

Multiphase Microfluidics on a Centrifugal Platform

**Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
der Fakultät für Angewandte Wissenschaften
der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg im Breisgau**

vorgelegt von
Diplom-Ingenieur Stefan Andreas Häberle

Dekan

Prof. Dr. Bernhard Nebel

Referenten

Prof. Dr. Roland Zengerle (Freiburg)

Prof. Dr. Jürgen Rühle (Freiburg)

Tag der Abgabe: 16. Oktober 2007

Tag der Prüfung: 22. Februar 2008

Lehrstuhl für Anwendungsentwicklung
Institut für Mikrosystemtechnik (IMTEK)
Fakultät für Angewandte Wissenschaften
Albert-Ludwigs-Universität Freiburg

Microfluidics & Nanofluidics

Band 1

Stefan Häberle

Multiphase Microfluidics on a Centrifugal Platform

Shaker Verlag
Aachen 2008

Bibliographic information published by the Deutsche Nationalbibliothek

The Deutsche Nationalbibliothek lists this publication in the Deutsche Nationalbibliografie; detailed bibliographic data are available in the Internet at <http://dnb.d-nb.de>.

Zugl.: Freiburg, Univ., Diss., 2008

Copyright Shaker Verlag 2008

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording or otherwise, without the prior permission of the publishers.

Printed in Germany.

ISBN 978-3-8322-7124-4

ISSN 1866-5411

Shaker Verlag GmbH • P.O. BOX 101818 • D-52018 Aachen

Phone: 0049/2407/9596-0 • Telefax: 0049/2407/9596-9

Internet: www.shaker.de • e-mail: info@shaker.de

Abstract

Centrifugal microfluidics has been applied to diagnostic and analytic applications in the past. Processing of multiple phases, such as air-liquid or water-oil flows, under the unique hydrodynamic conditions within the centrifugally induced artificial gravity field, however, is investigated in this thesis for the first time. Multiphase processes rely on the "engineering" of the interfaces between different phases. The reproducibility of these processes strongly depends on the stability of the hydrodynamic conditions. Thus, the pulse-free liquid propulsion by the centrifugal force - which is in addition also self-stabilizing by the inertia of the spinning motion - makes the centrifugal approach an attractive candidate for multiphase applications.

Within this work, five novel multiphase microfluidic applications are implemented on the centrifugal platform:

1. High-throughput reactive micromixing
2. Production of monodisperse droplet emulsions
3. Encapsulation of living cells
4. Generation of gas-liquid flows
5. Microfluidic integrated DNA-extraction

A modular micromixer, based on the continuous flow through rotating microchannels on a standard laboratory centrifuge, is presented and applied to **high-throughput reactive micromixing** applications. The principle to mix liquid flows by means of the Coriolis force is known from prior work, and is further investigated regarding residence time, throughput, mixing ratio, and quality of mixing within this thesis. The centrifugal micromixer comprises a mixing unit hosting a planar network of low-aspect-ratio microfluidic channels, and contact-free dispensers for the continuous feed of educts. The modular setup without critical micro-macro interfaces allows simple fabrication and easy exchange of the mixing unit. High-speed micromixing powered by the Coriolis force at high volume throughputs of up to 1 mL per second and microchannel is demonstrated by experiments and accompanying CFD-simulations. Mixing is experimentally investigated showing an increasing mixing quality towards higher flow velocities, with a maximum micromixedness ratio of 807 a.u. at 1 mL s^{-1} .

Microfluidic emulsification enables the **production of monodisperse droplet emulsions** and is implemented on the centrifugal microfluidic platform within this thesis for the first time. Monodisperse emulsions are prerequisite for many product formulations in the cosmetic and pharmaceutical industry. The gener-

ation of monodisperse droplets within a flow-focusing microchannel structure is demonstrated, to produce water-in-oil (W/O) emulsions. Water droplets of volumes down to 5 nL and a CV of the diameter below 2% are dripping into a continuous oil flow. It is demonstrated, that the type of emulsion and the droplet size can be adjusted by the channel geometry and frequency of rotation, enabling isolated trains of droplets as well as segmented water-oil flows. Additional droplet-based unit operations for the splitting, separating and pinning of droplets, or the formation of two-phase droplets, could be demonstrated, extending the toolbox of emulsification technologies on the centrifugal microfluidic platform.

