [99] L. Allott *et al.*, "Radiolabelling an 18F biologic via facile IEDDA "click" chemistry on the GE FASTLab™ platform", *Reaction chemistry & engineering*, vol. 6, no. 6, pp. 1070–1078, 2021.
- [100] M. Lazari *et al.*, "ELIXYS - a fully automated, three-reactor high-pressure radiosynthesizer for development and routine production of diverse PET tracers", *EJNMMI research*, vol. 3, no. 1, p. 52, 2013.
- [101] F. Füchtner, S. Preusche, P. Mäding, J. Zessin, and J. Steinbach, "Factors affecting the specific activity of [18F]fluoride from a [18O]water target", *Nuklearmedizin*, vol. 47, no. 03, pp. 116–119, 2008.
- [102] G. Pascali, G. Mazzone, G. Saccomanni, C. Manera, and P. A. Salvadori, "Microfluidic approach for fast labeling optimization and dose-on-demand implementation", *Nuclear medicine and biology*, vol. 37, no. 5, pp. 547–555, 2010.
- [103] C.-C. Lee *et al.*, "Multistep Synthesis of a Radiolabeled Imaging Probe Using Integrated Microfluidics", *Science*, vol. 310, no. 5755, pp. 1793–1796, 2005.
- [104] S. H. Liang *et al.*, "First human use of a radiopharmaceutical prepared by continuous-flow microfluidic radiofluorination: proof of concept with the tau imaging agent 18FT807", *Molecular imaging*, vol. 13, 2014.
- [105] A. Lebedev *et al.*, "Batch-reactor microfluidic device: first human use of a microfluidically produced PET radiotracer", *Lab on a chip*, vol. 13, no. 1, pp. 136–145, 2013.
- [106] S. H. Liang *et al.*, "Microfluidic continuous-flow radiosynthesis of 18FFPEB suitable for human PET imaging", *MedChemComm*, vol. 5, no. 4, pp. 432–435, 2014.
- [107] D. T. Chiu *et al.*, "Small but Perfectly Formed? Successes, Challenges, and Opportunities for Microfluidics in the Chemical and Biological Sciences", *Chem*, vol. 2, no. 2, pp. 201–223, 2017.
- [108] L. Matesic, "[18F]Radiochemistry using the NanoTek Microfluidic Synthesis System", *Aust. J. Chem.*, vol. 66, no. 11, p. 1459, 2013.
- [109] G. Pascali *et al.*, "Hardware and software modifications on the Advion NanoTek microfluidic platform to extend flexibility for radiochemical synthesis", *Applied radiation and isotopes : including data, instrumentation and methods for use in agriculture, industry and medicine*, vol. 84, pp. 40–47, 2014.
- [110] O. Ovdiiichuk *et al.*, "Implementation of iMiDEV™, a new fully automated microfluidic platform for radiopharmaceutical production", *Lab on a chip*, 2021.
- [111] O. Ovdiiichuk, E. Roeder, S. Billotte, N. Veran, and C. Collet, "Fully Automated Macro- and Microfluidic Production of 68GaGa-Citrate on mAIO® and iMiDEV™ Modules", *Molecules (Basel, Switzerland)*, vol. 27, no. 3, 2022.

- [112] C. Frank *et al.*, "Development and implementation of ISAR, a new synthesis platform for radiopharmaceutical production", *EJNMMI radiopharmacy and chemistry*, vol. 4, no. 1, p. 24, 2019.
- [113] M. Hallworth, "EU GMP Annex 1 clears the air for sterile manufacturing", *CleanRooms*, vol. 22, no. 6, p. 32, 2008.
- [114] W. Weber, "Gespräch über Herausforderungen nuklearmedizinischer Synthesegeräte am Klinikum Rechts der Isar", Mündlich, 2019.
- [115] O. Sumant, "Automated Radiosynthesis Modules Market - Global Opportunity Analysis and Industry Forecast, 2014-2022", USA A01433, Nov. 2016. [Online] Available: <https://www.alliedmarketresearch.com/automated-radio-synthesis-modules-market#:~:text=The%20average%20cost%20of%20automated,growth%20in%20the%20commercial%20market>. Accessed on: Mar. 22 2022.
- [116] P. Woias, "Micropumps—past, progress and future prospects", *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 105, no. 1, pp. 28–38, 2005.
- [117] Y.-N. Wang and L.-M. Fu, "Micropumps and biomedical applications – A review", *Microelectronic Engineering*, vol. 195, pp. 121–138, 2018.
- [118] H. Asadi Dereshgi, H. Dal, and M. Z. Yildiz, "Piezoelectric micropumps: state of the art review", *Microsyst Technol*, vol. 27, no. 12, pp. 4127–4155, 2021.
- [119] A. B. Bußmann *et al.*, "Microdosing for drug delivery application—A review", *Sensors and Actuators A: Physical*, vol. 330, p. 112820, 2021.
- [120] M. Richter, R. Linnemann, and P. Woias, "Robust design of gas and liquid micropumps", *Sensors and Actuators A: Physical*, no. 68, pp. 480–486, 1998.
- [121] M. Herz, M. Richter, and M. Wackerle, "Method for manufacturing a bending transducer, a micro pump and a micro valve, micro pump and micro valve," US9410641B2, Deutschland.
- [122] M. Richter *et al.*, "Miniaturized drug delivery system TUDOS with accurate metering of microliter volumes", *SENSOR, International Conference on Sensors and Measurement Technology*, vol. 16, pp. 420–425, 2013.
- [123] H. Leistner *et al.*, "Robust Silicon Micropump of Chip Size 5x5x0.6 mm³ with 4 ml/min Air and 0.5 ml/min Water Flow Rate for Medical and Consumer Applications" in *ACTUATOR; International Conference and Exhibition on New Actuator Systems and Applications 2021*, VDE, Ed., 2021, pp. 113–116.
- [124] T. Thalhofer, A. Bussmann, C. Durasiewicz, and O. Hayden, "Effect of Actuation Signal on Single Stroke Volume in Metal Micro Diaphragm Pumps" in *GMM-Fachbericht*, vol. 98, *Actuator 2021: International Conference and Exhibition on New Actuator Systems and Applications : GMM Conference, February 17-19, 2021, online event*, H. Schlaak, Ed., Berlin, Offenbach: VDE Verlag GmbH, 2021, pp. 337–340.
- [125] M. S. Cheri *et al.*, "Real-time measurement of flow rate in microfluidic devices using a cantilever-based optofluidic sensor", *The Analyst*, vol. 139, no. 2, pp. 431–438, 2014.
- [126] P.-Y. Ju, C.-H. Tsai, L.-M. Fu, and C.-H. Lin, "Microfluidic flow meter and viscometer utilizing flow-induced vibration on an optic fiber cantilever" in *2011 16th International Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems Conference (TRANSDUCERS 2011): Beijing, China, 5 - 9 June 2011*, Beijing, China, 2011, pp. 1428–1431.

- [127] A. S. Nezhad *et al.*, "PDMS Microcantilever-Based Flow Sensor Integration for Lab-on-a-Chip", *IEEE Sensors J.*, vol. 13, no. 2, pp. 601–609, 2013.
- [128] H. Bartsch de Torres, C. Rensch, T. Thelemann, J. Müller, and M. Hoffmann, "Fully Integrated Bridge-Type Anemometer in LTCC-Based Microfluidic Systems", *Advances in Science and Technology*, no. 54, pp. 401–404, 2008.
- [129] H. Berthet, J. Jundt, J. Durivault, B. Mercier, and D. Angelescu, "Time-of-flight thermal flowrate sensor for lab-on-chip applications", *Lab on a chip*, vol. 11, no. 2, pp. 215–223, 2011.
- [130] C. Harrison and J. Jundt, "A simple microfluidic Coriolis effect flowmeter for operation at high pressure and high temperature", *The Review of scientific instruments*, vol. 87, no. 8, p. 85002, 2016.
- [131] R. Smith, D. R. Sparks, D. Riley, and N. Najafi, "A MEMS-Based Coriolis Mass Flow Sensor for Industrial Applications", *IEEE Trans. Ind. Electron.*, vol. 56, no. 4, pp. 1066–1071, 2009.
- [132] L. R. Soenksen, T. Kassis, M. Noh, L. G. Griffith, and D. L. Trumper, "Closed-loop feedback control for microfluidic systems through automated capacitive fluid height sensing", *Lab on a chip*, vol. 18, no. 6, pp. 902–914, 2018.
- [133] M. A. Murran and H. Najjaran, "Capacitance-based droplet position estimator for digital microfluidic devices", *Lab on a chip*, vol. 12, no. 11, pp. 2053–2059, 2012.
- [134] Z. H. Zargar and T. Islam, "A Novel Cross-Capacitive Sensor for Noncontact Microdroplet Detection", *IEEE Trans. Ind. Electron.*, vol. 66, no. 6, pp. 4759–4766, 2019.
- [135] A. M. G. Hoffmann, "Kapazitiver Sensor zur präzisen Ortsbestimmung von Phasengrenzen in mikrofluidischen Strukturen". Dissertation, Technische Universität Darmstadt, Darmstadt, 2018.
- [136] P. K. Isgor, M. Marcali, M. Keser, and C. Elbuken, "Microfluidic droplet content detection using integrated capacitive sensors", *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 210, pp. 669–675, 2015.
- [137] M. Demori, V. Ferrari, P. Poesio, and D. Strazza, "A microfluidic capacitance sensor for fluid discrimination and characterization", *Sensors and Actuators A: Physical*, vol. 172, no. 1, pp. 212–219, 2011.
- [138] A. R. von Hippel, Ed., *Dielectric materials and applications*, 2nd ed. Boston, London: Artech House, 1995.
- [139] S. Kibler, *Zwei-Phasen-Strömungssensor für die geregelte Mikrodosierung von Mineralöl in einem autarken Dosiersystem*. Dissertation. ISBN: 978-3-8396-1220-0. München: Fraunhofer Verlag, 2016.
- [140] Y. Zhang, M. Sesen, A. de Marco, and A. Neild, "Capacitive Sensing for Monitoring of Microfluidic Protocols Using Nanoliter Dispensing and Acoustic Mixing", *Analytical chemistry*, vol. 92, no. 15, pp. 10725–10732, 2020.
- [141] Analog Devices, Inc., "Datenblatt AD7142 (Rev. B): Programmable Controller for Capacitance Touch Sensors" D05702-0-9/17(B), 2017. [Online] Available: <https://www.analog.com/media/en/technical-documentation/data-sheets/AD7142.pdf>. Accessed on: Feb. 26 2022.
- [142] M. Hufschmid, *Grundlagen der Elektrotechnik*. Wiesbaden: Springer Fachmedien Wiesbaden, 2021.

