

**Beiträge zur Optimierung von automatischen  
Flüssigkeitsdosiersystemen auf Basis der Piezotechnologie**

Dissertation  
zur  
Erlangung des akademischen Grades  
Doktor-Ingenieur (Dr.-Ing.)  
der Fakultät für Informatik und Elektrotechnik  
der Universität Rostock



vorgelegt von  
Thomas Krüger geb. am 09.03.80 in Rostock  
aus Rostock

Rostock, 03.06.2008

Dekan: Prof. Dr. Djamshid Tavangarian

Gutachter: Prof. Dr.-Ing. habil. Kerstin Thurow  
Universität Rostock  
Fakultät für Informatik und Elektrotechnik  
Institut für Automatisierungstechnik

Prof. Dr.-Ing. Norbert Stoll  
Universität Rostock  
Fakultät für Informatik und Elektrotechnik  
Institut für Automatisierungstechnik

Prof. Dr. rer. nat. habil. Michael Köhler  
Technische Universität Ilmenau  
Fakultät für Mathematik und Naturwissenschaften  
Institut für Physik

Datum der Verteidigung: 13.10.2008



## **Danksagung**

An erster Stelle möchte ich mich bei meiner Betreuerin Frau Professor Dr. Kerstin Thurow für die Ermöglichung dieser Arbeit und für ihre Anregungen bedanken. Gleichermaßen danke ich Herrn Professor Dr. Norbert Stoll der mich während der gesamten Zeit förderte und für den gewährten Freiraum bei der Bearbeitung des Themas.

Besonderer Dank gilt Hans-Joachim Stiller der mich an seiner reichen Erfahrung als Ingenieur und Wissenschaftler teilhaben ließ und mir stets mit Rat und Tat zur Seite stand. Des Weiteren möchte ich mich bei meinen Kollegen Dr. Thomas Roddelkopf, Lars Woinar, Steffen Junginger und Heiko Engelhart für ihre Ideen und ihre Unterstützung bedanken. Allen anderen Mitarbeitern des Centers for Life Science Automation danke ich ebenfalls für ihre Unterstützung und das angenehme Arbeitsklima.

Allen Lehrern und Menschen, die mich auf meinem bisherigen Weg für wissenschaftliche Fragestellungen begeistert haben, meine Neugier weckten und ihr Wissen mit mir teilten, möchte ich auch meinen Dank aussprechen.

Meinen Eltern danke ich für ihre Unterstützung in jeglicher Hinsicht durch die sie diese Arbeit mitgetragen haben. Meinen Freunden gilt ebenfalls großer Dank, besonders den dudenfesten unter ihnen.

Nicht zuletzt bedanke ich mich für die finanzielle Unterstützung bei der Deutschen Forschungsgemeinschaft im Rahmen des Graduiertenkollegs 1213 „Neue Methoden für Nachhaltigkeit in Katalyse und Technik“ und dem Bundesministerium für Bildung und Forschung.

## Inhaltsverzeichnis

<b>1 Einleitung .....</b>	<b>1</b>
1.1 Laborautomation .....	1
1.2 Miniaturisierung und Parallelisierung .....	3
1.3 Verfahren der Mikrodosierung im Überblick.....	5
1.3.1 Vom Tintenstrahldrucker zum Nanodosierer.....	5
1.3.2 Continous Mode .....	6
1.3.3 Drop-on-Demand .....	7
1.4 Anwendungsbereiche der Nanodosiertechniken .....	8
1.4.1 Mikroarrays zur Genom- und Proteomanalyse .....	8
1.4.2 Miniaturisierte Anwendungen aus Chemie und Biologie .....	9
1.4.3 Lab-on-a-Chip Befüllung .....	9
1.4.4 Fertigungsprozesse in der Mikrotechnologie .....	10
1.5 Ziele der Arbeit .....	11
1.5.1 Messung des Tropfenvolumens.....	11
1.5.2 Automatische Kalibrierung .....	12
<b>2 Drop-on-Demand Technologie in der Laborautomation .....</b>	<b>13</b>
2.1 Physikalische Größen zur Beschreibung von Flüssigkeiten.....	13
2.1.1 Dichte .....	13
2.1.2 Viskosität.....	13
2.1.3 Oberflächenenergie und Oberflächenspannung .....	14
2.1.4 Kompressionsmodul.....	14
2.2 Besonderheiten des Verhaltens im Mikroliterbereich .....	15
2.2.1 Verschobene Verhältnisse .....	15
2.2.2 Instabilitäten im Flüssigkeitsstrahl.....	16
2.3 Simulation von Prozessen der Mikrofluidik.....	17
2.4 Nanodosiersysteme in der Laborautomation .....	18
2.4.1 Aufbau eines Dosierroboters .....	18
2.4.2 Anforderungen an automatisierte Systeme .....	19
2.4.3 Kontaktloser Dosievorgang .....	19
2.4.4 Kommerziell erhältliche Systeme .....	20
2.5 Prinzip der Tropfenerzeugung.....	21
2.5.1 Bubble Jet.....	21
2.5.2 Piezo Jet.....	22
2.6 Ansteuerung und Systemverhalten .....	24
2.6.1 Frequenz .....	24
2.6.2 Spannung.....	25
2.6.3 Impulsbreite und Resonanzeffekte .....	26
2.6.4 Einfluss der Flüssigkeitseigenschaften.....	28
2.7 Spezielle Systemkomponenten .....	29
2.7.1 Kamerasysteme .....	29
2.7.2 Kapillarsystem und Systemflüssigkeit .....	30
2.7.3 Mechanismus zur Aspiration.....	32