The **encapsulation of living cells** into biopolymer micro-beads constitutes an important multiphase process for therapeutic applications, e.g. for the implantation of insulin-producing cells in diabetes care. The encapsulation into Alginate micro-beads protects the alien cells from the host immune system. A novel method for the direct, centrifugally induced fabrication of small Ca^{2+} -hardened alginate beads from rotating polymer-tube micronozzles is demonstrated. The bead diameter can arbitrarily be adjusted between 180 μm and 800 μm by the nozzle geometry and frequency of rotation. Clogging of the issuing micronozzle is prevented by an intermediate air-gap between the nozzle tip and the curing agent, placed in a standard lab tube (“Eppi”) which is mounted on a flying bucket rotor. Up to 600 beads per second and channel are issued from the micronozzle. The centrifugally induced, high artificial gravity conditions (up to 180g) even allow the processing of alginate solutions displaying viscosities up to 50Pas, i.e. about 50,000 times the viscosity of water. With this low cost technology for micro encapsulation, HN25 and PC12 cells are successfully encapsulated with a slight decrease (1.4%) of the number of living cells after the encapsulation, only.

An innovative gas micropump is presented for the **generation of gas-liquid flows** on the centrifugal microfluidic platform. The injection of gas bubbles into liquid flows allows air-to-liquid sampling for e.g. centrifuge-based assays. The pump is integrated on a passive and microstructured polymer disk, which is combined with an elastomer lid featuring paramagnetic inlays. The rotational motion of this hybrid disk over a stationary magnet induces a designated sequence of volume displacements of the elastic lid, leading to a net transport of gas. The pumping pressure scales linearly over the frequency of rotation, with a maximum observable pressure of 4.1 kPa at 33 Hz. The rotary device is used to produce gas-liquid flows by pumping ambient air into a continuous centrifugal flow of liquid. The injected gas volume segments the liquid stream into a series of compartments. The injection of up to 30 air bubbles of volume 0.5 μL per second into a continuous water flow is demonstrated.

Finally, a **microfluidic integrated DNA extraction** method, based on a simple frequency and dispensing protocol of a microfluidic rotor is presented. Compared to commercially available spin-columns, it allows an automated extraction of DNA. The key enabling step is the centrifugally induced generation of droplets which are routed by the Coriolis force either to the waste or to the eluate reservoir. This “virtual routing” obviates the need for rotor-based moving parts or actuation and allows the separation of the liquids without contamination. At centrifugally driven flow rates below $2\mu\text{Ls}^{-1}$ through a packed column of 11 mg silica particles, up to 700ng of purified DNA (recovery ratio of 16%) is collected in an on board reservoir or – to smoothly interface with common lab environments – in a standard lab tube (“Eppi”) attached to a flying bucket rotor.

Zusammenfassung

Bisher wurden lediglich diagnostische und analytische Anwendungen auf der zentrifugalen Mikrofluidik-Plattform implementiert. Die besonderen hydrodynamischen Bedingungen innerhalb des künstlichen Schwerfeldes unter Rotation bieten jedoch auch Vorteile für die Durchführung von Multiphasenprozessen, welche in der vorliegenden Arbeit erstmals untersucht werden. Multiphasenprozesse basieren auf dem „Engineering“ von Grenzflächen zwischen unterschiedlichen Gas- und Flüssigphasen. Die Reproduzierbarkeit dieser Prozesse hängt somit stark von der Stabilität der hydrodynamischen Bedingungen ab. Diese sind auf der zentrifugalen Plattform aufgrund der konstanten und durch die Trägheit der Rotationsbewegung selbst-stabilisierenden zentrifugalen Pumpkraft extrem stabil und pulsationsarm.

