# Experimentelle Untersuchung eines SAW-Systems zur Parallelanalyse einzelner Zellen

Experimental investigations of a SAW system for parallel analysis of single cells

Zhichao Deng<sup>1</sup>, Vijay Kondalkar<sup>2</sup>, Robert Weser<sup>2</sup>, Hagen Schmidt<sup>2</sup>, Christian Cierpka<sup>1</sup> Jörg König<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut für Thermo- und Fluiddynamik, TU Ilmenau, Am Helmholtzring 1, 98683 Ilmenau <sup>2</sup> Leibniz IFW Dresden, SAWLab Saxony, Helmholtzstr. 20, 01069 Dresden

Schlagwörter: Mikrofluidik, akustische Pinzette, Laser-Doppler-Vibrometrie, Astigmatische Particle Tracking Velocimetry, Lumineszenz-Life-Time

Key words: microfluidics, acoustic tweezers, Laser Doppler Vibrometry, Astigmatism Particle Tracking Velocimetry, Luminescence Life Time

# Zusammenfassung

Zur Analyse biologischer Proben wurden Systeme basierend auf akustischen Oberflächenwellen (engl. surface acoustic wave, SAW) demonstriert, die unter Ausnutzung der acoustic radiation force (ARF), in einer Flüssigkeit befindliche Zellen lokal fangen und im Volumen räumlich anordnen können. Dabei werden die Zellen zum einen mechanisch durch den Schalldruck, aber auch durch die durch den acoustic streaming-Effekt hervorgerufene Strömung in der Flüssigkeit beansprucht. Zum anderen erfolgt durch die Absorption der akustischen Energie ein Wärmeeintrag in das System, der die Zellen zusätzlich thermisch belastet. Obwohl nur sehr wenige Erkenntnisse zum Einfluss hochfrequenter Schallwellen vorliegen, werden diese Systeme häufig als minimal auf die Zelle einwirkend betrachtet. Die Schwierigkeit liegt in der Komplexität dieser SAW-Systeme, bei denen akustische, strömungs- und thermodynamische Effekte überlagert auftreten und sich numerisch nicht detailliert untersuchen lassen. Aus diesem Grund wird hier ein ganzheitlich experimenteller Ansatz präsentiert. Am Beispiel einer SAWbasierten akustischen Pinzette zum Einfangen von Modellpartikeln, werden die wechselseitigen Abhängigkeiten zwischen dem Schallfeld und den resultierenden akustophoretischen Partikelbewegungen sowie der Temperatur aufgezeigt. Die experimentelle Charakterisierung fußt dabei auf der Anwendung der Laser-Doppler-Vibrometrie, der astigmatischen Particle Tracking Velocimetry und der Lumineszenz-Life-Time Methode, die für eine in situ-Messung im SAW-System adaptiert werden mussten. Die Korrelation zwischen der akustischen Anregung und den Positionen der Modellpartikel wird eindeutig belegt. Diese ist dadurch gekennzeichnet, dass (i) die Abstände der Partikelpositionen mit den Periodizitäten des SAW-Felds zusammenfallen und (ii) Partikel bevorzugt in Positionen mit maximalen Druckgradienten gefangen werden. Darüber hinaus konnte ein signifikanter Wärmeintrag dokumentiert werden. Selbst bei geringen SAW-Leistungen und kurzer Dauer wurden die Modellpartikel auf ca. 50°C erwärmt. Diese Temperatur kann für viele biologische Proben bereits eine schädliche Wirkung besitzen.

# Einleitung

Durch den Einsatz von akustischen Oberflächenwellen (engl. surface acoustic wave, SAW) in der Mikrofluidik lassen sich kleinste Flüssigkeitsmengen und darin enthaltende Partikel oder