2.8 Kontinuierliche Tropfenerzeugung - Ventil Technologie .....	33
2.8.1 Funktionsprinzip.....	33
2.8.2 Kommerziell erhältliche Systeme .....	34
2.8.3 Modifikation: Durchflusssensor .....	35
2.8.4 Modifikation: Kombination mit Positionierung.....	35
2.8.5 Modifikation: Spot On Technologie .....	36
2.8.6 Modifikation: Gezielte Anregung des Strahlzerfalls.....	37
2.9 Vergleich: Piezo- und Ventiltechnologie .....	38
2.10 Weitere Dosierverfahren im Submikroliterbereich .....	39
2.10.1 Akustische Tropfenlevitation .....	39
2.10.2 Kontaktverfahren.....	40
<b>3 Analyse des Optimierungspotentials und neue Konzepte.....</b>	<b>41</b>
3.1 Volumenbestimmung .....	41
3.1.1 Messverfahren aus der Analytik.....	41
3.1.2 Echtzeit Messverfahren aus der Partikelmesstechnik .....	44
3.2 Entwicklung eines Verfahrens zur Analyse der Tropfenbildung .....	46
3.2.1 Messung von Volumen und Flugverhalten .....	46
3.2.2 Integration der Tropfenanalyse in den automatischen Dosierablauf.....	47
3.3 Automatisierungsgrad .....	48
3.3.1 Prinzipieller Ablauf eines Dosievorganges.....	48
3.3.2 Vorbereitungsphase .....	49
3.3.3 Autonome Arbeitsphase .....	51
3.3.4 Nachbereitungsphase.....	52
3.4 Konzepte zur Erhöhung des Automatisierungsgrades.....	53
3.4.1 Erkennung und Beseitigung von Störungen.....	53
3.4.2 Ermittlung der Dosierparameter – Kalibrierung .....	54
3.5 Vorgehensweise zur Umsetzung der Optimierungen.....	56
<b>4 Analyse der Tropfenabgabe.....</b>	<b>57</b>
4.1 Messtechnische Erfassung des Tropfenfluges.....	57
4.1.1 Visualisierung über Stroboskop und Kamera.....	58
4.1.2 Kennwerte der optischen Komponenten .....	59
4.1.3 Generiertes Bild.....	61
4.2 Algorithmus zur Extraktion der Bildinformationen .....	62
4.2.1 Isolation der „Region of Interest“ .....	62
4.2.2 Erstellung des Binärbildes.....	62
4.2.3 Präparation der Tropfenkontur .....	63
4.2.4 Projektion der Tropfenerkennung in das Kamerabild .....	65
4.3 Basisdaten der Tropfen.....	66
4.3.1 Rundheit .....	67
4.3.2 Satellitentropfen .....	67
4.3.3 Phantomtropfen .....	68