In dieser Arbeit werden fünf neue Anwendungen gezeigt, die auf zentrifugalen Multiphasenprozessen beruhen:

1. Reaktives Hochdurchsatz-Mikromischen
2. Herstellung monodisperser Tropfen-Emulsionen
3. Verkapselung lebender Zellen
4. Herstellung von Gas-Flüssig-Strömungen
5. Mikrofluidisch integrierte DNA-Extraktion

Es wird ein System für das **reaktive Hochdurchsatz-Mikromischen** zweier kontinuierlicher Flüssigkeitsströmungen innerhalb rotierender Mikrokanäle entwickelt. Das Prinzip, Flüssigkeiten durch die Coriolis-Kraft auf der zentrifugalen Plattform zu durchmischen, war bereits aus früheren Arbeiten bekannt, und wird nun hinsichtlich Aufenthaltszeit, Durchsatz, Mischverhältnis und Mischqualität weitergehend untersucht. Der zentrifugale Mischer wird in einer gängigen Laborzentrifuge betrieben und ist modular aufgebaut. Neben einer Mischeinheit, welche ein Netzwerk mikrofluidischer Kanäle mit geringem Aspektverhältnis enthält, besteht das Mischersystem aus Freistrahldispensern für die kontinuierliche Zuführung der Ausgangsstoffe. Aufgrund des modularen Aufbaus ohne kritische Mikro-Makro-Schnittstellen, sind sowohl die Herstellung als auch der Austausch der Mischeinheit sehr einfach und somit kostengünstig. Die Corioliskraft ermöglicht eine schnelle Durchmischung bei hohen Volumendurchsätzen von bis zu 1 mL pro Sekunde und Mischkanal. Die Strömungsverhältnisse werden sowohl in CFD-Simulationen als auch in experimentellen Flussratenmessungen gezeigt. Die Qualität der Durchmischung wird anhand einer chemischen Modellreaktion experimentell untersucht und quantifiziert. Dabei wird gezeigt, dass die Mischgüte

("micromixedness ratio") hin zu höheren Flussgeschwindigkeiten zunimmt, und ein Maximum von 807 a.u. bei 1 mLs^{-1} erreicht.

Die **Herstellung monodisperser Tropfenemulsionen** ist ein wichtiger Prozess für viele Produkte in der kosmetischen und pharmazeutischen Industrie. Wasser in Öl Emulsionen (W/O) werden erstmals mittels einer zentrifugalen Fluss-Fokussierung auf der zentrifugalen Plattform erzeugt. Dafür werden Wassertropfen eines geringen Volumens ($> 5 \text{ nL}$) in einen kontinuierlichen Öl-Fluss injiziert. Dieser Prozess zeichnet sich durch eine hohe Reproduzierbarkeit aus, was in dem experimentell ermittelten CV der Tropfendurchmesser von unter 2% deutlich wird. Die Art der Emulsion sowie die Tropfengröße lassen sich über die Kanalgeometrie und die Rotationsfrequenz beeinflussen, wodurch sowohl isoliert fließende Tropfen, also auch segmentierte Wasser-Öl-Flüsse erzeugt werden können. Zusätzliche Einheitsoperationen für das Teilen, Separieren und räumliche Fixieren von Tropfen, sowie die Herstellung zwei-phasiger Tropfen werden gezeigt.

Die **Verkapselung lebender Zellen** in Alginat ist ein wichtiger Schritt für deren Implantation in fremde Organismen. Ein Beispiel ist die Implantation von Insulin-produzierenden Zellen für die Regulierung des Blutzuckerspiegels bei Diabetikern. Um die körperfremden Zellen vor dem Immunsystem des Empfängers zu schützen, werden sie in Alginat verkapselt. In der Arbeit wird eine neue Methode für die Herstellung von Alginat-Beads mittels rotierender Mikrodüsen gezeigt. Der Durchmesser der Beads kann durch die Düsengeometrie und die Rotationsfrequenz beliebig zwischen $180 \mu\text{m}$ und $800 \mu\text{m}$ eingestellt werden. Ein Verstopfen der Düse wird durch einen Luftspalt, der die Düsenöffnung vom Härtingsmedium trennt, erreicht. Das flüssige Härtingsmedium befindet sich in einem Eppendorf Hütchen, welches in einen Ausschwingrotor eingelegt ist. Mit diesem Verfahren können bis zu 600 Beads pro Sekunde und Mikrodüse erzeugt werden. Da unter Rotation hohe künstliche Schwerfelder wirken (bis zu 180 g), können auch extrem hochpastöse Alginatlösungen mit Viskositäten von bis zu 50 Pas, das heißt dem 50.000-fachen der Viskosität von Wasser, verarbeitet werden. Mit dieser kostengünstigen Verkapselungstechnologie werden erfolgreich HN25 und PC12 Zellen verkapselt. Ein Vergleich vor und direkt nach der Verkapselung zeigt lediglich eine geringe Abnahme der lebenden Zellen von 1.4%.

