

Separation – effizienteres Arbeiten mit computergestützter Simulation

Der Wettbewerb im Bereich der Mikrobiologie wird zunehmend härter. Nur die Unternehmen gewinnen, die hochwertige und zugleich preisgünstige Dienstleistungen oder Produkte anbieten können. Eine entscheidende Herausforderung liegt in der effizienten Durchführung der Separation.

Zur Trennung und Vorbereitung von Proben werden häufig elektrokinetische Strömungstechniken eingesetzt. So werden hohe Trennleistungen, geringe Probenanforderungen, kurze Analysezeiten, sowie kostengünstiges Arbeiten ermöglicht [1]. Experimente aber sind kostspielig und erfordern zudem hohen Arbeitsaufwand. Eine Möglichkeit, Kosten- und Aufwand zu reduzieren, bietet die Simulationssoftware Femlab, die auf der Finite-Element-Methode (FEM) basiert. Mit ihr lassen sich biotechnische Prozesse am Computer entwickeln. Sie umfasst verschiedene Anwendungsmoden (z.B. für Strömungs- oder elektrostatische Phänomene, elektrokinetische Strömung) und kann auch eigene Gleichungen berechnen (z.B. reaktionskinetische Vorgänge oder temperaturabhängige Bewegungen von Ionen).

Bei der Elektrokinese gibt es zwei völlig unterschiedliche Prozesse: Elektroosmose und Elektrophorese. Je nach Beschaffenheit von Proben und Apparatur treten entweder eine oder beide Strömungen auf. Elektroosmotische Strömung entsteht durch Anlegen eines elektrischen Feldes auf einen Kanal und über den Feststoff-Flüssigkeits-Übergang an der Innenwand. Die unbeweglichen Ladungen, die auf der Innenfläche entstehen, führen zu einer Schicht unbeweglicher Spezies mit entgegengesetzter Ladung (Stern-Schicht), gefolgt von einer stärker diffusen Schicht entgegengesetzt geladener Spezies, die frei in dem elek-

trischen Feld migrieren können [1]. Der Geschwindigkeitsgradient senkrecht zur Wand führt zu einem viskosen Transport in dieser Richtung, wobei die umgebende Flüssigkeit mitgezogen wird. Das Geschwindigkeitsprofil wird im Querschnitt senkrecht zur Wand schnell homogen (Abb. 1).

Ein Vorteil elektroosmotischer Strömung ist, dass sie keine parabolischen Geschwindigkeitsprofile erzeugt. Sie vereinfacht auch nichtinvasive Analysen, da die Verteilung der Spezies nur in axialer Richtung erfolgt. Angewendet wird die elektroosmotische Strömung z.B. bei

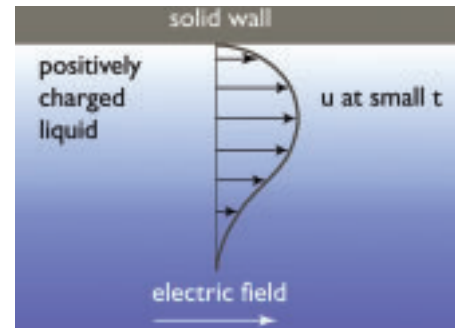


Abb. 1: Elektroosmotische Strömung: Die Flüssigkeit strömt in Richtung des elektrischen Feldes und erzeugt innerhalb kurzer Zeit ein homogenes Geschwindigkeitsprofil senkrecht zur Wand.

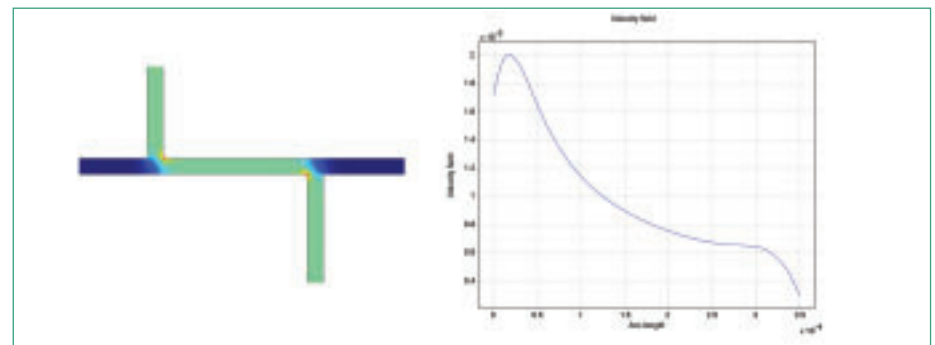


Abb. 2: Geschwindigkeitsprofil und Querschnitt der Geschwindigkeit in einem DNA-Chip (Dr. Jordan MacInnes, University of Sheffield). Das Modell wurde in Femlab mit den Anwendungsmodi Incompressible Navier-Stokes and Conductive Media DC durchgeführt.

DNA-Chips: Trennung, Vorbereitung und Analyse von DNA-haltigen Proben werden für zahlreiche Anwendungen kombiniert.

Beim Bau von Mikrokanälen müssen z.B. Ecken besonders berücksichtigt werden. Abbildung 2 zeigt ein Beispiel: Unter Druckanwendung passiert die elektroosmotische Strömung in einem DNA-Chip zwei Ecken. Die Raumladungsdichte an den Ecken ist höher als entlang der Kanäle, was schnellere Strömung zur Folge hat.