4.4	Volumenberechnung aus dem Tropfenbild .....	69
4.4.1	Einfluss unterschiedlicher Tropfenformen.....	70
4.4.2	Vergrößerte Erscheinung der Tropfen.....	72
4.4.3	Frequenzabhängigkeit des Korrekturfaktors .....	73
4.4.4	Unsicherheit der Randerfassung.....	75
4.4.5	Beleuchtung durch die Stroboskop LED.....	75
4.5	Messungen zur Überprüfung .....	77
4.5.1	Gravimetrische Messung als Referenz.....	78
4.5.2	Einfluss der Verdunstung .....	79
4.5.3	Resultate unterschiedlicher Lösungsmittel.....	79
4.5.4	Statistik.....	82
4.5.5	Fazit der gesamten Messunsicherheit.....	83
4.6	Verbesserung der Bildqualität .....	84
4.6.1	Verbesserung des Signal-Rausch Verhältnis.....	84
4.6.2	Rückfaltung .....	85
4.7	Unberücksichtigte Aspekte.....	86
4.8	Verwendung von Hochgeschwindigkeitskameras.....	87
<b>5</b>	<b>Optimierungen durch Kopplung von Sensorik und Aktorik .....</b>	<b>88</b>
5.1	Fokussierung des Tropfens.....	88
5.1.1	Frequenzanalyse zur Bestimmung der Fokussierung.....	89
5.1.2	Positionierung im Fokus.....	91
5.2	Analyse des Dosievorganges.....	92
5.2.1	Bewertungskriterien des Tropfenabschusses .....	92
5.2.2	Ermittlung von Anfangs- und Endzeitpunkt einer Sequenz.....	94
5.2.3	Messung der Tropfengeschwindigkeit .....	95
5.2.4	Bestimmung der Flugbahn .....	96
5.2.5	Algorithmus zur Sequenzanalyse .....	97
5.3	Teilbereiche mit hohem Automatisierungspotenzial.....	98
5.4	Automatisches Positionieren .....	99
5.4.1	Folgen des unkorrigierten Versatzes .....	99
5.4.2	Algorithmus zur Detektion der Nozzle .....	101
5.4.3	Positionierung in der Bildebene .....	103
5.4.4	Positionierung senkrecht zur Bildebene .....	105
5.4.5	Alternativen .....	106
5.5	Anlagerungen an der Nozzle .....	107
5.5.1	Gegenmaßnahmen.....	108
5.5.2	Automatische Erkennung .....	109
5.5.3	Technische Umsetzung .....	110
5.5.4	Alternative Erkennungsmethode mit Hilfe der Hough-Transformation .....	112
5.6	Suchalgorithmus zum Finden der Dosierparameter .....	115
5.6.1	Prinzipieller Ablauf .....	115
5.6.2	Reduzierung der Versuche .....	118
5.7	Kalibrierung über die Systemkenntnis .....	119
5.7.1	Messungen der Einflüsse der Dosierparameter .....	119
5.7.2	Unberücksichtige Aspekte.....	121
5.7.3	Ansätze in der praktischen Umsetzung .....	122

<b>6 Zusammenfassung und Ausblick .....</b>	<b>124</b>
6.1 Zusammenfassung .....	124
6.2 Technische Umsetzung der entwickelten Lösungen .....	126
6.3 Ausblick.....	127
6.3.1 Überlegungen zur Integration.....	127
6.3.2 Berücksichtigung von Trends und neuen Technologien .....	128
6.3.3 Anpassung der Automatisierungsstruktur .....	128
6.3.4 Zukünftige Arbeiten .....	130
<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>131</b>