Für die **Herstellung von Gas-Flüssig-Strömungen** wird erstmals eine Gaspumpe auf der zentrifugalen Plattform implementiert. Die Injektion von Gasblasen in eine Flüssigkeitsströmung erlaubt zum Beispiel das "Sampling" von Luft-Proben für flüssige Assays. Die Pumpe besteht aus einer mikrostrukturierten Disk, welche auf einer Seite mit einer elastischen Membran versehen ist. In der Membran befinden sich jeweils oberhalb zweier Kammern parama-

gnetische Metallplättchen. Bei der Rotation dieser hybriden Disk über einem stationären Magnet kommt es zu einer definierten Abfolge von Auslenkungen der Membran in die Kammern, und dadurch zu einem Nettotransport von Gas. Der generierte Pumpdruck skaliert linear mit der Rotationsfrequenz und erreicht ein Maximum von 4.1 kPa bei einer Rotationsfrequenz von 33 Hz. Mit der Pumpe werden Luftblasen in einen zentrifugal getriebenen, kontinuierlichen Fluss injiziert. Die Blasen zerteilen die Flüssigkeitsströmung in eine Reihe von Segmenten ("segmentierter Fluss"). Es wird gezeigt, dass bis zu 30 Gasblasen mit einem Volumen von 0.5 μL pro Sekunde in einen kontinuierlichen Wasserfluss gepumpt werden können.

Erstmals wird eine automatisierbare Methode für die **mikrofluidisch integrierte DNA-Extraktion** auf der zentrifugalen Plattform vorgestellt. Um die biologische Probe sowie die Waschlösung von dem aufgereinigten Eluat zu trennen, und somit Verunreinigungen auszuschließen, werden die Flüssigkeiten an einer Düse vertropft. Die so erzeugten Tropfen "fallen" im künstlichen Schwerfeld in eine luftgefüllte Kammer, und werden darin aufgrund der Corioliskraft in eines von zwei Reservoirien abgelenkt. Durch diesen virtuellen Schalter sind rotor-basierte, bewegliche Teile oder Antriebe zur Automatisierung überflüssig. Bei zentrifugalen Flüssen unter $2 \mu\text{L s}^{-1}$ durch 11 mg aufgestaute Silika-Partikel werden bis zu 700 ng DNA mit einer Ausbeute von 16% extrahiert.

Publications

Parts of this work have been published at the following journals, conferences, or have been applied as patent.

Book Chapters & Review-Papers

- [1] S. Haeberle, R. Zengerle, "Microfluidic Platforms for Lab-on-a-Chip Applications", *Comprehensive Microsystems*, Editors: Y. Gianchandani, O. Tabata, H. Zappe, *Elsevier*, ISBN: 0-444-52194-1, to be published in December 2007.
- [2] S. Haeberle, R. Zengerle, "Microfluidic Platforms for Lab-on-a-Chip Applications", *Lab on a Chip*, **7**, 1094-1110, 2007.