Zellen nicht-invasiv und mit geringen Leistungen gezielt transportieren (Ding et al. 2013, Destgeer et al. 2015). Dabei hat diese Technologie vor allem durch ihre Biokompatibilität das Interesse von Wissenschaftlern aus dem biologischen oder medizinischen Bereich geweckt. So wurden mikrofluidische Systeme zur Separierung von Tumorzellen aus menschlichem Blut (Li et al. 2015, Wu et al. 2019) oder zur Parallelanalyse einzelner Zellen im Populationsverband demonstriert (Collins et al. 2015). Für letztere Untersuchungen wurde ein mikroakustischer Aufbau unter Verwendung von vier SAWs genutzt, wobei die SAWs mittels vier Interdigitalwandler (engl. Interdigital transducer, IDT) auf einem piezoelektrischen Material angeregt wurden (vgl. Abb. 1). Die SAWs breiten sich in Richtung der mittig zwischen den IDT befindlichen Mikrokammer aus und werden durch die Flüssigkeit in der Kammer gedämpft. Hierbei werden vier longitudinale Volumenschallwellen (engl. bulk acoustic wave, BAW) in die Flüssigkeit abgestrahlt und überlagert, was eine komplexe dreidimensionale Schalldruckverteilung in der Kammer zur Folge hat. In den Druckknoten des resultierenden stehenden Wellenfelds lassen sich Partikel durch die acoustic radiation force (ARF) in regelmäßiger Anordnung fokussieren. Die Abstände zwischen den Partikeln sind dabei in erster Näherung durch die Wellenlängen der SAW und BAW gegeben. Allerdings existieren grundlegende Fragestellungen, die nicht nur beim Design eines solchen Systems zu berücksichtigen sind, sondern auch die Anwendung hinsichtlich der Biokompatibilität einschränken können. Diese resultieren aus (i) unbekannten und nichtlinearen Effekten bei der Dämpfung und Streuung der SAW bzw. BAW an den Kammerwänden und den Partikeln, (ii) laufenden Wellenanteilen, die das stehende Wellenfeld überlagern und über den acoustic streaming-Effekt eine Strömung in der Kammer hervorrufen können (Devendran et al. 2016), sowie (iii) der Dissipation der akustischen Energie in Wärme (König et al. 2016, Das et al. 2019). Die Komplexität des Systems sowie teils unzureichend bekannte Materialparameter und Randbedingungen erfordern eine ganzheitliche experimentelle Untersuchung der oben genannten Effekte. Unter Berücksichtigung neuartiger optischer Messtechniken, wurde hierfür ein SAW-System realisiert (siehe Abb. 1), das über die eigentliche Anwendung hinaus die Erforschung der grundlegenden Fragestellungen (i-iii) erlaubt. In diesem können in situ das SAW-Feld, die Partikelfokussierung sowie der akustisch induzierte Wärmeintrag experimentell gemessen werden. Für die Messung des SAW-Felds kommt die konventionelle Laser-Doppler-Vibrometrie (LDV) mit adaptiertem optischen Aufbau zum Einsatz (Kiebert et al. 2017, Weser et al. 2021). Um die dreidimensionale Messung der akustophoretischen Partikelbewegung und deren Fokussierung zu studieren, wird die astigmatische Particle Image Velocimetry (APTV) eingesetzt (Cierpka et al. 2010). In Kombination mit der Lumineszenz-Life-Time-Methode erlaubt diese die simultane Messung von Position und Temperatur der Partikel im Volumen (Massing et al. 2018). Die zuvor genannten optischen Messtechniken wurden entsprechend adaptiert, um in situ Messungen basierend auf der optischen Transmission des piezoelektrischen Substrats zu ermöglichen, sowie um mögliche Querempfindlichkeiten durch einen zusätzlichen Wärmeeintrag während der Messung zu kompensieren. Auf diese Weise können ganzheitliche Untersuchungen der mikroakustischen, akustophoretischen und akustothermischen Effekte am Beispiel des hier vorgestellten SAW-Systems erfolgen, wodurch erstmalig die strömungsmechanischen sowie thermodynamischen Zusammenhänge in Korrelation zu den tatsächlichen akustischen Feldern in der SAW-Mikrofluidik gebracht werden können.

#### **Experimenteller Aufbau und Methodik**

Für die experimentellen Untersuchungen wurde ein System bestehend aus zwei orthogonal zueinander angeordneten Paaren gegenüberliegender IDTs auf einem Lithiumniobatsubstrat (128° Y LiNbO<sub>3</sub>) angeordnet. Die Elektrodenstrukturen der IDT wurden entsprechend den unterschiedlichen Eigenschaften beider Ausbreitungsrichtungen ( $X, X + 90^\circ$ ) derart angepasst,