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Schema einer automatisierten Anlage .....	2
Abbildung 2:	Gegenüberstellung von Ausschnitten von einer 96er, 386er und 1.536 Mikrotiterplatte.....	3
Abbildung 3:	Mikroarray von 100 Spots (1 cm <sup>2</sup> ) auf einem Objekträger .....	4
Abbildung 4:	Überblick von Dosierverfahren der Laborautomation mit minimalen Volumenbereichen.....	5
Abbildung 5:	Funktionsprinzip von Continous Ink-Jet Drucken .....	6
Abbildung 6:	Funktionsprinzip Drop-on-Demand Drucker .....	7
Abbildung 7:	Microarray auf einem Objekträger .....	8
Abbildung 8:	Lab-on-a-Chip Systeme.....	9
Abbildung 9:	Diagramm des Oberflächen-Volumen Verhältnisse.....	15
Abbildung 10:	Zerfall eines Flüssigkeitsstrahls unterschiedlicher Flüssigkeiten nach Austritt aus der Düse .....	16
Abbildung 11:	Gegenüberstellung von gemessener Tropfenbildung und Simulation.....	17
Abbildung 12:	Schema eines Liquidhandlers und Basiskomponenten am Typ PAL von ctc Analytics .....	18
Abbildung 13:	Unterschiedliche Bauformen des Bubble-Jet .....	21
Abbildung 14:	Schema des Tropfenabschusses beim Bubble-Jet .....	21
Abbildung 15:	Drop-on-Demand Technologien auf Basis von Piezoelementen.....	22
Abbildung 16:	Piezo-Jet Verfahren in Kapillarbauweise .....	23
Abbildung 17:	Ansteuersignal des Piezoelementes .....	24
Abbildung 18:	Schema der Abhängigkeit zwischen Tropfenvolumen und Frequenz .....	24
Abbildung 19:	Prinzipielle Abhängigkeit zwischen Spannung und Tropfengröße .....	26
Abbildung 20:	Prinzipielle Impulsdauer und Tropfengeschwindigkeit bzw. Tropfenvolumen .....	27
Abbildung 21:	Viskositätsbereich der Piezotechnologie mit relevanten Lösungsmitteln .....	28
Abbildung 22:	Schema des Kapillarsystems im Dosiermodus .....	30
Abbildung 23:	Schema des Ventilsystems und der Ventilsstellungen .....	31
Abbildung 24:	Prinzip der Flüssigkeitsabgabe bei der Ventiltechnologie .....	33
Abbildung 25:	Schema des Durchflusssensors aus Basis der Differenzdruckmessung .....	35
Abbildung 26:	Funktionsprinzip der SynQUAD Technologie .....	36
Abbildung 27:	Funktionsprinzip der Spot-On Technologie .....	36
Abbildung 28:	Prinzip der Tropfenlevitation durch einen fokussierten Schallstrahl .....	39
Abbildung 29:	Schema der Tropfenabgabe beim Pin Tool Verfahren .....	40
Abbildung 30:	Schema eines Chromatogramms .....	42

Abbildung 31:	Zusammenhang zwischen Volumen und Fluoreszenz .....	43
Abbildung 32:	Prinzipieller Aufbau eines Ortsfiltermesssystems.....	44
Abbildung 33:	Schema das ILIDS – Verfahren zur Bestimmung des Tropfenvolumens ....	45
Abbildung 34:	Defokussiertes Bild der ILIDS-Technik eines Tröpfchennebels.....	45
Abbildung 35:	Prinzipieller Ablauf mit integrierter Tropfenanalyse .....	47
Abbildung 36:	Schema des Ablaufs eine Dosierung .....	48
Abbildung 37:	Ablaufschema einer einzelnen Dosierung .....	51
Abbildung 38:	Zustände der Nozzle: Operationsfähig; Flüssigkeitsanlagerung; Verkrustet durch Eintrocknung .....	53
Abbildung 39:	Prinzipieller Dosierablauf mit integrierter Rekalibrierung.....	55
Abbildung 40:	Übersicht des Visualisierungs- und der Steuerungssystems der Nozzle .....	58
Abbildung 41:	Tropfendarstellung bei unterschiedlichen Verzögerungszeiten des Stroboskops .....	58
Abbildung 42:	Schema des optischen Systems .....	59
Abbildung 43:	Darstellung des Kamerabildes und nach Angleichung des Histogramms ....	61
Abbildung 44:	Extraktion der Region of Interest (ROI).....	62
Abbildung 45:	Erstellung des Binärbildes aus der Region of Interest.....	63
Abbildung 46:	Tropfenkontur nach morphologischer Öffnung und Eliminierung ungewollter Konturen .....	63
Abbildung 47:	Tropfenkontur nach Abschluss des Erkennungsalgorithmus .....	64
Abbildung 48:	Kamerabild mit Projektion des erkannten Tropfens.....	65
Abbildung 49:	Darstellung der Aufspaltung des Tropfens in Satteliten.....	67
Abbildung 50:	Prinzip der Berechnung des Tropfenvolumens .....	69
Abbildung 51:	Diagramm der Volumenschwankung unterschiedlicher Messzeitpunkten ...	70
Abbildung 52:	Silhouetten gleicher Tropfen gleichen Volumens zu unterschiedlichen Flugabschnitten.....	71
Abbildung 53:	Ergebnisse der Volumenmessung bei konstanter Frequenz .....	72
Abbildung 54:	Schema der Zusammensetzung des visualisierten Tropfens .....	72
Abbildung 55:	Aufnahmen von Tropfen mit unterschiedlichen Längen des Stroboskopblitzes .....	72
Abbildung 56:	Diagramm des Systematischen Fehlers in Abhängigkeit der Frequenz .....	74
Abbildung 57:	Schema der Fehlerkennung durch hohe Tropfenraten.....	74
Abbildung 58:	Beleuchtungsintensität in Abhängigkeit von Frequenz und Leuchtdauer der Stroboskop LED .....	76
Abbildung 59:	Massenverlust durch Verdunstung aus einem Eppendorf-Tube unter Raumbedingungen .....	79
Abbildung 60:	Einzelbild (links) und gemitteltes Bild aus 16 Einzelbildern (rechts).....	84
Abbildung 61:	Tropfen in verschiedenen Stufen der Fokussierung .....	88