Journals

- [3] J. Steigert, M. Grumann, T. Brenner, K. Mittenbühler, T. Nann, J. Rühle, I. Moser, S. Haeberle, L. Riegger, J. Riegler, W. Bessler, R. Zengerle, J. Ducreé, "Integrated Sample Preparation, Reaction, and Detection on a High-frequency Centrifugal Microfluidic Platform", *Journal of the Association for Laboratory Automation (JALA)*, **10**, 331-341, 2005.
- [4] S. Haeberle, T. Brenner, P. Schlosser, R. Zengerle, J. Ducreé, "Centrifugal Micromixer", *Chemical Engineering Technology*, **28**, 613-616, 2005.
- [5] J. Ducreé, T. Brenner, S. Haeberle, T. Glatzel, R. Zengerle, "Multilamination of Flows in Planar Networks of Rotating Microchannels", *Microfluidics and Nanofluidics*, **2**, 78-84, 2006.
- [6] J. Ducreé, S. Haeberle, T. Brenner, T. Glatzel, R. Zengerle, "Patterning of Flow and Mixing in Rotating Radial Microchannels", *Microfluidics and Nanofluidics*, **2**, 97-105, 2006.
- [7] S. Haeberle, T. Brenner, R. Zengerle, J. Ducreé, "Centrifugal Extraction of Plasma from Whole Blood on a Rotating Disk", *Lab on a Chip*, **6**, 776-781, 2006.
- [8] S. Haeberle, R. Zengerle, J. Ducreé, "Centrifugal Generation and Manipulation of Droplet Emulsions", *Microfluidics and Nanofluidics*, **3**, 65-75, 2007.
- [9] J. Steigert, S. Haeberle, T. Brenner, C. Müller, C. P. Steinert, P. Koltay, N. Gottschlich, H. Reinecke, J. Rühle, R. Zengerle, J. Ducreé, "Rapid Prototyping of Microfluidic Chips in COC", *Journal of Micromechanics and Microengineering (JMM)*, **17**, 333-341, 2007.

- [10] S. Haeberle, N. Schmidt, R. Zengerle, J. Ducreé, "Centrifugo-Magnetic Pump for Gas-to-Liquid Sampling", *Sensors and Actuators A*, **135**, 28-33, 2007.
- [11] J. Ducreé, S. Haeberle, S. Lutz, S. Pausch, F. von Stetten, R. Zengerle, "The Centrifugal Microfluidic Bio-Disk Platform", *Journal of Micromechanics and Microengineering (JMM)*, **17**, S103-S115, 2007.
- [12] S. Haeberle, L. Naegele, R. Burger, F. von Stetten, R. Zengerle, J. Ducreé, "Alginate Bead Fabrication and Encapsulation of Living Cells under Centrifugally Induced Artificial Gravity Conditions", accepted at *Journal of Microencapsulation* (DOI: 10.1080/02652040801954333, 2008).

Conference Proceedings

- [13] T. Brenner, S. Haeberle, R. Zengerle, J. Ducreé, "Continuous Centrifugal Separation of Whole Blood on a Disk", *Proc. μ TAS 2004*, September 26-30, Malmö, Sweden, 566-568, 2004.
- [14] J. Ducreé, H.-P. Schlosser, S. Haeberle, T. Glatzel, T. Brenner, R. Zengerle, "Centrifugal Platform for High-Throughput Reactive Micromixing", *Proc. μ TAS 2004*, September 26-30, Malmö, Sweden, 554-556, 2004.
- [15] J. Ducreé, M. Grumann, T. Brenner, S. Haeberle, R. Zengerle. "An Extended Toolbox for Fully Integrated Sample Processing and Detection on Rotating Disks". *Proc. NanoTec 2004*, November 16-18, Montreux, Switzerland, 554-556, 2004.
- [16] J. Ducreé, T. Brenner, M. Grumann, S. Haeberle, R. Zengerle, "Integrated Sample Preparation, Reacting and Detection on a High-frequency Centrifugal Microfluidic Platform", *Proc. Lab Automation 2005*, January 30 - February 3, San Jose, USA, 2005.
- [17] S. Haeberle, H.-P. Schlosser, R. Zengerle, J. Ducreé, "A Centrifuge-Based Microreactor", *Proc. IMRET 2005*, April 10-14, Atlanta, USA, TK-129f, 2005.
- [18] J. Ducreé, S. Haeberle, T. Brenner, M. Grumann, L. Riegger, J. Steigert, R. Zengerle, "Scaling Laws and Prospects of Centrifugal Nanofluidics", *Proc. Nanofluidics Workshop 2005*, April 18-20, Boekelo, the Netherlands, 2005.
- [19] S. Haeberle, R. Zengerle, and J. Ducreé, "Online Process Control for Centrifugal Microfluidics", *Proc. Transducers 2005*, June 5-9, Seoul, Korea, 1525-1528, 2005.