dass eine vergleichbare SAW-Anregung bei gleicher Frequenz möglich ist. Dementsprechend kann ein stehendes Wellenfeld in zwei Richtungen angeregt werden. Die zu erwartenden SAW-Wellenlängen betragen ca.  $\lambda_x \approx \lambda_{x+90^\circ} \approx 120 \,\mu$ m. Die Richtung der kristallografischen X-Achse fällt dabei mit der y-Achse des für die messtechnischen Untersuchungen gewählten Koordinatensystems zusammen. Mittig zu den IDTs befindet sich eine Mikrokammer mit quadratischer Grundfläche, deren Seitenlänge mit 1,2 mm der Apertur der IDTs entspricht. Die Mikrokammer wurde aus Polydimethylsiloxan (PDMS) gefertigt und hat eine Kammerhöhe von 88 µm. Die Frequenz zur Anregung der vier SAWs beträgt 32,4 MHz. Zur Anregung der SAW wurde ein zweikanaliger PowerSAW-Generator (BelektroniG GmbH) eingesetzt. Beide Ausgänge des Generators waren gekoppelt, so dass beide Ausgangssignale die gleiche Frequenz und Phasenlage zueinander hatten. Jedes der beiden Ausgangssignale wurde über einen zusätzlichen Splitter den gegenüberliegenden IDTs einer Ausbreitungsrichtung aufgeprägt. Als Modellpartikel wurden 10 µm große PMMA-Partikel (Surflay Nanotec GmbH) verwendet, die in einer Wasser-Glyzerin-Lösung suspendiert waren. Diese Partikel sind mit dem temperatursensitiven, phosphoreszierenden Farbstoff Europium (III) thenoyltrifluoroacetonate (EuTTa, an/em 360/615 nm) markiert und erlauben durch Messung der Phosphoreszenzlebensdauer die simultane Erfassung der Position und Temperatur der Partikel (Massing et al. 2018).



Abbildung 1 Foto des SAW-Systems mit vier IDTs zur Anregung eines stehenden Wellenfelds in der Mikrokammer, in dessen Druckminima die PMMA-Partikel in regelmäßigen Abständen fokussiert werden. Die unterschiedlich elliptisch geformten Partikelbilder der APTV-Aufnahme (links oben) indizieren Partikelpositionen in unterschiedlicher Höhe.

#### Messung des SAW-Felds

Die Charakterisierung des SAW-Felds in der Mikrokammer wurde mit einem konventionellen Laser-Doppler-Vibrometer (LDV, UHF-120, Polytec GmbH) mit modifizierten Strahlengang durchgeführt. Eine Messung der SAW erfolgt üblicherweise auf der Oberseite, d.h. auf der Seite des Substrats, auf der sich die SAW ausbreitet. Allerdings ist die Charakteristik der SAW nicht nur von den Eigenschaften und der Orientierung des piezoelektrischen Materials abhängig, sondern wird entscheidend durch die mit der Flüssigkeit gefüllten Mikrokammer beeinflusst. Aus diesem Grund ist eine in situ-Messung der SAW erforderlich, um die Korrelation zwischen dem realen SAW-Feld und den Positionen sowie den Temperaturen der fokussierten Partikel in der Mikrokammer aufzeigen zu können. Da LiNbO<sub>3</sub> doppelbrechend ist, musste zwischen dem Substrat und dem Objektiv des LDV ein linearer Polarisationsfilter positioniert und ausgerichtet werden, um den außerordentlichen Strahl zu blocken. Durch eine Kalibriermessung mit einem identischen Chip und gleicher Anregung, wurden der Brechungsindex des transmittierten Strahls sowie mögliche elasto-optische und elektro-optische Effekte berück-

sichtigt (Kiebert et al. 2017, Weser et al. 2021). Durch den langen Arbeitsabstand des verwendeten Objektivs (Mitutoyo, M20x, NA=0,4) konnte rückseitig durch das Substrat die oberflächennormale Amplitude (Betrag und Phase) an einem Punkt mit einem Durchmesser von < 2,5 µm gemessen werden. Mit einer Traversierung des Messpunkts in äquidistanten Abständen von  $\Delta x = \Delta y = 10 \ \mu m$  wurde das SAW-Feld innerhalb der gesamten Mikrokammer vermessen. Währenddessen wurde die Wasser-Glyzerin-Lösung ohne Partikel und mit sehr geringem Volumenstrom durch die Mikrokammer gepumpt, um ein Sedimentieren von im System verbliebenden Partikeln zu vermeiden und mögliche Gasblasen abzutransportieren.