- [143] F. Sellberg, "Simple determination of all capacitances for a set of parallel microstrip lines", *IEEE Trans. Microwave Theory Techn.*, vol. 46, no. 2, pp. 195–198, 1998.
- [144] C. R. Paul, *Analysis of Multiconductor Transmission Lines*, 2nd ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons Inc, 2007.
- [145] T. Zhao, "Effective medium modeling and experimental characterization of multilayer dielectric with periodic inclusion". Dissertation, Iowa State University, Ames, Iowa, 2015.
- [146] T. Thalhofer, M. Keck, S. Kibler, and O. Hayden, "Capacitive Sensor and Alternating Drive Mixing for Microfluidic Applications Using Micro Diaphragm Pumps", *MDPI Sensors*, vol. 22, no. 3, <https://doi.org/10.3390/s22031273>, 2022.
- [147] 3M, "9964 Clear Polyester Diagnostic Tape Tech Info Sheet", 2005. [Online] Available: <https://parafix.com/product/3m-9964/>. Accessed on: Jun. 03 2022.
- [148] P. L. Mollerup, A. S. Christiansen, N. Bonanos, and M. B. Mogensen, "The conductivity of aqueous K₂CO₃ at elevated temperatures and pressures, measured using the AC van der Pauw technique", *Journal of New Materials for Electrochemical Systems*, vol. 16, no. 4, pp. 279–285, 2013.
- [149] A. Bußmann *et al.*, "Microfluidic Cell Transport with Piezoelectric Micro Diaphragm Pumps", *Micromachines*, vol. 12, no. 12, p. 1459, <https://doi.org/10.3390/mi12121459>, 2021.
- [150] T. Thalhofer, F. Heinrich, and O. Hayden, "Pressure Pulse Classification for Flow Disturbance Detection in Micro Diaphragm Pumps" in *MikroSystemTechnik Kongress, Stuttgart-Ludwigsburg*, 2021, pp. 636–640.

ANHANG

SCHALTPLÄNE

NUK V2.6.SchDoc

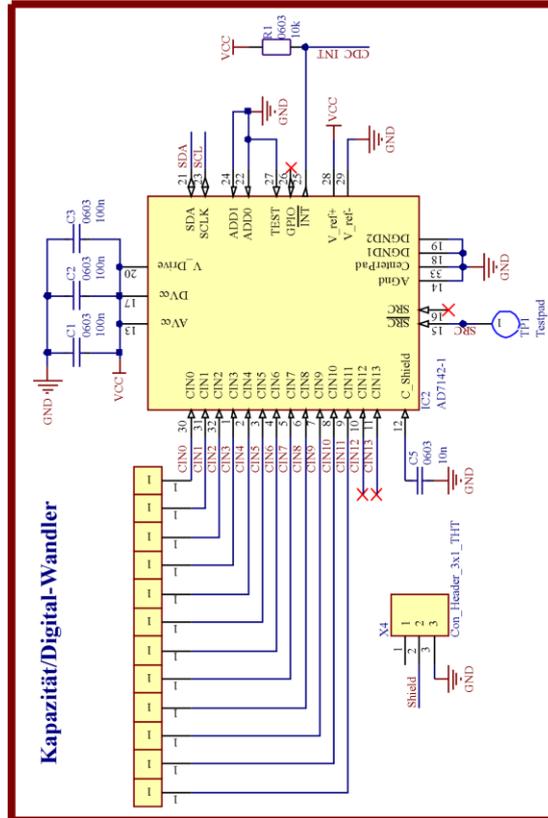
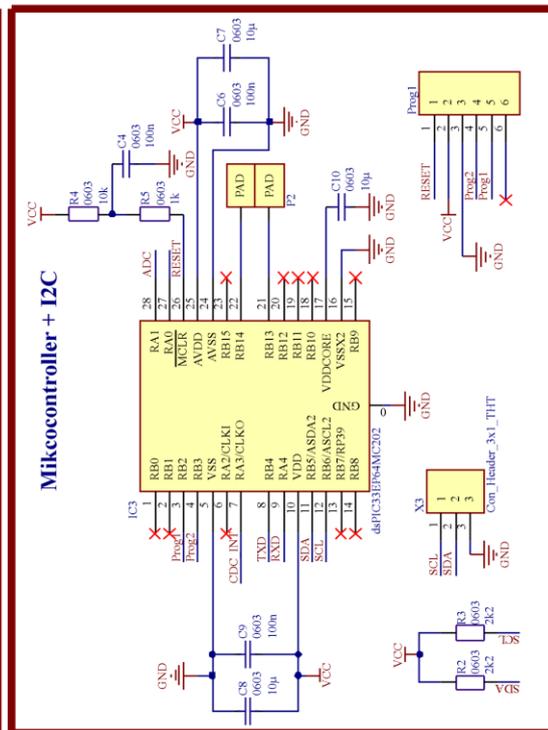
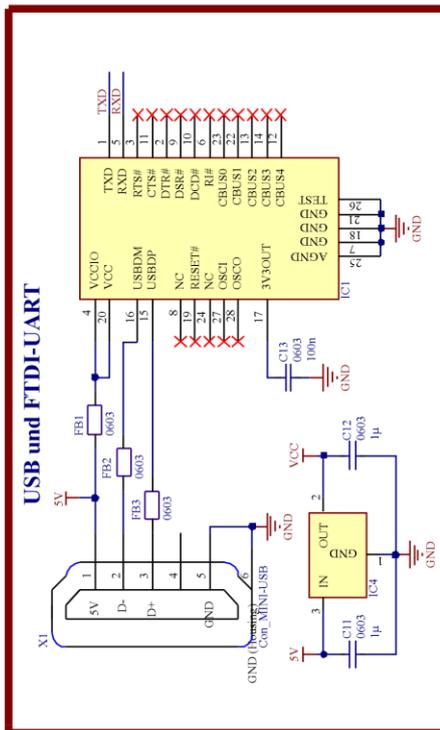


Abbildung 59: Schaltplan für Sensorelektronik der Systemvariante A

QuadDriver_V1_SchDoc

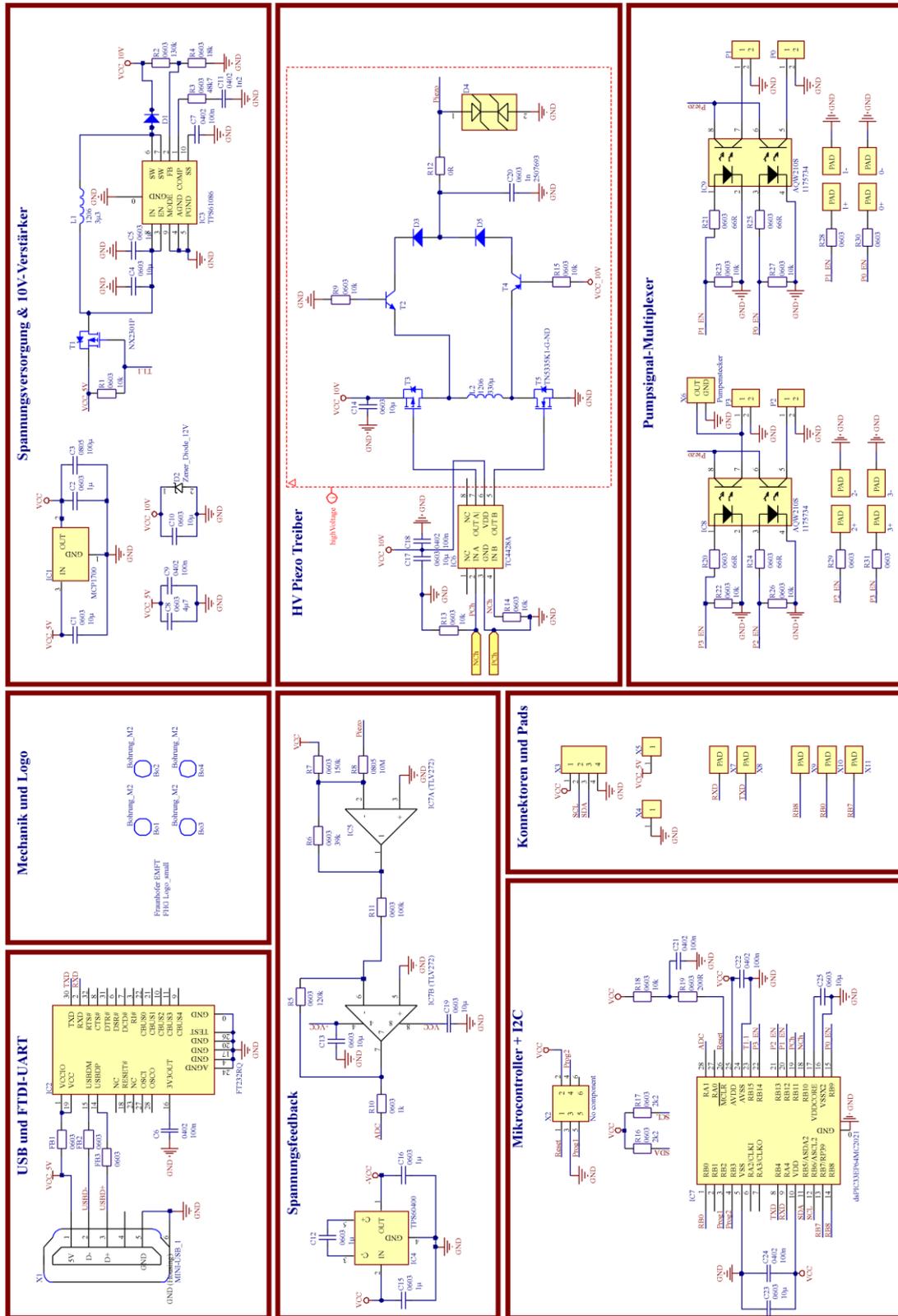


Abbildung 61: Schaltplan des vierfach-Pumpentreibers, der sowohl bei Systemvariante A als auch Systemvariante B zum Einsatz kommt.