- [20] T. Brenner, M. Grumann, S. Haeberle, L. Riegger, J. Steigert, R. Zengerle, J. Ducreé, "An Extended Toolbox for Fully Integrated Sample Processing and Detection on a High-Frequency Centrifugal Microfluidic Platform", *Proc. 4M 2005*, June 29 - July 1, Karlsruhe, Germany, 413-417, 2005.
- [21] S. Haeberle, R. Zengerle, J. Ducreé, "Monodisperse Droplet Trains and Segmented Flow for Centrifugal Microfluidics", *Proc. μ TAS 2005*, October 9-13, Boston, USA, 635-637, 2005.
- [22] J. Ducreé, M. Grumann, T. Brenner, J. Steigert, L. Riegger, S. Haeberle, R. Zengerle, "Bio-Disk eine vielseitige, zentrifugale mikrofluidische Plattform für die Point-of-Care Diagnostik", *Proc. MST-Kongress 2005*, October 10-12, Freiburg, Germany, 2005.
- [23] S. Haeberle, N. Schmitt, R. Zengerle, J. Ducreé, "A Centrifugo-Magnetically Actuated Gas Micropump", *Proc. IEEE MEMS 2006*, January 22-26, Istanbul, Turkey, 166-169, 2006.
- [24] J. Ducreé, M. Grumann, T. Brenner, S. Haeberle, L. Riegger, J. Steigert, R. Zengerle, "Bio-Disk: A Centrifugal Microfluidic Platform for Process Integration and Automation of Bioanalytic Assays", *Proc. ITG-/GMA-Fachtagung Sensoren und Messsysteme*, March 13-14, Freiburg, Germany, 2006.
- [25] S. Haeberle, R. Zengerle, J. Ducreé, "A Centrifugal Platform for Micro Process Engineering", *ACHEMA 2006*, acc. contribution, May 15-19, Frankfurt, Germany, 2006.
- [26] S. Haeberle, L. Naegele, R. Zengerle, J. Ducreé, "A Digital Centrifugal Droplet-Switch for Routing of Liquids", *Proc. μ TAS 2006*, November 5-9, Tokyo, Japan, 570-573, 2006.
- [27] S. Haeberle, L. Naegele, R. Burger, R. Zengerle, J. Ducreé, "Alginate Micro-Bead Fabrication on a Centrifugal Microfluidics Platform", *Proc. IEEE MEMS 2007*, January 21-25, Kobe, Japan, 497-500, 2007.
- [28] S. Haeberle, S. Pausch, R. Burger, S. Lutz, F. von Stetten, R. Zengerle, J. Ducreé, "Automation of Nucleic Acid Extraction by a Coriolis-Force Actuated Droplet Router", *accepted at μ TAS 2007*, October 7-11, Paris, France, 2007.
- [29] S. Lutz, P. Lang, S. Haeberle, F. von Stetten, R. Zengerle, J. Ducreé, "Towards a Comprehensive Centrifugal Process Integration by Rotationally Induced Lyophilisate Dissolution and Cell Lysis", *accepted at μ TAS 2007*, October 7-11, Paris, France, 2007.
- [30] S. Haeberle, J. Ducreé, F. von Stetten, R. Zengerle, "Mikrofluidische

Plattformen für die Miniaturisierung, Integration und Automation von biochemischen Assays", *Pro. MST Kongress 2007*, October 15-17, Dresden, Germany, 449-455, 2007.