## Messung von Partikelposition und Temperatur

Zur Charakterisierung der Partikelfokussierung und des Wärmeintrags in die Mikrokammer, wurde die Wasser-Glyzerin-Lösung mit den 10 µm großen Modellpartikeln versetzt. Da die Wellenlänge der SAW deutlich größer als der Durchmesser der verwendeten Partikel war, konnte es während der Fokussierung zu Agglomerationen von Partikeln in den akustischen Druckknoten des BAW-Felds kommen. Allerdings bedarf die APTV einer Einzelpartikeldetektion. Aus diesem Grund wurde nur eine sehr geringe Partikelkonzentration verwendet, wodurch die Wahrscheinlichkeit einer Partikelagglomeration verringert und eine zuverlässige Messung von Position und Temperatur der fokussierten Partikel gewährleistet werden konnte. Jedoch waren durch die geringe Partikelkonzentration nicht alle Druckknoten des BAW-Felds besetzt, weshalb die Messungen zur Charakterisierung der Partikelfokussierung über die gesamte Mikrokammer unter gleichen experimentellen Bedingungen mehrfach wiederholt wurden. Vor jeder Versuchsdurchführung wurde die Mikrokammer durch drei der vier Einlässe mit der Partikellösung befüllt, um eine zufällige aber gleichmäßige Partikelverteilung über der gesamten Kammer zu erreichen. Nach dem Schließen der Ventile der Einlässe des SAW-Systems wurde fünf Minuten gewartet. Während dieser Wartezeit sanken die 10 µm großen PMMA Partikel aufgrund des Dichteunterschieds zur Lösung ab, weshalb sich die Partikel vor der Fokussierung nahe der Substratoberfläche (LiNbO<sub>3</sub>) befanden. Die Beobachtung der Partikel erfolgte mit Hilfe eines inversen Mikroskops (Axio Observer 7, Zeiss GmbH), das mit einem Plan-Neofluar Mikroskopobjektiv (M20x/NA=0,4, Zeiss GmbH) ausgestattet war. Der Aufbau des Messsystems ist in Abb. 2 schematisch dargestellt. Zur Beleuchtung und Anregung der phosphoreszierenden Partikel kam eine leistungsstarke LED (Solis365C, Thorlabs Inc.) mit einer zentralen Wellenlänge von 365 nm zum Einsatz. Um die Messung von nur einer Seite zu ermöglichen und Reflexionen des Anregungslichts optisch zu unterdrücken, wurde ein Filterwürfel bestehend aus einem dichroitischen Langpassspiegel mit einer cut-on-Wellenlänge von 409 nm (86-330, Edmund Optics) sowie einem Langpassfilter mit einer cut-on-Wellenlänge von 550 nm (FELH0550, Thorlabs Inc.) verwendet. Da das LiNbO3 optisch doppelbrechend ist, wird das von den Partikeln emittierte Licht in zwei senkrecht zueinander polarisierte Teilstrahlen aufgespaltet, wodurch sich zwei Bilder für ein Partikel ergeben. Um die Doppelbilder, die sich zum Teil auch überlappen können, zu vermeiden, wurde das Mikroskop mit einem verstellbaren linearen Polarisationsfilter (Analysatorschieber, Zeiss GmbH) ausgestattet. Zur Erzeugung des Astigmatismus wurde eine Zylinderlinse mit einer Brennweite von 200 mm ca. 40 mm vor der sCMOS-Kamera (LaVision GmbH) in den Beobachtungspfad eingebracht. Die Zylinderachse war dabei so orientiert, dass die effektive Brennweite der optischen Abbildung in y-Richtung verkürzt wurde, während diese für die x-Richtung nahezu unverändert blieb. Elliptische Partikelbilder sind die Folge, deren Form von der z-Position der Partikel im Messvolumen abhängt, wodurch sich auf die dreidimensionale Partikelposition schließen lässt (Cierpka et al. 2010, Cierpka et al. 2011). Zur Kalibrierung dieses Zusammenhangs wurden mit dem SAW-System Kalibriermessungen mit auf dem Boden sedimentierten Partikeln durchgeführt. Dabei konnte eine Messvolumentiefe von mehr als 90 µm festgestellt werden. Somit konnte die gesamte Höhe der Mikrokammer abgebildet werden, während das Sichtfeld (laterale Breite des Messvolumens) mit 830  $\mu$ m x 835  $\mu$ m kleiner als die Breite der Mikrokammer war.