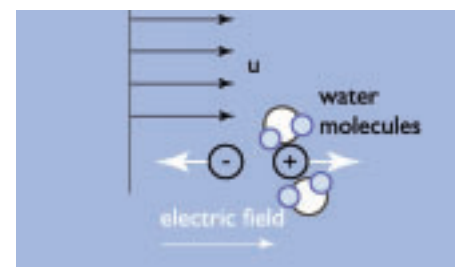


Abb. 3: Elektrophoretische Strömung. Das Kation lagert sich an die Wassermoleküle an und „reißt“ sie dementsprechend zur Kathode mit. Das Anion bewegt sich zur Anode. Die elektrophoretische Geschwindigkeit tritt innerhalb der Richtung der Kathode auf.



Abb. 4: Die Konzentrationsverteilung während des Fokussierungs- (links) und des Injektionsstadiums (Mitte, rechts) in einem elektrokinetischen Ventil. Die Trennung ist infolge der Erdung der Enden des linken und rechten Kanals unzureichend. Das Modell wurde angeregt durch Ermakov et al [3] und in Femlab mit den Anwendungsmoden Incompressible Navier-Stokes, Conductive Media DC und Elektrokinetische Strömung berechnet.

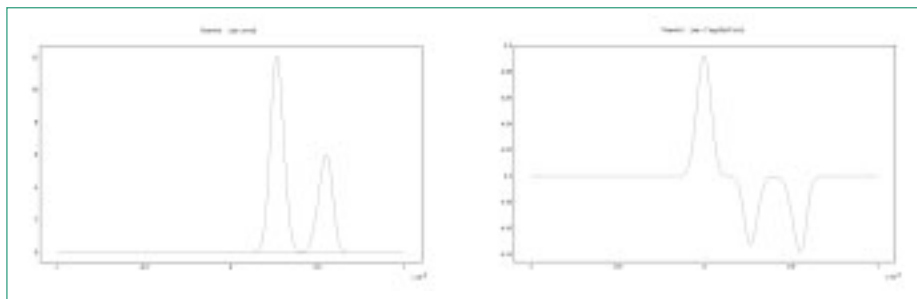


Abb. 5. Das Konzentrationsprofil für Benzoessäure und o-Chlorbenzoessäure (links) und der pH-Wert in dem System (rechts) bei $t=0,4$ Sek. Das Background-Elektrolyt wurde mit Natriumazetat gepuffert. Das Modell wurde in Femlab mit den Anwendungsmoden General-PDE und Elektrokinetische Strömung erstellt.

Elektrophoretische unterscheidet sich von elektroosmotischer Strömung dadurch, dass sich geladene Spezies-Moleküle innerhalb des elektrischen Feldes bewegen und dabei das Lösungsmittel ‚mitreißen‘. Hier tritt der ‚Mitreibeffekt‘ eher durch elektrostatische als durch viskose Kräfte auf. Das hängt von Größe, Orientierung und Ladung der Spezies ab und führt zur Mobilität der Ionen. Negativ und positiv geladene Ionen migrieren in verschiedenen Richtungen und lagern sich entsprechend der Raumladungsdichte und ihrer Größe an die Wassermoleküle an (Abb. 3).

Elektrophoretische Geräte, die nicht auf elektroosmotischem Effekt basieren, haben an den Innenflächen der Kanal- oder Kapillarwände isolierte Materialien. Diese Konstruktion kann zu Fehlern führen. Das Beispiel zeigt die „Injektionstechnik“ zur Analyse eines Anions. Eine Pufferlösung, die das Anion enthält, wird pneumatisch in das Gerät injiziert (von links, oben und unten). In Abbildung 4 (links) ist das Konzen-

trationsprofil dargestellt. In diesem Stadium wird die Strömung nicht mehr durch den Injektionsdruck gesteuert; oben wird elektrische Spannung angelegt, die übrigen drei Seiten werden geerdet. Die Probe wird nach unten bewegt, die Konzentrationsverteilungen nach Anlegung eines Potentials sind in zwei Zeitintervallen in Abbildung 4 dargestellt.

Hier liegen gleichzeitig elektroosmotische und elektrophoretische Effekte vor: die elektroosmotische Strömung stellt den Speziestransport, die elektrophoretische Strömung, die Speziestrennung sicher. Die kapillare Elektrophorese (CE) umfasst beide Strömungsarten [1]. Abbildung 5 zeigt zwei Spezies, die nach einem bestimmten Zeitintervall perfekt getrennt wurden. Berücksichtigt wurden sechs weitere Spezies und vier Gleichgewichtsreaktionen. Der pH-Wert hat einen wesentlichen Einfluss auf die Qualität der Speziestrennung (Abb. 5).

Darüberhinaus müssen weitere Bedingungen wie z.B. Temperaturgradienten

ten und Adsorptionserscheinungen in den Kapillaren und Additive (organische Lösungsmittel, Chelat-Verbindungen) berücksichtigt werden: [1]. Es wäre sehr aufwändig hier Eich-Experimente durchzuführen und Prototypen zu bauen. Mit Hilfe von Simulation aber können einzelne Bedingungen schnell verändert und der Prozess und seine Ergebnisse als Ganzes nachvollzogen werden.

Literatur

- [1] Riekkola, M & Jönsson, J. Å., „Terminology for Analytical Capillary Electromigration Techniques“, IUPAC Recommendations, Project 530/10/95, 2002.
- [2] MacInnes, J. M., „Computation of Reacting Electrokinetic Flow in Microchannel Geometries“, *Chemical Engineering Science*, 57 (21), 4539–4558, 2002.
- [3] Ermakov, S. V., Jacobson, S. C., & Ramsey, J. M., „Technical Proceedings of the 1999 International Conference on Modeling and Simulation of Microsystems“, Computational Publications, 1999.

Phil Byrne
Ed Fontes
Olof Hernell
Almut Seyderhelm

Femlab GmbH
Berliner Str. 4
37073 Göttingen
info@femlab.de
www.femlab.de