- [31] S. Haeberle, S. Pausch, R. Burger, S. Lutz, F. von Stetten, R. Zengerle, J. Ducreé, "Integration, Automatisierung und Parallelisierung von Silika-basierten Nukleinsäure-Extraktionen mit dem virtuellen Coriolis-Schalter", *Proc. MST Kongress 2007*, October 15-17, Dresden, Germany, 465-468, 2007.
- [32] D. Mark, S. Haeberle, T. Metz, S. Lutz, J. Ducreé, R. Zengerle, F. von Stetten, "Aliquoting Structure for Centrifugal Microfluidics Based on a New Pneumatic Valve", *Proc. IEEE MEMS 2008*, January 13-17, Tucson, Arizona USA, 611-614, 2008.

Patents

- [33] T. Brenner, J. Ducreé, S. Haeberle, R. Zengerle, "Partikelsedimentationsvorrichtung und Verfahren zum Durchführen einer Partikelsedimentation / Particle sedimentation device and method for carrying out particle sedimentation", DE102004046396A1, US11690731, WO2006032529A1.
- [34] S. Haeberle, J. Ducreé, R. Zengerle, "Vorrichtung und Verfahren zur Erzeugung eines Gemenges von zwei ineinander unlöslichen Phasen", DE102005048259A1.
- [35] S. Haeberle, J. Ducreé, R. Zengerle, N. Schmitt, "Fluidhandhabungsvorrichtung und Verfahren zum Handhaben von Fluiden / Fluid handling apparatus and method of handling a fluid", DE102006002924, US11624493.

Publications not related to this PhD Thesis

- [36] M. Grumann, P. Schippers, M. Dobmeier, S. Haeberle, A. Geipel, T. Brenner, R. Zengerle, J. Ducreé, C. Kuhn, M. Fritsche, "Formation of Hexagonal Monolayers by Flow of Bead Suspensions Into Flat Microchambers", *ASME International Mechanical Engineering Congress 2003*, November 16-21, Washington, DC, USA, 2003.
- [37] M. Grumann, P. Schippers, M. Dobmeier, S. Haeberle, A. Geipel, T. Brenner, R. Zengerle, J. Ducreé, C. Kuhn, M. Fritsche, "Stacking of Beads Into Monolayers by Flow Through Flat Microfluidic Chambers", *Micro.tec 2003*, October 14-15, Munich, Germany, 545-555, 2003.
- [38] R. Gronmaier, J. Claußen, B. Scheufele, S. Haeberle, J. Kohnle, R. Ze-

ngerle, H. Northoff, F. K. Gehring, "Mikrofluidische Plattform für die Blutanalytik", *BIOforum*, **29**, 38-40, 2006.

- [39] B. Scheufele, R. Gronmaier, S. Haeberle, J. Kohnle, J. Ducreé, R. Zengerle, H. Northoff, F. K. Gehring, "Microfluidic Platform for Point-of-care Blood Typing", *Lab-on-a-Chip World Congress 2007*, May 15-16, Edinburgh, Scotland, 2007.