Zur simultanen Messung der Temperatur wurde die APTV mit der Lumineszenz-Life-Time-Methode kombiniert, weshalb nicht nur die Form der elliptischen Partikelbilder, sondern auch die zeitliche Änderung der Intensität bewertet werden muss (Massing et al. 2018). Zur Bestimmung der Lumineszenzlebensdauer werden üblicherweise Lasersysteme mit ultrakurzen Laserpulsen (~5 ns) eingesetzt. Dabei lässt sich die Lumineszenzlebensdauer  $\tau_L$  aus den Partikelbildintensitäten  $I_1$  und  $I_2$ , der dem kurzen Laserpuls nachfolgenden Bildaufnahmen bestimmen (Massing et al. 2018).

$$\tau_L = \frac{t_2 - t_1}{\ln(l_2/l_1)} \tag{1}$$

Da die Lumineszenzlebensdauer von EuTTa sehr kurz (~300 µs) ist, müssen die Zeitpunkte  $t_1$  und  $t_2$ , sowie die Integrationszeit sehr gut bekannt sein, weshalb für die Messungen Hochgeschwindigkeitskameras verwendet werden. Allerdings können Lasersysteme hier nicht zur Anwendung kommen, da die hochenergetischen Laserpulse zu einer Erwärmung des kleinen Flüssigkeitsvolumens in der Mikrokammer führen. Dieser Quereffekt wird durch die in Abb. 3 dargestellten Beispielmessungen verdeutlicht. In Abb. 3 (links) wurde die Temperatur in der Mikrokammer mit einem aus (Massing et al. 2018) vergleichbaren Messsystem erfasst. Wie ersichtlich, nimmt die Temperatur während der Messung in der Mikrokammer zu. Da jedoch keine akustische Anregung und somit keine Leistung in das SAW-System eingebracht wurde, ist diese Temperaturerhöhung allein auf die vom Laser induzierte Leistung zurückzuführen. Um diesen Quereffekt zu vermeiden, wurde für die Temperaturmessung ebenso die High-Power-LED und die sCMOS-Kamera verwendet. Dabei lassen sich die um Größenordnungen geringeren Intensitäten der LED nur geringfügig durch die höhere Sensitivität der rauschärmeren sCMOS-Kamera ausgleichen. Folglich müssen deutlich längere Pulsdauern berücksichtigt werden. Darüber hinaus unterscheidet sich das Ausleseverhalten der sCMOS-Kameras von denen der Hochgeschwindigkeitskameras. Während bei letztgenannten die Integrationszeiten beider Bilder  $(I_1, I_2)$  identisch sind, ist bei der sCMOS-Kamera die Belichtungsdauer des zweiten Frames des Doppelbilds durch die Auslesezeit des ersten Frames bestimmt und deutlich länger. Aus diesem Grund musste für die Temperaturmessung zunächst ein neues Konzept erarbeitet und untersucht werden, das die Beleuchtung und Aufnahme mit der LED und der sCMOS-Kamera berücksichtigt. Dieses Konzept ist in Abb. 2 skizziert und zeichnet sich durch eine synchrone Beleuchtung und Belichtung während des ersten Frames aus. Die Intensität  $I_1$ eines Partikelbilds in diesem Frame dient dabei als Referenzintensität und erlaubt mit der im Frame 2 erfassten Intensität  $I_2$  durch Quotientenbildung  $I_2/I_1$  eine Schätzung der Lumineszenzlebensdauer und damit der Temperatur des Partikels. Um ein geeignetes Timing zu eruieren, wurden zunächst Kalibriermessungen durchgeführt. Dazu wurde eine Temperaturkalibriereinheit verwendet, bestehend aus einem mit der Partikellösung gefüllten dünnen PDMS-Ring, der sich zwischen einem zum SAW-System identischen LiNbO3-Substrat an der Unterseite und einem Peltierelement an der Oberseite befand. Damit konnten zur Messung im SAW-System nahezu identische Verhältnisse vorgegeben werden. Für unterschiedliche Belichtungszeiten wurden Kalibriermessungen mit auf dem LiNbO3 sedimentierten Partikeln in einem Temperaturbereich von 12,5°C bis 50°C mehrfach durchgeführt. In Abhängigkeit zum Signalzu-Rauschverhältnis sowie zur Sensitivität der Kalibrierunktion, wurde für die Messungen in dem SAW-System eine Doppelbild-Framerate von 10 Hz mit einer Belichtungs- und Beleuchtungsdauer von 800 µs im ersten Frame als geeignet eruiert. Die deutlich kürzere Interframing-Zeit der sCMOS-Kamera mit 120 ns kann hierbei vernachlässigt werden. Dass mit diesem

Aufbau Temperaturmessungen ohne systematische Messabweichungen durch die eingebrachte Lichtleistung möglich sind, verdeutlicht Abb. 3 (rechts). Im Vergleich zu den Ergebnissen mit Laser kann mit dem LED-Messsystem kein Anstieg der Temperatur in der Kammer während einer Messung festgestellt werden. Im Unterschied zur laserbasierten Emissionsanregung bleibt die Temperatur offenbar konstant.