FIRMWARE

Der folgende Code enthält die Treibersoftware, die auf den Mikrocontrollern der Pumpentreiber- und Sensorelektronik arbeitet. Die in C geschriebene Firmware ist für den Mikrocontroller dsPIC33EP64MC202 ausgelegt. Gezeigt werden die Module zum Initialisieren und Auswerten des Kapazitätssensors AD7142 (Dateien AD7142.h/.c), die Pumpentreiber-Software mit dem zur Hochspannungserzeugung benötigten Code (converter.h/.c) und der Signalformung (waveforms.h/.c).

Sensorboard Firmware (C)

```

/*****
 * File:   AD7142.h - Firmware für Sensorelektronik
 *****/

#include <libpic30.h>
#include <stdio.h>
#include <stdint.h>
#include "mcc_generated_files/system.h"
#include "mcc_generated_files/mcc.h"

//I2C Address
#define CDC_ADDR_8BIT (0x2c<<1) //7-Bit 0x2c; 8-bit 0x58
#define CDC_ADDR_7BIT (0x2c)

//REGISTER MAP
//Register Bank 1: Command and Control Registers
#define CDC_PWR_CONTROL           0x00
#define CDC_STAGE_CAL_EN         0x01
#define CDC_AMB_COMP_CTRL0       0x02
#define CDC_AMB_COMP_CTRL1       0x03
#define CDC_AMB_COMP_CTRL2       0x04
#define CDC_STAGE_LOW_INT_EN     0x05
#define CDC_STAGE_HIGH_INT_EN    0x06
#define CDC_STAGE_COMPLETE_INT_EN 0x07
#define CDC_STAGE_LOW_LIMIT_INT  0x08
#define CDC_STAGE_HIGH_LIMIT_INT 0x09
#define CDC_STAGE_COMPLETE_LIMIT_INT 0x0A
#define CDC_RESULT_S0            0x0B
#define CDC_RESULT_S1            0x0C
#define CDC_RESULT_S2            0x0D
#define CDC_RESULT_S3            0x0E
#define CDC_RESULT_S4            0x0F
#define CDC_RESULT_S5            0x10
#define CDC_RESULT_S6            0x11
#define CDC_RESULT_S7            0x12
#define CDC_RESULT_S8            0x13
#define CDC_RESULT_S9            0x14
#define CDC_RESULT_S10           0x15
#define CDC_RESULT_S11           0x16
#define CDC_DEVICE_ID            0x17
#define CDC_PROXIMITY_STATUS     0x42

//Register Bank 1: Stage Configuration Registers (Base addresses and Offsets)
#define BASE_STAGE0_CONF         0x0080
#define BASE_STAGE1_CONF         0x0088
#define BASE_STAGE2_CONF         0x0090
#define BASE_STAGE3_CONF         0x0098
#define BASE_STAGE4_CONF         0x00A0
#define BASE_STAGE5_CONF         0x00A8
#define BASE_STAGE6_CONF         0x00B0
#define BASE_STAGE7_CONF         0x00B8
#define BASE_STAGE8_CONF         0x00C0
#define BASE_STAGE9_CONF         0x00C8
#define BASE_STAGE10_CONF        0x00D0
#define BASE_STAGE11_CONF        0x00D8

```

```

#define CONF_CONNECTION_6_0          0x0000
#define CONF_CONNECTION_13_7        0x0001
#define CONF_AFE_OFFSET              0x0002
#define CONF_SENSITIVITY             0x0003
#define CONF_OFFSET_LOW              0x0004
#define CONF_OFFSET_HIGH             0x0005
#define CONF_OFFSET_HIGH_CLAMP      0x0006
#define CONF_OFFSET_LOW_CLAMP       0x0007

//Register Bank 3: Result Registers (Base addresses and Offsets)
#define BASE_STAGE0_RES              0x00E0
#define BASE_STAGE1_RES              0x0104
#define BASE_STAGE2_RES              0x0128
#define BASE_STAGE3_RES              0x014C
#define BASE_STAGE4_RES              0x0170
#define BASE_STAGE5_RES              0x0194
#define BASE_STAGE6_RES              0x01B8
#define BASE_STAGE7_RES              0x01DC
#define BASE_STAGE8_RES              0x0200
#define BASE_STAGE9_RES              0x0224
#define BASE_STAGE10_RES             0x0248
#define BASE_STAGE11_RES             0x026C

#define RES_CONV_DATA                0x0000
#define RES_FF_WORD0                 0x0001
#define RES_FF_WORD1                 0x0002
#define RES_FF_WORD2                 0x0003
#define RES_FF_WORD3                 0x0004
#define RES_FF_WORD4                 0x0005
#define RES_FF_WORD5                 0x0006
#define RES_FF_WORD6                 0x0007
#define RES_FF_WORD7                 0x0008
#define RES_SF_WORD0                 0x0009
#define RES_SF_WORD1                 0x000A
#define RES_SF_WORD2                 0x000B
#define RES_SF_WORD3                 0x000C
#define RES_SF_WORD4                 0x000D
#define RES_SF_WORD5                 0x000E
#define RES_SF_WORD6                 0x000F
#define RES_SF_WORD7                 0x0010
#define RES_SF AMBIENT                0x0011
#define RES_FF_AVG                    0x0012
#define RES_PEAK_DETECT_WORD0        0x0013
#define RES_PEAK_DETECT_WORD1        0x0014
#define RES_MAX_WORD0                0x0015
#define RES_MAX_WORD1                0x0016
#define RES_MAX_WORD2                0x0017
#define RES_MAX_WORD3                0x0018
#define RES_MAX_AVG                   0x0019
#define RES_HIGH_THRESHOLD            0x001A
#define RES_MAX_TEMP                  0x001B
#define RES_MIN_WORD0                0x001C
#define RES_MIN_WORD1                0x001D
#define RES_MIN_WORD2                0x001E
#define RES_MIN_WORD3                0x001F
#define RES_MIN_AVG                   0x0020
#define RES_LOW_THRESHOLD             0x0021
#define RES_MIN_TEMP                  0x0022

#define CDC_NUM_STAGES 12 //Anzahl Conversion Stages. (min. 1, max. 12).
                        //zB. 3==CIN0/1/2 aktiv.

typedef struct
{
    uint16_t data;
    float calib_offset;
    float calib_target;
    bool auto_calibrate;
} stage_t;

extern stage_t cdc[CDC_NUM_STAGES];

void CDC_init();
void CDC_write_reg(uint16_t reg_addr, uint16_t data);
uint16_t CDC_read_reg(uint16_t reg_addr);
uint16_t CDC_read_ID(); //Test function

```

```

void CDC_setAFEoffset(uint8_t stage, float offset_pF);
void CDC_AutoCalib(uint8_t stage);

void CDC_update_data(); //read data from CDC registers
void CDC_print_data(); //print cdc data to uart as %04X formatted string
void CDC_print_data_readable(); //print cdc data to uart in human-readable string format
#endif

/*****
 * File:   AD7142.c - Firmware für Sensorelektronik
 *****/

#include "CDC_AD7142.h"

stage_t cdc[CDC_NUM_STAGES];

void CDC_write_reg(uint16_t reg_addr, uint16_t data)
{
    if(reg_addr>0x28F)
    {
        printf("Invalid Register address");
        return;
    }

    uint8_t msg[] = {(reg_addr>>8), (reg_addr & 0xFF), (data>>8), (data & 0xFF)};
    I2C2_MESSAGE_STATUS status = I2C2_MESSAGE_PENDING;

    I2C2_MasterWrite(msg, 4, CDC_ADDR_7BIT, &status);
    while(status==I2C2_MESSAGE_PENDING);
}

uint16_t CDC_read_reg(uint16_t reg_addr)
{
    if(reg_addr>0x28F)
    {
        printf("Invalid Register address");
        return 0;
    }
    //Set reg pointer
    uint8_t msg[] = {(reg_addr>>8), (reg_addr & 0xFF)};
    I2C2_MESSAGE_STATUS write_status = I2C2_MESSAGE_PENDING;
    I2C2_MasterWrite(msg, 2, CDC_ADDR_7BIT, &write_status);
    while(write_status==I2C2_MESSAGE_PENDING);

    //read reg
    uint8_t buf[] = {0, 0};
    I2C2_MESSAGE_STATUS read_status = I2C2_MESSAGE_PENDING;
    I2C2_MasterRead(buf, 2, CDC_ADDR_7BIT, &read_status);
    while(read_status==I2C2_MESSAGE_PENDING);

    uint16_t out = ((uint16_t)buf[0]<<8)+buf[1];
    return out;
}

uint16_t CDC_read_ID()
{
    //i2c test funktion
    return CDC_read_reg(CDC_DEVICE_ID);
}

void CDC_init()
{
    int i = 0;

    //0.: Reset AD7142
    CDC_write_reg(CDC_PWR_CONTROL, (1<<10));
    __delay_ms(10);

    //1.: Connect all CIN Pins to Bias for each stage (bit 15=0 and bit 14=0)
    CDC_write_reg(BASE_STAGE0_CONF+CONF_CONNECTION_6_0, 0x3FFF);
    CDC_write_reg(BASE_STAGE1_CONF+CONF_CONNECTION_6_0, 0x3FFF);
    CDC_write_reg(BASE_STAGE2_CONF+CONF_CONNECTION_6_0, 0x3FFF);
    CDC_write_reg(BASE_STAGE3_CONF+CONF_CONNECTION_6_0, 0x3FFF);
    CDC_write_reg(BASE_STAGE4_CONF+CONF_CONNECTION_6_0, 0x3FFF);
    CDC_write_reg(BASE_STAGE5_CONF+CONF_CONNECTION_6_0, 0x3FFF);
}