Table of Contents

1 Introduction	1
1.1 Prospects of Multiphase Microfluidics	1
1.2 The Centrifugal Microfluidic Platform	4
1.3 Aim and Structure of the Thesis.....	7
2 Fundamental Microfluidic Effects	11
2.1 Principles of Centrifugal Microfluidics	11
2.1.1 Hydrodynamics in a Rotating Reference Frame.....	11
2.1.2 Centrifugal Flow Profile	13
2.1.3 Centrifugal Driven Liquid Flow	14
2.1.4 Impact of the Coriolis Force	17
2.2 Physics of Multiphase Flows	19
2.2.1 Types of Multiphase Flows	19
2.2.2 Interfacial Tension and Droplet Formation	20
2.3 Unit Operations in Centrifugal Microfluidics	23
3 Experimental Setup and Fabrication of the Microfluidic Disks	25
3.1 Liquid Interfacing Technologies	25
3.1.1 Setup in a Standard Laboratory Centrifuge	26
3.1.2 Bare Centrifugal Setup	27
3.2 Automated Continuous Centrifugal Flow	28
3.3 Stroboscopic Measurement Setup	31
3.4 Fabrication of Microfluidic Channel Structures	32
4 Centrifugal Micromixing	35
4.1 Introduction	35
4.2 State-of-the-Art in Micromixing.....	36
4.3 The Coriolis Stirring Effect.....	40
4.3.1 Coriolis Induced Transversal Advection	40
4.3.2 CFD Simulation	41
4.3.3 Experimental Proof-of-Principle	43
4.3.4 Influence on the Residence Time.....	45
4.4 Throughput and Mixing Ratio.....	46
4.4.1 Pressure Distribution in the Centrifugal Flow	46
4.4.2 Basic Micromixing Channel Design.....	47
4.4.3 Overall Flow Rate (Throughput)	49
4.4.4 Adjustment of Flow Rate Ratio (Mixing Ratio)	50
4.5 Characterization of the Mixing Quality	53
4.5.1 Methods for Benchmarking of Micromixers	53
4.5.2 Iodide-Iodate Reaction.....	54
4.5.3 Precipitation of Barium Sulfate Nanoparticles	57
4.6 Conclusion and Outlook.....	60

5 Monodisperse Droplet Emulsions	63
5.1 Introduction	63
5.2 State-of-the-Art in Emulsification.....	63
5.3 Droplet Formation in the Centrifugal Field	66
5.3.1 Dripping in an Artificial Gravity Field.....	66
5.3.2 Centrifugal Flow-Focusing.....	68
5.3.3 Materials and Methods	70
5.3.4 Comparison of the Droplet Formation Principles.....	71
5.4 Continuous Production of Droplet Emulsions	73
5.4.1 Droplet Formation in Centrifugal Flow-Focusing.....	73
5.4.2 Three Types of W/O Emulsions	74
5.4.3 Characteristics of the Droplet Emulsions	77
5.5 Droplet Based Unit Operations	80
5.5.1 Splitting of Droplets	80
5.5.2 Droplet Separation by Sedimentation	81
5.5.3 Droplet Pinning at a Density-Step	82
5.5.4 Formation of Two-Phase Droplets.....	84
5.6 Conclusion and Outlook.....	85
6 Micro-Beads and Cell Encapsulation	87
6.1 Motivation for Encapsulation of Living Cells	87
6.2 State-of-the-Art in Alginate-Bead Fabrication.....	88
6.3 Centrifugal Micro-Bead Formation Method	90
6.3.1 Materials and Methods	91
6.3.2 The Rotating Micronozzle Setup	93
6.4 Fabrication of Alginate Micro-Beads.....	94
6.4.1 Droplet Formation under Rotation.....	94
6.4.2 Adjustment of the Micro-Bead Size	95
6.4.3 Micro-Beads from Highly Viscous Alginate.....	97
6.5 Encapsulation of Living Cells.....	98
6.5.1 Centrifugal Cell Encapsulation.....	98
6.5.2 Cell Vitality	99
6.6 Conclusion and Outlook.....	100
7 Gas-to-Liquid Sampling	103
7.1 Importance of Gas-Liquid Microflows	103
7.2 The Centrifugo-Magnetic Pump	104
7.3 Proof-of-Principle and Pumping Pressure.....	108
7.4 Injection of Ambient Air into a Liquid Flow	110
7.5 Conclusion and Outlook.....	112
8 Integrated Centrifugal DNA Extraction	113
8.1 Introduction	113
8.2 State-of-the-Art in Microfluidic DNA Extraction.....	114
8.3 Centrifugal Flow Switch	115

8.3.1	Functional Principle.....	115
8.3.2	Experimental Validation of the Droplet Switch	119
8.3.3	Reliable Switching of Small Flow Rates	120
8.4	Centrifugal Microfluidic DNA Extraction	122
8.4.1	Basic Principle	122
8.4.2	Integration and Hydrodynamics of Particle Column	122
8.4.3	DNA Extraction Results	124
8.5	Conclusion and Outlook.....	125
9	General Conclusions and Outlook	127
10	References	131
11	Nomenclature	149
	Acknowledgements	153