Abbildung 2 Schematische Darstellung des Messsystems zur simultanen Positions- und Temperaturmessung im SAW-System mittels APTV und Lumineszenz-Life-Time Methode.



Abbildung 3 Beispielmessung der Temperatur in der Mikrokammer des SAW-Systems ohne akustische Anregung (links) mit Laser und (rechts) mit LED.

Zur Charakterisierung der Partikelfokussierung und der Temperaturverteilung in der Mikrokammer, wurde nach dem Befüllen und der Wartezeit von 5 min zunächst eine Messung ohne SAW-Anregung durchgeführt. Diese Messung der sedimentierten Partikel diente als Referenzmessung. Dabei wurden 100 Doppelbilder mit einer Framerate von 10 Hz an insgesamt fünf unterschiedlichen Messpositionen aufgenommen. Zunächst in der Mitte der Kammer und anschließend an vier benachbarten Positionen, die jeweils um  $\Delta x = \pm 360 \,\mu\text{m}$  und  $\Delta y = \pm 390 \,\mu\text{m}$  zur Mitte der Kammer verschoben waren. Anschließend wurde eine elektrische Gesamtleistung von  $P_{el} = 1.3$  W pro Ausgang des PowerSAW-Generators angelegt, die für die gesamte Dauer von ca. 350 s konstant gehalten wurde. Um transiente Effekte zunächst auszublenden und das SAW-System unter stationären Bedingungen zu untersuchen, wurden nach dem Start der SAW-Anregung weitere 5 min gewartet. Zur Synchronisierung der Startzeitpunkte von SAW-Anregung und Messung, wurde der PowerSAW-Generator mit der Synchronisationseinheit des Messsystems gekoppelt. Innerhalb der verbleibenden 50 s wurden, identisch zur Referenzmessung, Messungen an den fünf unterschiedlichen Messpositionen in der Kammer durchgeführt. Aufgrund der geringen Partikelkonzentration wurde diese Messprozedur unter gleichbleibenden experimentellen Randbedingungen 40 Mal wiederholt, um die Partikelfokussierung und das Temperaturverhalten über der gesamten Kammer mit einer ausreichend hohen virtuellen Partikelkonzentration untersuchen zu können. Um darüber hinaus eine Abhängigkeit der Temperatur der Partikelsuspension von der eingestellten elektrischen Leistung aufzeigen zu können, wurden die Messungen mit insgesamt sieben verschiedenen Leistungen wiederholt. Bei diesen Untersuchungen wurde das Messvolumen nicht traversiert und die Partikelpositionen sowie die Temperatur nur in der Mitte der Kammer gemessen. Pro eingestellter elektrischer Leistung wurden vier Versuchsdurchführungen durchlaufen. Dabei ist anzumerken, dass die in die Mikrokammer eingekoppelte akustische Leistung aufgrund von Verlusten und Reflexionen lediglich einen Bruchteil der aufgeprägten elektrischen Leistung ausmacht. Die aufgenommenen Doppelbilder wurden nach den Versuchsdurchführungen mit Matlab ausgewertet, um die einzelnen Partikelbilder zu identifizieren und gemäß der kombinierten APTV und Lumineszenz-Life-Time- Auswertung die dreidimensionalen Positionen sowie die Temperatur der entsprechenden Partikel in der Kammer zu bestimmen. Der überwiegende Teil der Partikel blieb während einer Versuchsdurchführung in den Druckminima des BAW-Felds gefangen, so dass bei jeder Versuchsdurchführung für jedes Partikel jeweils eine mittlere Position und Temperatur bestimmt werden konnte. Bei den Versuchsdurchführungen, bei denen Druckminima mehrmals von Partikeln besetzt waren, wurden die geschätzten Partikelpositionen und Temperaturen über alle Partikel bestimmt.