```

```

CDC_write_reg(BASE_STAGE6_CONF+CONF_CONNECTION_6_0, 0x3FFF);
CDC_write_reg(BASE_STAGE7_CONF+CONF_CONNECTION_6_0, 0x3FFF);
CDC_write_reg(BASE_STAGE8_CONF+CONF_CONNECTION_6_0, 0x3FFF);
CDC_write_reg(BASE_STAGE9_CONF+CONF_CONNECTION_6_0, 0x3FFF);
CDC_write_reg(BASE_STAGE10_CONF+CONF_CONNECTION_6_0, 0x3FFF);
CDC_write_reg(BASE_STAGE11_CONF+CONF_CONNECTION_6_0, 0x3FFF);

CDC_write_reg(BASE_STAGE0_CONF+CONF_CONNECTION_13_7, 0x3FFF);
CDC_write_reg(BASE_STAGE1_CONF+CONF_CONNECTION_13_7, 0x3FFF);
CDC_write_reg(BASE_STAGE2_CONF+CONF_CONNECTION_13_7, 0x3FFF);
CDC_write_reg(BASE_STAGE3_CONF+CONF_CONNECTION_13_7, 0x3FFF);
CDC_write_reg(BASE_STAGE4_CONF+CONF_CONNECTION_13_7, 0x3FFF);
CDC_write_reg(BASE_STAGE5_CONF+CONF_CONNECTION_13_7, 0x3FFF);
CDC_write_reg(BASE_STAGE6_CONF+CONF_CONNECTION_13_7, 0x3FFF);
CDC_write_reg(BASE_STAGE7_CONF+CONF_CONNECTION_13_7, 0x3FFF);
CDC_write_reg(BASE_STAGE8_CONF+CONF_CONNECTION_13_7, 0x3FFF);
CDC_write_reg(BASE_STAGE9_CONF+CONF_CONNECTION_13_7, 0x3FFF);
CDC_write_reg(BASE_STAGE10_CONF+CONF_CONNECTION_13_7, 0x3FFF);
CDC_write_reg(BASE_STAGE11_CONF+CONF_CONNECTION_13_7, 0x3FFF);

//2. Set up one stage per CIN pin (bit 15=0 and bit 14=0)
CDC_write_reg(BASE_STAGE0_CONF+CONF_CONNECTION_6_0, 0x3FFE); //CIN0--> Stage0
CDC_write_reg(BASE_STAGE1_CONF+CONF_CONNECTION_6_0, 0x3FFB); //CIN1--> Stage1
CDC_write_reg(BASE_STAGE2_CONF+CONF_CONNECTION_6_0, 0x3FEF); //CIN2--> Stage2
CDC_write_reg(BASE_STAGE3_CONF+CONF_CONNECTION_6_0, 0x3FBF); //CIN3--> Stage3
CDC_write_reg(BASE_STAGE4_CONF+CONF_CONNECTION_6_0, 0x3EFF); //CIN4--> Stage4
CDC_write_reg(BASE_STAGE5_CONF+CONF_CONNECTION_6_0, 0x3BFF); //CIN5--> Stage5
CDC_write_reg(BASE_STAGE6_CONF+CONF_CONNECTION_6_0, 0x2FFF); //CIN6--> Stage6
CDC_write_reg(BASE_STAGE7_CONF+CONF_CONNECTION_13_7, 0x3FFE); //CIN7--> Stage7
CDC_write_reg(BASE_STAGE8_CONF+CONF_CONNECTION_13_7, 0x3FFB); //CIN8--> Stage8
CDC_write_reg(BASE_STAGE9_CONF+CONF_CONNECTION_13_7, 0x3FEF); //CIN9--> Stage9
CDC_write_reg(BASE_STAGE10_CONF+CONF_CONNECTION_13_7, 0x3FBF); //CIN10--> Stage10
CDC_write_reg(BASE_STAGE11_CONF+CONF_CONNECTION_13_7, 0x3EFF); //CIN11--> Stage11

//3. Reset Offsets for each pin
for(i=0; i<CDC_NUM_STAGES; i++)
{ CDC_setAFEoffset(i, 0);}

//REGISTER BANK 1 INIT
uint16_t stage_enabled = (CDC_NUM_STAGES-1)<<4;
CDC_write_reg(CDC_PWR_CONTROL, stage_enabled); // 0x00B0: 12 stages enabled
// (0-11), full-power mode
CDC_write_reg(CDC_STAGE_CAL_EN, 0x0000); // 0x0FFF: Self calibration for CIN0-11;
// 0x00: No self calibration

CDC_write_reg(CDC_AMB_COMP_CTRL0, 0x0FF0);
CDC_write_reg(CDC_AMB_COMP_CTRL1, 0x0140);
CDC_write_reg(CDC_AMB_COMP_CTRL2, 0xFFFF);
CDC_write_reg(CDC_STAGE_COMPLETE_INT_EN, 0x0000); //0x0000: No Interrupt enabled
CDC_write_reg(CDC_STAGE_HIGH_INT_EN, 0x0000); //0x0000: No Interrupt enabled
CDC_write_reg(CDC_STAGE_COMPLETE_INT_EN, 0x0000); //0x0000: No Interrupt enabled

for(i=0; i<CDC_NUM_STAGES; i++)
{ CDC_AutoCalib(i); }
}

void CDC_setAFEoffset(uint8_t stage, float offset_pF)
{
//create bitmask for CONF_AFE_OFFSET register
int val = 0;
uint16_t regVal = 0;
if (offset_pF>=0)//POSITIVE offset, use bits 14:8 for value and bit 15 for output
{
if(offset_pF>20.0)
offset_pF=20.0;
val = offset_pF/0.16;
if(val>127)
val=127;
regVal = val<<8;
}
else //NEGATIVE offset, use bits 6:0 for value and bit 7 for output(set to 0)
{
if(offset_pF<-20.0)
offset_pF=-20.0;
val = -1.0*offset_pF/0.16;
if(val>127)

```

```

        val=127;
        regVal = val;
    }

    switch(stage)
    {
        case 0: CDC_write_reg(BASE_STAGE0_CONF+CONF_AFE_OFFSET, regVal); break;
        case 1: CDC_write_reg(BASE_STAGE1_CONF+CONF_AFE_OFFSET, regVal); break;
        case 2: CDC_write_reg(BASE_STAGE2_CONF+CONF_AFE_OFFSET, regVal); break;
        case 3: CDC_write_reg(BASE_STAGE3_CONF+CONF_AFE_OFFSET, regVal); break;
        case 4: CDC_write_reg(BASE_STAGE4_CONF+CONF_AFE_OFFSET, regVal); break;
        case 5: CDC_write_reg(BASE_STAGE5_CONF+CONF_AFE_OFFSET, regVal); break;
        case 6: CDC_write_reg(BASE_STAGE6_CONF+CONF_AFE_OFFSET, regVal); break;
        case 7: CDC_write_reg(BASE_STAGE7_CONF+CONF_AFE_OFFSET, regVal); break;
        case 8: CDC_write_reg(BASE_STAGE8_CONF+CONF_AFE_OFFSET, regVal); break;
        case 9: CDC_write_reg(BASE_STAGE9_CONF+CONF_AFE_OFFSET, regVal); break;
        case 10: CDC_write_reg(BASE_STAGE10_CONF+CONF_AFE_OFFSET, regVal); break;
        case 11: CDC_write_reg(BASE_STAGE11_CONF+CONF_AFE_OFFSET, regVal); break;
        default: printf("Error in CDC_setAFEoffset: Stage must be <12"); return;
    }

    cdc[stage].calib_offset = offset_pF;
    cdc[stage].calib_target = offset_pF;

    return;
}

void CDC_update_data()
{
    int i = 0;
    for(i=0; i<CDC_NUM_STAGES; i++)
    {
        switch(i)
        {
            case 0: cdc[0].data = CDC_read_reg(CDC_RESULT_S0); break;
            case 1: cdc[1].data = CDC_read_reg(CDC_RESULT_S1); break;
            case 2: cdc[2].data = CDC_read_reg(CDC_RESULT_S2); break;
            case 3: cdc[3].data = CDC_read_reg(CDC_RESULT_S3); break;
            case 4: cdc[4].data = CDC_read_reg(CDC_RESULT_S4); break;
            case 5: cdc[5].data = CDC_read_reg(CDC_RESULT_S5); break;
            case 6: cdc[6].data = CDC_read_reg(CDC_RESULT_S6); break;
            case 7: cdc[7].data = CDC_read_reg(CDC_RESULT_S7); break;
            case 8: cdc[8].data = CDC_read_reg(CDC_RESULT_S8); break;
            case 9: cdc[9].data = CDC_read_reg(CDC_RESULT_S9); break;
            case 10: cdc[10].data = CDC_read_reg(CDC_RESULT_S10); break;
            case 11: cdc[11].data = CDC_read_reg(CDC_RESULT_S11); break;
        }
    }
}

void CDC_AutoCalib(uint8_t stage)
{
    if(stage>=CDC_NUM_STAGES)
        return;

    int counter = 0;
    float offset = 20;
    CDC_setAFEoffset(stage, offset);
    CDC_update_data();
    __delay_ms(100);

    while(1)
    {
        if(counter>50)
        {
            printf("Error: Cannot set Offset...\n");
            cdc[stage].auto_calibrate = false;
            return;
        }
        else
        { counter++; }

        CDC_setAFEoffset(stage, offset);
        __delay_ms(36);
        CDC_update_data();

        if(cdc[stage].data==0)

```

```

        offset -= 2.0;
    else if(cdc[stage].data==0xFFFF)
        offset += 1.0;
    else if(cdc[stage].data>20000)
        offset += 0.16;
    else if(cdc[stage].data<15000)
        offset -= 0.16;
    else
        break;

    if(offset<-20)
        offset=-20;
    else if(offset>20)
        offset=20;

}
cdc[stage].auto_calibrate = false;
}

void CDC_print_data()
{
    int i = 0;
    for(i=0; i<CDC_NUM_STAGES; i++)
    {
        printf("%04x ", cdc[i].data);
    }
    printf("\n");
}

void CDC_print_data_readable()
{
    int i = 0;
    for(i=0; i<CDC_NUM_STAGES; i++)
    {
        printf("%u ", cdc[i].data);
    }
    printf("\n");
}

```

Pumpentreiber Firmware (C)

```

/*****
 * File:   converter.h - Hochspannungserzeugung
 *****/
#ifndef CONVERTER_H
#define CONVERTER_H
#ifndef FCY
    #define FCY 60802500 //für <libpic30.h>
#endif

#include <p33Exxxx.h>
#include <stdlib.h>
#include <libpic30.h> //für __delay_ms()
#include "comm.h"

typedef struct
{
    unsigned int Active; // (Hoch-)Spannungserzeugung an (1) bzw aus (0)
    int v_soll;
    unsigned int ADCsteps_vsoll;//Vsoll expressed in ADC steps
    int pinDirection; //Stores the current PWM Pin configuration. 0=off, 1=going up; -
1=going down,
    int ADC_max_measured;
    int ADC_min_measured;
} converter_t;

extern converter_t converter;

void converter_init(void);
int converter_OnOff(int on);
int converter_setVsoll(int Vsoll);
int converter_getState();
int converter_ADC_to_V(int ADC);