## **Ergebnisse und Diskussion**

In Abb. 4 (links) sind die über alle Versuchsdurchführungen bestimmten mittleren Partikelpositionen im Volumen dargestellt. Es wird deutlich, dass die Partikel aufgrund der Druckverteilung der BAW in regelmäßigen Abständen zueinander ausgerichtet wurden. Allerdings nur auf zwei unterschiedlichen Ebenen, obwohl die Mikrokammer eine Höhe von 88 µm hat und unter Berücksichtigung der Wellenlänge der BAW weitere Druckminima in Höhenrichtung zu erwarten wären. Die Ursache dafür ist in der Versuchsdurchführung zu suchen. Durch die fünfminütige Wartezeit vor jeder Messung, sanken die 10 µm großen PMMA Partikel aufgrund des Dichteunterschieds zur Lösung ab. Damit befanden sich die Partikel vor der Fokussierung nahe dem Boden der Mikrokammer und wurden mit Anregung der SAWs bevorzugt in den dem LiNbO3-Substrat nahen Druckminima gefangen. Die mittleren Höhenpositionen der Partikel für die beiden besetzten Ebenen konnten zu  $\overline{z}_{p,1} \approx 5,2 \ \mu m$  und  $\overline{z}_{p,2} \approx 26,3 \ \mu m$  bestimmt werden. Der mittlere Abstand zwischen den Partikeln wurde in x-Richtung zu  $\overline{d}_{p,x} = 57,3 \,\mu\text{m}$ und in y-Richtung zu  $\overline{d}_{p,y} = 61,5 \,\mu\text{m}$  bestimmt. Dies stimmt mit den durch LDV-Messungen ermittelten Periodizitäten der SAWs in x-Richtung von 56 µm und in y-Richtung von 62 µm recht gut überein. Dies wird in Abb. 4 (rechts) deutlich, in der die mittleren Partikelpositionen der unteren Ebene der gemessenen SAW-Amplitudenverteilung in der Mikrokammer gegenübergestellt sind. Dem regulären Muster des stehenden SAW-Felds folgend, sind die Partikel in der Nähe von lokalen Minima des SAW-Felds fokussiert. Dabei nehmen die Partikel nicht die Positionen der Wellenknoten ein, die zwischen vier Maxima des SAW-Felds liegen, sondern werden bevorzugt in Positionen fokussiert, die durch einen hohen Gradienten der SAW-Amplitude gekennzeichnet sind. Die Ursache dafür ist in dem Verhältnis zwischen der SAW-Wellenlänge und der Partikelgröße zu suchen. Da in unmittelbarer Substratnähe die Charakteristik der BAW mit der der SAW zusammenfällt, bestätigt die Gegenüberstellung beider Messungen zweifelsfrei die Korrelation zwischen dem akustischen Feld und den Partikelpositionen in der Flüssigkeit.



Abbildung 4 (links) 3D-Darstellung der gemessenen Partikelpositionen in der Mikrokammer. Zur besseren Unterscheidung der unterschiedlichen Höhenpositionen, sind die Partikelpositionen in der unteren Ebene blau und in der oberen Ebene rot dargestellt. (rechts) Gegenüberstellung der lateralen Partikelpositionen der unteren Ebene zur Amplitudenverteilung der stehenden SAW in der Mikrokammer.

Neben der Partikelfokussierung in den Druckminima erfolgt aufgrund der Absorption der akustischen Energie ein Wärmeeintrag in das SAW-System, der sich in einem Anstieg der Temperatur der Flüssigkeit als auch der Seitenwände der Mikrokammer widerspiegelt (Ha et al. 2015, Das et al. 2019). Der lokale Temperaturanstieg ist dabei durch die lokale Dämpfung der akustischen Wellen (SAW und BAW) sowie durch diffusiven und konvektiven Wärmetransport im System abhängig (Das et al. 2019). Unter stationären Bedingungen, die hier angenommen werden können, wurde für die beschriebene Partikelfokussierung mit einer angelegten elektrischen Leistung von insgesamt  $P_{el} = 1,3$  W eine mittlere Temperatur der fokussierten Partikel von ca. 50°C gemessen. Diese Temperatur ist für biologische Proben, z.B. humane Zellentypen, bereits zu hoch und kann je nach Exposition zum Zelltod führen (Wiklund 2012). Der Temperaturanstieg ist von der angelegten elektrischen Leistung abhängig. In Abb. 5 ist der gemessene Temperaturanstieg  $\Delta T$  für verschiedene elektrischen Leistungen dargestellt. Wie erwartet, ist die Temperaturerhöhung direkt proportional zur angelegten elektrischen Leistung (Das et al. 2019). Während dieses Verhalten allgemein gültig ist, besitzt die guantitative Abhängigkeit mit einem Anstieg der Temperatur von  $\approx 19$  K/W nur für dieses betrachtete SAW-System Gültigkeit. Ändern sich experimentelle Parameter, wie das elektrische Verhalten der IDTs, das Material und die Größe der Mikrokammer, die Dicke der Seitenwände oder die Flüssigkeit, in der die Partikel suspendiert sind, dann hat das direkten Einfluss auf die Ausbreitung und Dämpfung der akustischen Wellen im System. Folglich ändert sich die in die Flüssigkeit eingebrachte akustische Leistung. Weitere Details zur Temperaturverteilung in der Mikrokammer sowie zu akustophoretischen und thermischen Effekten im transienten Zustand des SAW-Systems, werden Gegenstand und Diskussion des Vortrags während der Konferenz sein.