```

```

void converter_resetVoltageMeasurement();
void __attribute__((__interrupt__, no_auto_psv)) _AD1Interrupt(void);
void converter_pins_up();
void converter_pins_down();
void converter_pins_idle();

#endif

/*****
 * File:   converter.c - Hochspannungserzeugung
 *****/

#include "converter.h"

converter_t converter;

void converter_init(void)
{
    // Adjustable for user
    converter_OnOff(0);
    converter_resetVoltageMeasurement();

    // ADC Init
    AD1CON1bits.ADON = 0;           // ADC off
    AD1CON1bits.ASAM = 1;          //Auto Sample (starts immediately after last sample)
    AD1CON1bits.AD12B = 1;         //12-bit mode
    AD1CON1bits.SSRC = 1;          //PWM starts ADC conversion
    AD1CON1bits.SSRC = 0b010;      //PWM-3 starts ADC conversion
    AD1CHS0bits.CH0SA = 1;         //ADC ChInput channel = AN1
    IFS0bits.AD1IF = 0;           // Reset interrupt flag
    IPC3bits.AD1IP = 0x7;          // Interrupt Priority (7=HIGHEST)
    IEC0bits.AD1IE = 1;           // Interrupt aktivieren
    AD1CON3bits.ADRC = 1;          //Internal oscillator
    converter.ADCsteps_v Soll = 1289; //Initial ADC-Target: 0V (==1289)
    AD1CON1bits.ADON = 1;          // ADC on

    // PWM Init
    PTCONbits.PTEN = 0;           //Disable PWM operation
    IOCON3bits.PMOD = 0b01;        //Redundant output mode
    IOCON3bits.PENH = 1;           //PWM Module owns Pin RB10 (PWM pin name: PWM3H)
    IOCON3bits.PENL = 1;           //PWM Module owns Pin RB11 (PWM pin name: PWM3L)
    IOCON3bits.POLH = 0;           //PWM3H is active high
    IOCON3bits.POLL = 0;           //PWM3L is active high
    IOCON1bits.PENH = 0;           //DO NOT DELETE!
    IOCON1bits.PENL = 0;           //DO NOT DELETE!
    IOCON2bits.PENH = 0;           //DO NOT DELETE!
    IOCON2bits.PENL = 0;           //DO NOT DELETE!
    PTCON2bits.PCLKDIV = 0;        //Prescaler 0 (PTCON2 bit 0, 1, 2) -> check PTPER if changed
    PWMCON3bits.MTBS = 0;          //Use primary master time base and clock source
    PWMCON3bits.MDCS = 0;          //0:Duty Cycle from Register PDC3; 1: Duty Cycle from
Register MDC
    PWMCON3bits.ITB = 1;           //1:PHASE3 as timing base; 0:PTPER as timing base
    PHASE3 = 2400;                 //primary master time base for PWM period; 2400=50kHz;
4800=4800kHz
    PDC3 = 1000;                   //Master Duty Cycle
    TRIG3 = 0;                     //ADC triggering point (0=at start of PWM cycle)
    PWMCON3bits.IUE = 0;           //0:Timing updates only affect next PWM cycle; 1:timing
updates immediately
    PWMCON3bits.CAM = 0;           //Edge Aligned Mode
    PWMCON3bits.FLTIEEN = 0;       //Fault interrupt disable
    FCLCON3bits.FLTMOD = 0b11;     //Fault Input Disabled
    FCLCON2bits.FLTMOD = 0b11;     //Fault Input Disabled
    FCLCON1bits.FLTMOD = 0b11;     //Fault Input Disabled
    PWMCON3bits.DTC = 0b10;        //Dead time generation disabled

    // Set PWM to OFF mode
    PTCONbits.PTEN = 0;           //Disable PWM operation;
    LATBbits.LATB10 = 0;          //N non-conducting
    LATBbits.LATB11 = 0;          //P non-conducting
    IOCON3bits.PENL = 0;          //P GPIO
    IOCON3bits.PENH = 0;          //N GPIO
    PTCONbits.PTEN = 1;           //Enable PWM operation;
}

void __attribute__((__interrupt__, no_auto_psv)) _AD1Interrupt(void)
{

```

```

IFS0bits.AD1IF = 0; // Interrupt flag clear
int ADC = (int) ADC1BUF0;
int e = (int)converter.ADCsteps_vsoll - ADC;
static int lastState = 0;
int c;

if(converter.Active && (wfm.frequency>0)) //perform pid regulation
{
    if(e>=0) //RISING
    {
        //prevent voltage drop on pin change
        if(lastState == 1)
        {
            lastState = 0;
            PDC3 = 0;
            return;
        }

        //Set pins to "going up" mode
        converter_pins_up();

        //Calculate Duty Cycle
        if(converter.v_soll>0)
            c = 3*converter.v_soll;
        else
            c=0;

        if((e+c)>1800)
            PDC3=1800;
        else
            PDC3 = e+c;

        lastState = 0;
    }
    else //FALLING
    {
        //Prevent voltage drop on pin change from pos to neg
        if(lastState==0)
        {
            lastState=1;
            PDC3 = 0;
            return;
        }

        //Set pins to "going down" mode
        converter_pins_down();

        //Calculate Duty Cycle
        if(converter.v_soll<0)
            c = 4*abs(converter.v_soll);
        else
            c=0;

        if((abs(e)+c)>1800)
            PDC3 = 1800;
        else
            PDC3 = abs(e)+c;

        lastState = 1;
    }
}
else //Do not create HV
{
    converter_pins_idle();
}

//Save peak ADC values
if(ADC > converter.ADC_max_measured)
    converter.ADC_max_measured = ADC;
else if(ADC < converter.ADC_min_measured)
    converter.ADC_min_measured = ADC;
}

int converter_setVsoll(int Vsoll)
{

```

```

    converter.v_soll = Vsoll;
    converter.ADCsteps_vsoll = (unsigned int) (5.775416*(float)Vsoll + 1289.374306); //-
    80V==827; 0V==1289; 300V==3021;
    //    converter.ADCsteps_vsoll = (unsigned int) (4095.0 / 3.3 * ((float)Vsoll * 0.004815
    + 1));
    return EXIT_SUCCESS;
}

void converter_pins_up()
{
    if(converter.pinDirection!=1) //check if pin direction is already set
    {
        PTCONbits.PTEN = 0; //Disable PWM operation;
        LATBbits.LATB11 = 1; //P conducting
        IOCON3bits.PENH = 1; //PWM on N
        IOCON3bits.PENL = 0; //GPIO on P
        PTCONbits.PTEN = 1; //Enable PWM operation;
        converter.pinDirection=1;
    }
}

void converter_pins_down()
{
    if(converter.pinDirection!=-1) //check if pin direction is already set
    {
        PTCONbits.PTEN = 0; //Disable PWM operation;
        LATBbits.LATB10 = 1; //N conducting
        IOCON3bits.PENL = 1; //P PWM
        IOCON3bits.PENH = 0; //N GPIO
        PTCONbits.PTEN = 1; //Enable PWM operation;
        converter.pinDirection=-1;
    }
}

void converter_pins_idle()
{
    if(converter.pinDirection!=0) //check if pin direction is already set
    {
        PTCONbits.PTEN = 0; //Disable PWM operation;
        LATBbits.LATB10 = 0; //N non-conducting
        LATBbits.LATB11 = 0; //P non-conducting
        IOCON3bits.PENL = 0; //P GPIO
        IOCON3bits.PENH = 0; //N GPIO
        PTCONbits.PTEN = 1; //Enable PWM operation;
        converter.pinDirection=0;
    }
}

int converter_OnOff(int on)
{
    converter.Active = (on) ? 1 : 0;
    return EXIT_SUCCESS;
}

int converter_getState()
{
    return converter.Active;
}

int converter_ADC_to_V(int ADC)
{
    return (int) (((float)ADC-1289.374306)/5.775416);
}

void converter_resetVoltageMeasurement()
{
    converter.ADC_max_measured = 1289; //==0V
    converter.ADC_min_measured = 1289; //==0V
}

/*****
* File:   waveforms.h - Hochspannungs-Signalformung
*****/

#ifndef WAVEFORMS_H
#define WAVEFORMS_H

```

```

#include <stdio.h>
#include <math.h>
#include "converter.h"
#include "comm.h"

#define M_PI 3.14159265358979323846
#define WFM_LENGTH 500 //length of the waveform array
#define NUM_WVFS 4 // amount of different waveforms

typedef enum {rect=1, sine=2, trap=3, srs=4} wfmType_t;
typedef struct
{
    float frequency; //Pump Actuation Frequency
    int v_max; //Max. positive Voltage
    int v_min; //Max. negative Voltage

    int wfm[WFM_LENGTH]; //Waveform Array
    int t23_min_us; //min time between two v_soll updates in [µs]
    int wfmIndex; //Current Index in Waveform array
    int wfmStepwidth; //Next v_target = wfm[wfmIndex+wfmStepwidth];

    int burstMode; //If False: Continuous mode. If True: Do [bursts] individual
    strokes, then go to V_min
    int bursts ; //Number of individual strokes to be performed if burstMode is True
    int burstTrigger; //Start Burst train

    int flank_percent; //Rise- and fall-time percentage during a srs/trapece signal.
    e.g. 10 (%)

    wfmType_t type; //Type of Wfm: see enum wfmType_t
}wfm_t;

extern wfm_t wfm;

void wfm_init();
int wfm_setWfmType(wfmType_t wfmType);
int wfm_setFrequency(float f_Hz);
int wfm_setVmin(int Vmin);
int wfm_setVmax(int Vmax);
int wfm_setFlankPercent(int percent);

wfmType_t wfm_getWfmType();
float wfm_getFrequency();
int wfm_getVmin();
int wfm_getVmax();
void wfm_printWfm();

void wfm_mode_continuous();
void wfm_mode_burst();
int wfm_setNbursts(int bursts);
void wfm_trigger();

void __attribute__((__interrupt__, no_auto_psv)) _T3Interrupt();

#endif /* WAVEFORMS_H */

/*****
 * File: waveforms.c - Hochspannungs-Signalformung
 *****/
#include "waveforms.h"

wfm_t wfm;

void wfm_init()
{
    converter_OnOff(0);
    wfm.frequency = 1;
    wfm.type = sine;
    wfm.v_max = 300;
    wfm.v_min = -80;
    wfm.t23_min_us = 200; //min wait time between two timer23 interrupts
    wfm.wfmStepwidth = 1;

```

```

wfm.flank_percent = 20;

//burstMode settings
wfm.burstMode = 1;
wfm.bursts = 1; //Standard burst: Single pulse
wfm.burstTrigger = 0;

// Init TIMER2/3 (Update target voltage)
T3CONbits.TON = 0; // Stop any 16-bit Timer3 operation
T2CONbits.TON = 0; // Stop any 16/32-bit Timer3 operation
T2CONbits.T32 = 1; // Enable 32-bit Timer mode
T2CONbits.TCS = 0; // Select internal instruction cycle clock
T2CONbits.TGATE = 0; // Disable Gated Timer mode
T2CONbits.TCKPS = 0b00; // Select 1:1 Prescaler
T3CONbits.TCKPS = 0b00; // Select 1:1 Prescaler
TMR3 = 0x00; // Clear 32-bit Timer (msw)
TMR2 = 0x00; // Clear 32-bit Timer (lsw)

IPC2bits.T3IP = 0x6; // Set Timer3 Interrupt Priority Level
IFS0bits.T3IF = 0; // Clear Timer3 Interrupt Flag
IEC0bits.T3IE = 1; // Enable Timer3 interrupt
T2CONbits.TON = 1; // Start 32-bit Timer

wfm_setFrequency(1);
wfm_setVmax(300);
wfm_setVmin(-80);
wfm_setWfmType(rect);
}

// Timer 2/3 (32bit) ISR
// This timer regularly updates the target voltage (~1-2x/ms).
// Changing the pump frequency changes the
// Timer period and consequently the target voltage update rate.
// NEW: Choose between Continuous pumping and Counted/Single-Pump-stroke mode
void __attribute__((interrupt, no_auto_psv)) _T3Interrupt()
{
    static int v_index = 0;
    static int burstCount = 0;
    int Vsoll = 0;
    IFS0bits.T3IF = 0; //Clear Timer3 interrupt flag
    TMR3 = 0x00; // Clear 32-bit Timer (msw)
    TMR2 = 0x00; // Clear 32-bit Timer (lsw)

    //Continuous mode
    if(wfm.burstMode==0)
    {
        //calculate new index, roll-over if index is larger than the array size
        v_index =(v_index+wfm.wfmStepwidth)%WFM_LENGTH;

        //Limit chosen v_soll to vmax and vmin, values out of rage are cut off (fail-
safe)
        Vsoll = min(wfm.v_max, wfm.wfm[v_index]);
        Vsoll = max(wfm.v_min, Vsoll);
    }

    //Burst mode. Do a specified number of pump strokes, then stop.
    else if(wfm.burstMode==1)
    {
        if(wfm.burstTrigger==0) //Trigger not activated or burst finished
        {
            Vsoll = wfm.v_min;
            v_index = 0;
        }
        else
        {
            if(burstCount<wfm.bursts)
            {
                Vsoll = min(wfm.v_max, wfm.wfm[v_index]);
                Vsoll = max(wfm.v_min, Vsoll);
                v_index =(v_index+wfm.wfmStepwidth);
                if(v_index>=WFM_LENGTH)
                {
                    burstCount++; //one pump stroke finished,
increase burst counter and
                    v_index=v_index%WFM_LENGTH; //rollover wfm index
                }
            }
        }
    }
}

```

```

        }
        if (burstCount>=wfm.bursts)//burst train finished, reset trigger and burst
counter
        {
            burstCount = 0;
            wfm.burstTrigger = 0;
        }
    }
    converter_setVsoll(Vsoll); //update converter Vsoll and target ADC value
}

int wfm_setFrequency(float f_Hz)
{
    if(f_Hz<0.01)
        f_Hz = 0;

    wfm.frequency = f_Hz;

    //adapt waveform stepwidth to actuation frequency:
    //higher frequency leads to less waveform sampling/updating accuracy
    int incr;
    if(f_Hz>0)
    {
        //increase the wfm sampling stepwidth until t23 period is lower than t23_min_us
        for(incr=1; incr<(WFM_LENGTH/4+1); incr++)
        {
            if(((float)incr/wfm.frequency/(float)WFM_LENGTH*1000000)>=(float)wfm.t23_min_us)
            {
                break;
            }
            else if(incr==(WFM_LENGTH/4))
            {
                //comm_printBuf("Cannot set frequency, too high!");
                return EXIT_FAILURE;
            }
        }
        wfm.wfmStepwidth = incr; //update wfm sampling stepwidth
    }
    else
    {
        incr = 1;
    }

    //calculate & update T23 intervall time
    long int MSWLSW = (long int) (60802500.0 / wfm.frequency /
((float)WFM_LENGTH/(float)wfm.wfmStepwidth));
    unsigned int MSW = (unsigned int) (MSWLSW>>16);
    unsigned int LSW = (unsigned int) (MSWLSW & 0xffff);
    PR3 = MSW;
    PR2 = LSW;

    // Reset Timer T23 to prevent long runout whenever the newly calculated T23
    // rollover timet is smaller than the current T23 Value
    TMR3 = 0;
    TMR2 = 0;

    return EXIT_SUCCESS;
}

int wfm_setWfmType(wfmType_t wfmType)
{
    int i=0;
    wfm.type = wfmType;

    //RECHTECK
    if(wfmType == rect)
    {
        for(i=0; i<(WFM_LENGTH/2); i++)
        {
            wfm.wfm[i] = wfm.v_max;
        }
        for(i=(WFM_LENGTH/2); i<WFM_LENGTH; i++)
        {
            wfm.wfm[i] = wfm.v_min;
        }
    }
    //SINUS

```

```

else if(wfmType == sine)
{
    float Vhi = (float) wfm.v_max;
    float Vlo = (float) wfm.v_min;
    for(i=0; i<WFM_LENGTH; i++)
    {
        //Sinus fängt immer bei negativer Spannung an (wichtig für Einzelpulse)
        wfm.wfm[i] = (int) (-cosf((float)i / (float) WFM_LENGTH * 2.0 * M_PI) * ...
            ((Vhi-Vlo)/2.0) + ((Vhi+Vlo)/2.0));
    }
}
//TRAPEZ
else if(wfmType == trap)
{
    //Step 1: create a rect signal with vmax and vmin
    for(i=0; i<WFM_LENGTH/2; i++)
    {
        wfm.wfm[i] = wfm.v_max;
    }
    for(i=WFM_LENGTH/2; i<WFM_LENGTH; i++)
    {
        wfm.wfm[i] = wfm.v_min;
    }
    //Step 2: create rising flank
    int flankLength = (int) ((float)WFM_LENGTH*(float)wfm.flank_percent/100.0);
    for(i=0; i<flankLength; i++)
    {
        wfm.wfm[i] = (int) ( (float)wfm.v_min + (float) (wfm.v_max-
wfm.v_min)*(float)i/(float)flankLength );
    }
    //Step 3: create falling flank
    int j=0;
    for(i=WFM_LENGTH/2; i<(WFM_LENGTH/2+flankLength); i++)
    {
        wfm.wfm[i] = (int) ( (float)wfm.v_max - (float) (wfm.v_max-
wfm.v_min)*(float)j/(float)flankLength );
        j++;
    }
}
//Rect with sine flanks
else if(wfmType == srs)
{
    //Step 1: create a rect signal with vmax and vmin
    for(i=0; i<WFM_LENGTH/2; i++)
    {
        wfm.wfm[i] = wfm.v_max;
    }
    for(i=WFM_LENGTH/2; i<WFM_LENGTH; i++)
    {
        wfm.wfm[i] = wfm.v_min;
    }
    //Step2: add rising sine flank
    int flankLength = (int) ((float)WFM_LENGTH*(float)wfm.flank_percent/100.0);
    for(i=0; i<flankLength; i++)
    {
        wfm.wfm[i] = (int) ( sin(-1.0*M_PI/2.0 + (float)i/(float)flankLength * M_PI)
* ...
            (float) (wfm.v_max-wfm.v_min)/2.0 +
(float) (wfm.v_max+wfm.v_min)/2.0 );
    }
    //Step2: add falling sine flank
    for(i=WFM_LENGTH/2; i<(WFM_LENGTH/2+flankLength); i++)
    {
        wfm.wfm[i] = (int) ( sin(M_PI/2.0 + (float) (i-
WFM_LENGTH/2)/(float)flankLength * M_PI) * ...
            (float) (wfm.v_max-wfm.v_min)/2.0 +
(float) (wfm.v_max+wfm.v_min)/2.0 );
    }
}
else
{ return EXIT_FAILURE; }

converter_resetVoltageMeasurement();
return EXIT_SUCCESS;
}

int wfm_setVmin(int Vmin)

```

```

{
    wfm.v_min = Vmin;
    wfm_setWfmType(wfm.type); //Recalculate current wfm based on new Vmin
}

int wfm_setVmax(int Vmax)
{
    wfm.v_max = Vmax;
    wfm_setWfmType(wfm.type); //Recalculate current wfm based on new Vmin
}

int wfm_setFlankPercent(int percent)
{
    if(percent>50)
        percent = 50;
    else if(percent<0)
        percent=0;

    wfm.flank_percent = percent;
    wfm_setWfmType(wfm.type); //Recalculate wfm
}

wfmType_t wfm_getWfmType()
{    return wfm.type;}

float wfm_getFrequency()
{    return wfm.frequency;}

int wfm_getVmin()
{    return wfm.v_min;}

int wfm_getVmax()
{    return wfm.v_max;}

void wfm_printWfm()
{
    int i=0;
    char buf[10];
    for(i=0; i<WFM_LENGTH; i++)
    {
        sprintf(buf, "%i", wfm.wfm[i]);
        comm_printBuf(buf);
    }
}

void wfm_mode_continuous()
{    wfm.burstMode = 0;}

void wfm_mode_burst()
{    wfm.burstMode = 1;}

int wfm_setNbursts(int bursts)
{
    if(bursts>0)
    {
        wfm.bursts=bursts;
        return 0;
    }
    else
    {    comm_printBuf("cannot set less than 1 burst");}

    return 1;
}

void wfm_trigger()
{    wfm.burstTrigger = 1;}