#### Dankesworte

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) für die finanzielle Unterstützung (Cl 185/6-1 und SCHM 2365/17-1). Besonderer Dank für die Arbeiten zur Fertigung des SAW-

Systems gilt Christian Koppka, Manuela Breiter, Joachim Döll und Dr. Arne Albrecht vom DFG-Gerätezentrum "Mikro-Nano-Integration" der TU Ilmenau sowie Dina Bieberstein und Andreas Bust vom IFW Dresden.



Abbildung 5 Gemessene mittlere Temperaturerhöhung  $\Delta T$  in der Mikrokammer in Abhängigkeit von der angelegten elektrischen Leistung  $P_{el}$ .

#### Literatur

**Cierpka C.; Segura R.; Hain, R.; Kähler, C.J.**, 2010: A simple single camera 3C3D velocity measurement technique without errors due to depth of correlation and spatial averaging for microfluidics, Meas. Sci. Technol. 21: 045401

Cierpka, C., Rossi, M., Segura, R., Kähler, C.J., 2011: On the calibration of astigmatism particle tracking velocimetry for microflows, Meas. Sci. Technol. 22: 015401

**Collins, D.J, Moraha B., Garcia-Busto, J., Doerig, C., Plebanski, M., Neild, A**., 2015: Two-dimensional single-cell patterning with one cell per well driven by surface acoustic waves, Nature Communications 6: 8686

**Das, P., Snider, A., Bhethanabotla, V**., 2019: Acoustothermal heating in surface acoustic wave driven microchannel flow, Phys. Fluids 31: 106106

**Destgeer, G., Sung, H**., 2015: Recent advances in microfluidic actuation and micro-object manipulation via surface acoustic waves, Lab Chip 15: 2722-2738

Devendran, C., Albrecht, T., Brenker, J., Alan, T., Neild, A., 2016: The importance of travelling wave components in standing surface acoustic wave (SSAW) systems, Lab Chip 16: 3756-3766

Ding, X., Li, P., Lin, S., Stratton, Z., Nama, N., Guo, F., Slotcavage, D., Mao, X., Shi, J., Costanzo, F., Huang, T., 2013: Surface acoustic wave microfluidics, Lab Chip 13: 3626-3649

Ha, B., Lee, K., Destgeer, G., Park, J., Choung, J., Jung, H., Shin, J., Sung, H., 2015: Acoustothermal heating of polydimethylsiloxane microfluidic system, Sci Rep 5: 11851

**Kiebert, F., Wege, S., Massing, J., König, J., Cierpka, C., Weser, R., Schmidt, H.**, 2017: 3D measurement and simulation of surface acoustic wave driven fluid motion: a comparison, Lab Chip 17:2104-2114

König, J., Kykal, C., Schmidt, H., 2016: Messung der durch akustische Oberflächenwellen induzierten Geschwindigkeits- und Temperaturverteilung in Flüssigkeiten mittels DDPIV und PLIF, Proceedings der 24. Fachtagung "Experimentelle Strömungsmechanik", Cottbus

Li, P. et al. 2015: Acoustic separation of circulating tumor cells, PNAS 112(16): 4970-4975

Massing, J., Kähler, C., Cierpka, C., 2018: A volumetric temperature and velocity measurement technique for microfluidics based on luminescence lifetime imaging, Exp. in Fluids 59:163

Weser, R., Schmidt, H., 2021: In situ surface acoustic wave field probing in microfluidic structures using optical transmission interferometry, J. Appl. Phys. (accepted for publication), DOI: 10.1063/5.0055231

Wiklund, M., 2012: Acoustofluidics 12: Biocompatibility and cell viability in microfluidic acoustic resonators, Lab Chip 12: 2018-2028

Wu, M. et al., 2019: Circulating Tumor Cell Phenotyping via High-Throughput Acoustic Separation, Small 14:e1801131