```

PYTHON-SOFTWARE FÜR STEUERCOMPUTER

Der in der Programmierspreche Python (Version 3) verfasste Anwendungscode wird auf dem Steuercomputer ausgeführt. Die Software kommuniziert über eine serielle Schnittstelle mit Sensor- und Pumpentreiberelektronik.

```

/*****
 * File:   CapSense.py - Auslesen und Logging für Sensorelektronik
 *****/
import serial
from time import sleep
from datetime import datetime
import threading

class CapSense():
    def __init__(self):

        #--CAPACITANCE DATA
        self.capacities = [0] * 10                                #Kapazität gemessen mit
AD7142
        self.electrode_order = {'M1':0, 'M1-Full':1, 'R1':2, 'R3':3, 'R2':4, 'M2':5, 'M2-
Full':6, 'End':7,...
                                'M3-Full':8, 'M3':9}

        #--SERIAL
        self.ser = serial.Serial()
        self.ser.baudrate=115200
        self.ser.timeout=1

        #--LOGGING
        self.logging_timestamp = 0
        self.logging_active = False
        self.logging_filepath = None
        self.logging_setup("C:\\Offline_Daten\\NUK_Logs")

        #-- data update thread
        self.gather_data = True
        self.stop_dataThread = False
        self.dataThread = threading.Thread(target=self.update_thread)
        self.dataThread.start()

        ##### SERIAL FUNCTIONS #####
        def open_serial(self, port):
            self.ser.port = port
            self.ser.open()

        def close_serial(self):
            self.ser.close()

        ##### LOGGING FUNCTIONS #####
        def logging_setup(self, folder):
            try:
                fname = datetime.now().strftime("%Y-%m-%d_%H-%M_caplog.txt")
                fpath = folder+"\\ "+fname
                with open(fpath, "a+") as f:
                    sleep(0.1)
                    first_line = f.readline()
                    if not ("Time" in first_line):
                        header = "\t".join([str(n) for n in self.electrode_order.keys()])
                        header = 'Time\t' + header + "\tComment\n"
                        f.write(header)
                self.logging_filepath = fpath
                self.logging_timestamp = datetime.now()
                self.logging_active=True
            except:
                print("Error in logging_setup()")
                self.logging_filepath = None
                self.logging_timestamp = datetime.now()
                self.logging_active=False

        def log(self, comment=''):
            if self.logging_active:
                #if logging_filepath != None:

```

```

        f = open(self.logging_filepath, "a")
        time = datetime.now().strftime('%H:%M:%S.%f')[:]
        line = time + '\t' + '\t'.join([str(c) for c in self.capacities]) + '\t' +
comment + '\n'
        f.write(line)
        f.close()
        self.logging_timestamp = datetime.now()
    if comment != '':
        print("LOG: " + comment)

##### CAPACITANCE DATA FUNCTIONS #####

def update_thread(self):
    while not self.stop_dataThread:
        sleep(0.05)
        if self.gather_data:
            self.update_data()

def update_data(self, comment=''):
    if self.ser.is_open:
        try:
            self.ser.write("getData\0".encode())           #request data from
sensor
            #uart_raw = self.ser.readline().decode('UTF-8') #read UART data from
sensor
            #non-blocking serial read
            uart_raw = ''
            while True:
                if self.ser.inWaiting()>0:
                    uart_raw += self.ser.read(self.ser.inWaiting()).decode('UTF-
8')
                    if "\n" in uart_raw:
                        uart_raw = uart_raw.strip()
                        break
                else:
                    sleep(0.001)

            #parse received data string
            data_hex = uart_raw.split()
            if len(data_hex) != 10:
                print("Error: len(data)!=10\nOriginal message: ", str(uart_raw))
                return

            data_int = [int(n, 16) for n in data_hex] #convert data to integer
and save

            self.capacities = data_int           #update capacitance data
            self.log(comment)

        except Exception as e:
            print("Error: Cannot parse serial data!", e)
            return

#this function returns the current capacitance data
def data(self, el=None, refresh=False, comment=''):
    if refresh:
        self.update_data(comment)

    if el is None:
        return self.capacities
    else:
        idx = self.electrode_index(el)
        return self.capacities[idx]

def electrode_index(self, el):
    if el in self.electrode_order.keys():
        return self.electrode_order[el]
    elif el in self.electrode_order.values():
        return el
    else:
        raise ValueError("Unknown electrode name/index: " + str(el))

##### OFFSET FUNCTIONS #####
#set fixed offset
def setOffset(self, el, offset):
    self.gather_data = False #stop data acquisition
    sleep(0.1)

```

```

self.data()
idx = self.electrode_index(e1)
#offset given - update hardware cap offset
if offset<-20:
    offset=-20
    print("Capacitance offset limited to -20pF")
elif offset>20:
    offset=20
    print("Capacitance offset limited to +20pF")

self.ser.write("setOffset::{X}::{}\0".format(idx, offset).encode())
self.data(comment="Offset:"+str(e1)+"::"+str(offset))
self.gather_data = True #start data acquisition

#read offset and save it to self.offsets list
def getOffset(self, e1):
    self.gather_data = False
    sleep(0.1)
    idx = self.electrode_index(e1)
    try:
        self.ser.write("getOffset::{X}\0".format(idx).encode())
        offset_raw = self.ser.readline().decode("UTF-8")
        offset = float(offset_raw.strip())
        return offset
    except:
        print("Error in getOffset, uart message: ", offset_raw)
        self.gather_data = True

def auto_offset(self, e1):
    self.gather_data = False
    sleep(0.1)
    self.data(comment="Before_AutoOffset:"+str(e1))
    idx = self.electrode_index(e1)
    self.ser.write("autocalib::{d}\0".format(idx).encode())
    sleep(3)
    self.data(comment="After_AutoOffset:"+str(e1))
    self.gather_data = True
    return

/*****
 * File:  MicroPump.py - Ansteuern einer einzelnen Mikropumpe
 *****/
import serial
from time import sleep

class MicroPump():
    """
    PUMP object:
    Stores important pump parameters such as frequency,
    amplitude and associated serial Port
    """
    def __init__(self, port=None):
        #Params
        self.freq = 1
        self.Vhi = 1
        self.Vlo = -1
        self.wfm = "rect"
        self.burstMode = False
        self.burstCount = 1
        self.is_on = False

        self.ser = serial.Serial()
        if port != None:
            self.open_serial(port)

#####
# SERIAL COMMUNICATION FUNCTIONS
#####
def open_serial(self, port, baud=38400):
    self.ser.baudrate = baud
    self.ser.port = port
    self.ser.timeout = 1
    self.ser.open()
    #self.read_params_from_driver()

```

```

def query(self, cmd, dtype="str"):
    self.write(cmd)
    while True:
        ret = self.ser.readline()
        if ret != b"\n":
            break

    if dtype==str:
        return ret.decode("UTF-8").strip()
    elif dtype==float:
        return float(ret)
    elif dtype==int:
        return int(float(ret))
    else:
        raise ValueError("unknown dtype: " + str(dtype))

#WRITE Function: Write serial command to driver PCB
def write(self, command):
    if self.ser.is_open:
        print(command)
        command = command+"\0"
        self.ser.write(command.encode())
        sleep(0.05)

#####
# PUMP CONTROL COMMANDS
#####
def setStatus(self, OnOff):
    state = str(OnOff).lower().strip()
    if state=="1" or state=="true" or state=="on":
        self.on()
    elif state=="0" or state=="false" or state=="off":
        self.off()
    else:
        raise ValueError

def on(self):
    self.is_on = True
    self.write("setStatus:1")

def off(self):
    self.is_on = False
    self.write("setStatus:0")

def TriggerBurst(self):
    self.write("burstTrigger")

def setVhi(self, Vhi):
    if Vhi>=0 and Vhi<400:
        self.Vhi = Vhi
        self.write("setV+:{: .2f}".format(Vhi))
        sleep(0.1)
    else:
        raise ValueError

def setVlo(self, Vlo):
    if Vlo<=0 and Vlo>=-200:
        self.Vlo = Vlo
        self.write("setV-:{: .2f}".format(Vlo))
        sleep(0.1)
    else:
        raise ValueError

def setF(self, f):
    if f>0.001 and f<3000:
        self.freq = f
        self.write("setF:{: .2f}".format(f))
        sleep(0.05)
    else:
        raise ValueError

def setWfm(self, wfm):
    #rect=1, sine=2, trap=3, srs=4}
    wfm=str(wfm).lower().strip()
    if wfm=="rect" or wfm=="rectangular" or wfm=="1":
        self.wfm = "rect"
        self.write("setWfm:1")

```

```

elif wfm=="sine" or wfm=="2":
    self.wfm = "sine"
    self.write("setWfm:2")
elif wfm=="trap" or wfm=="3":
    self.wfm = "trap"
    self.write("setWfm:3")
elif wfm=="srs" or wfm=="4":
    self.wfm = "srs"
    self.write("setWfm:4")
else:
    raise ValueError("setWfm: unknown wfm: " + wfm)
sleep(0.1)

def setMode(self, mode):
    self.off()
    if mode.lower()[0]=="b": # == "burst":
        self.burstMode = True
        self.write("burstMode:1")
        self.on()
    elif mode.lower()[0]=="c": # == "continuous":
        self.burstMode = False
        self.write("burstMode:0")
    else:
        raise ValueError("Unknown mode in setMode: " + str(mode))
    sleep(0.1)

def setBurstCount(self, count):
    count=int(count)
    if count>=1 and count<65536:
        self.burstCount = count
        self.write("burstCount:{:.0f}".format(count))
    else:
        raise ValueError

/*****
* File:   NUKsystem.py - Systemsteuerung
*****/
from MicroPump import MicroPump
from CapSense import CapSense
from time import sleep
import threading

class NUKsystem():

    def __init__(self):
        self.pump = [MicroPump(), MicroPump(), MicroPump(), MicroPump()]
        self.cap = CapSense()
        self.workerThread = None
        self.stopThread = True

    def log(self, comment=""):
        self.cap.log(comment)

    def connect_pump(self, idx, micropump):
        self.pump[idx] = micropump

    def connect_cap(self, cap):
        self.cap=cap

    def init_pump(self, pump_idx, ptype):
        self.pump[pump_idx].setStatus("off")
        self.pump[pump_idx].setMode("continuous")

        if ptype=="steel":
            self.pump[pump_idx].setVhi(300)
            self.pump[pump_idx].setVlo(-80)
            self.pump[pump_idx].setWfm("sine")
        elif ptype=="si-5mm":
            self.pump[pump_idx].setVhi(90)
            self.pump[pump_idx].setVlo(-30)
            self.pump[pump_idx].setWfm("rect")

    def fill_reagent(self, reagent, threshold, freq=10):
        if reagent==1 or reagent=="R1":
            p=0
            el = "R1"
            freq=30

```

```

elif reagent==2 or reagent=="R2":
    p=1
    el = "R2"
    freq=30
elif reagent==3 or reagent=="R3":
    p=2
    el="R3"
    freq=30
elif reagent=="M3":
    p=0
    el="M3-Full"
    freq=100
else:
    raise ValueError("Error in init_reagents: unknown reagent:", reagent)

#Switch pump on until the electrode value exceeds the start value by the
threshold
cap_start = self.cap.data(el)
neg_offset = 0
self.log(comment=el+" (Start)")
self.pump[p].setF(freq)
self.pump[p].on()
while not self.stopThread:

    capacitance = self.cap.data(el)

    #check for negative drop
    if capacitance<cap_start:
        neg_offset = max(abs(neg_offset), abs(cap_start-capacitance))

    #add negative drop and gain since max neg drop
    if((capacitance-(cap_start-neg_offset))+neg_offset)>=threshold:
        break

    sleep(0.05)

self.pump[p].off()          #switch pump off
plus = ((capacitance-(cap_start-neg_offset))+neg_offset)
#print("Filling ", el, "stopped, Threshold: ", plus)
self.log(comment=el+" (Stop), threshold="+str(plus) + " (NO:"+str(neg_offset) +
")")

self.stopThread = True
return plus

def fill_meander(self, meander, thrA, thrB, thrStop, freq=100):
if meander==1 or meander=="M1":
    pA = 0
    pB = 1
    el_meander = "M1"
    el_stop = "M1-Full"
elif meander==2 or meander=="M2":
    pA = 0
    pB = 2
    el_meander = "M2"
    el_stop = "M2-Full"
else:
    raise ValueError("Error in fill_meander: unknown meander:", meander)

self.pump[pA].setF(freq)
self.pump[pB].setF(freq)

fracA = 0
fracB = 0

stop_start = self.cap.data(el_stop)
self.log(comment=el_meander+" (Start)")

while 1:

    #Rekalibrieren, falls Zielwert den Messbereich überschreitet
    while (self.cap.data(meander)+thrA)>65000 and not self.stopThread:
        self.log(comment="Recalibrating "+str(meander))
        print("Recalibrating ", meander)
        self.cap.auto_offset(meander)
        sleep(0.4)

    fracA += self.fill_fraction(pA, el_meander, thrA, el_stop, thrStop)

```

```

        if ((self.cap.data(el_stop)-stop_start) > thrStop) or self.stopThread:
            break

        while (self.cap.data(meander)+thrB)>65000 and not self.stopThread:
            self.log(comment="Recalibrating "+str(meander))
            print("Recalibrating ", meander)
            self.cap.auto_offset(meander)
            sleep(0.4)

        fracB += self.fill_fraction(pB, el_meander, fracA*thrB/thrA-fracB, el_stop,
thrStop) #noise correction
        #fracB += self.fill_fraction(pB, el_meander, thrB, el_stop, thrStop)
        if ((self.cap.data(el_stop)-stop_start) > thrStop) or self.stopThread:
            break

        self.log(comment=el_meander+" (Stop), fracA="+str(fracA)+"", fracB="+str(fracB))
        self.stopThread = True
        return (fracA, fracB)

    def fill_fraction(self, pump_idx, meander_electrode, meander_thr, stop_electrode,
stop_thr):

        #store initial capacitance data (meander and stop electrode)
        #and calculate target capacitance values
        meander_start = self.cap.data(meander_electrode)
        meander_target = meander_start + meander_thr
        stop_start = self.cap.data(stop_electrode)
        stop_target = stop_start + stop_thr

        #switch pump on
        self.log(comment="Pump-"+str(pump_idx))
        self.pump[pump_idx].on()
        sleep(0.01)

        #pump until either fraction is reached, stop electrode is activated or manual
stop executed
        frac_tmp = 0
        while True:

            m = self.cap.data(meander_electrode)
            s = self.cap.data(stop_electrode)

            #Break if thread stopped manually
            if self.stopThread:
                break

            #Break if meander reached capacity target
            if m >= meander_target:
                break

            #break if stop electrode reaches target
            if s >= stop_target:
                print("Stop electrode triggered")
                break

            #recalibrate am Ende des messbereichs, dabei bisher erreichte fraction
übernehmen
            if m>65500:
                self.pump[pump_idx].off()
                print("fraction out of calibration -> perform recalib")
                frac_tmp = self.cap.data(meander_electrode) - meander_start
                self.log(comment="Recalibrating "+str(meander_electrode))
                print("Recalibrating ", meander_electrode)
                self.cap.auto_offset(meander_electrode)
                sleep(0.4)
                self.log(comment="Recalibrating "+str(meander_electrode) + " complete")
                meander_start = self.cap.data(meander_electrode)
                meander_target = meander_start + meander_thr - frac_tmp
                self.pump[pump_idx].on()
                print("Done recalibrating")

            #print(self.cap.data(meander_electrode, refresh=False))
            sleep(0.05)

        #switch off pump
        self.pump[pump_idx].off()

        #return measured capacitance change
        sleep(0.05)

```

```

    cap_change = self.cap.data(meander_electrode) - meander_start + frac_tmp

    return cap_change

def bursts(self, pump_idx, nbursts):
    self.pump[pump_idx].setMode("burst")
    self.pump[pump_idx].setBurstCount(nbursts)
    self.pump[pump_idx].TriggerBurst()
    self.pump[pump_idx].setMode("continuous")

def stop(self):
    self.stopThread = True
    for p in self.pump:
        p.off()

#####
#                               FLUID CONTROL STEPS
#####
def fill_R1(self, threshold):
    self.workerThread = threading.Thread(target=self.fill_reagent, args=("R1",
threshold))
    self.stopThread = False
    self.workerThread.start()

def fill_R2(self, threshold):
    self.workerThread = threading.Thread(target=self.fill_reagent, args=("R2",
threshold))
    self.stopThread = False
    self.workerThread.start()

def fill_R3(self, threshold):
    self.workerThread = threading.Thread(target=self.fill_reagent, args=("R3",
threshold))
    self.stopThread = False
    self.workerThread.start()

def fill_M1(self, fracR1, fracR2, threshold):
    self.workerThread = threading.Thread(target=self.fill_meander, args=(1, fracR1,
fracR2, threshold))
    self.stopThread = False
    self.workerThread.start()

def fill_M2(self, fracM1, fracR3, threshold):
    self.workerThread = threading.Thread(target=self.fill_meander, args=(2, fracM1,
fracR3, threshold))
    self.stopThread = False
    self.workerThread.start()

def fill_M3(self, threshold):
    self.workerThread = threading.Thread(target=self.fill_reagent, args=("M3",
threshold))
    self.stopThread = False
    self.workerThread.start()

def exhaust(self):
    self.log("Exhaust")
    self.pump[3].on()

/*****
* File:   Main.py - Anwender-Code
*****/
# Open system, connect serial devices
from NUKsystem import NUKsystem
s = NUKsystem()
s.pump[0].open_serial("COM14")
s.pump[1].open_serial("COM15")
s.pump[2].open_serial("COM16")
s.pump[3].open_serial("COM17")
s.init_pump(0, "si-5mm")
s.init_pump(1, "si-5mm")
s.init_pump(2, "si-5mm")
s.init_pump(3, "steel")

s.cap.open_serial("COM18")

#Elektroden Kalibrieren
for i in range(10):

```

```
s.cap.auto_offset(i)

%%Reagenzien 1-3 befüllen (Threshold: 35)
e11 = s.fill_R1(35)
e13 = s.fill_R3(35)
e12 = s.fill_R2(35)

#Mäander 1-3 befüllen
s.pump[0].setF(100)
s.pump[1].setF(100)
s.pump[2].setF(100)
s.pump[3].setF(20)

s.fill_M1(350, 145, 120)
s.fill_M2(495, 75, 170)
s.fill_M3(200)

s.exhaust()

#System beenden, Pumpen abschalten
s.stop()
```

DANKSAGUNG

Ich möchte mich bei allen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben:

Prof. Dr. Oliver Hayden für den Themenvorschlag und die Betreuung der Arbeit.

Dr. Sebastian Kibler, der mir in seiner Funktion als mein Gruppenleiter an der Fraunhofer EMFT die möglichen Freiheiten bei der Anfertigung dieser Arbeit einräumte und mich gleichzeitig als Mentor betreut hat.

Dr. Martin Richter, der mir durch die Anstellung als Entwicklungsingenieur an der Fraunhofer EMFT die Möglichkeit zur Promotion eröffnete.

Dr. Francesco de Rose und Lisa Russelli sowie Dr. D'Alessandria und Prof. Weber von der nuklearmedizinischen Abteilung des Klinikums rechts der Isar, durch die ich in die Welt der Radiomarkierung eingeführt wurde und die es mir ermöglichten, meine Systeme in einem realen Umfeld mit radioaktiven Reagenzien und Antikörpern zu testen.

Meinen Kollegen und „Mitdoktoranden“ an der Fraunhofer EMFT für die stetige Unterstützung und die anregenden Diskussionen.

Ganz besonders möchte ich mich auch bei Mauro Keck bedanken, der mich als Werkstudent bei der Durchführung mikrofluidischer Versuche und deren Auswertung unterstützt hat.

Zuletzt möchte ich auch meiner Familie herzlichst danken, ohne eure Hilfe und die moralische Unterstützung hätte ich diese Arbeit wohl nicht beenden können.

Vielen Dank an euch alle!

Thomas Thalhofer