Abbildung 62:	Links Tropfenausschnitt, rechts Fouriertransformierte des Auschnittes.....	90
Abbildung 63:	Helligkeitsverlauf der Tropfenzeile (li.) und dessen Spektrum mit Summierungsfenster (r.) .....	90
Abbildung 64:	Diagramm des Maßes der Fokussierung verschiedener Positionen .....	91
Abbildung 65:	Schema des Anfangs- und Endpunktes für die Auswertung einer Sequenz..	94
Abbildung 66:	Prinzip der Ermittlung der Geschwindigkeit der Tropfen .....	95
Abbildung 67:	Prinzip zur Aufzeichnung der Flugbahn des Tropfens in drei Dimensionen	96
Abbildung 68:	Ablaufschema der Sequenzanalyse .....	97
Abbildung 69:	Schematische Darstellung der Einfluss der Versatzes aufs Trefferbild .....	99
Abbildung 70:	Optimal vor der Kamera positionierte und fokussiert Nozzle.....	100
Abbildung 71:	Bildverarbeitungsalgorithmus zur Erkennung der Nozzle .....	101
Abbildung 72:	Kriterien zur Überprüfen ob gefundene Kontur die Nozzle ist .....	102
Abbildung 73:	Beispiele für korrekturbedürftige Positionen der Nozzle vor der Kamera..	103
Abbildung 74:	Algorithmus zur Korrektur des x und z Versatzes .....	104
Abbildung 75:	Schematische Darstellung des Zusammenhangs zwischen y Versatz und Fokussierung.....	105
Abbildung 76:	Automatische Positionierung mit Hilfe der Kamera zur Dosierkontrolle ...	106
Abbildung 77:	Prinzip der. Ermittlung des Versatzes der Nozzle mit 2 Kameras (Draufsicht) .....	106
Abbildung 78:	Flüssigkeitsanlagerung an der Nozzle .....	107
Abbildung 79:	Extraktion der Schablone der operationsfähigen Nozzle .....	110
Abbildung 80:	Matrix der Korrelation.....	111
Abbildung 81:	Prinzip der Berechnung des Differenzbildes .....	111
Abbildung 82:	Prinzip der Erkennung angelagerter Flüssigkeit aus dem Differenzbild....	112
Abbildung 83:	Extraktion der signifikanten Linien aus der Kontur einer operationsfähigen Nozzle.....	113
Abbildung 84:	Signifikante Linien der Hough-Transformation bei der Erkennung von Flüssigkeitsanlagerung .....	114
Abbildung 85:	Ablaufschema der automatischen Parametersuche.....	116
Abbildung 86:	Ergebnis nach einfachem Suchlauf.....	117
Abbildung 87:	Schema der Ergebnisse der erweiterten automatischen Suche .....	118
Abbildung 88:	Gemessene Abhängigkeit zwischen Frequenz und Volumen.....	120
Abbildung 89:	Diagramme des Einflusses der Impulsamplitude auf das Tropfenvolumen und die Tropfengeschwindigkeit .....	120
Abbildung 90:	Schema der Testsoftware.....	126
Abbildung 91:	Schema der Automatisierungsstrukturen (rechst. dezentrale Bildverarbeitung) .....	129

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Übersicht aktueller Dosiersysteme der Piezotechnologie (Herstellerangaben) ...	20
Tabelle 2:	Beschreibung der Ventilstellungen.....	31
Tabelle 3:	Übersicht aktueller Dosiersysteme der Ventiltechnologie (Herstellerangaben)..	34
Tabelle 4:	Übersicht Piezo- und Ventiltechnologie.....	38
Tabelle 5:	Schritte der manuellen Kalibrierung der Dosierparameter.....	54
Tabelle 6:	Übersicht der Teilaufgaben zur Optimierung des Dosiersystems .....	56
Tabelle 7:	Technische Daten des CCD-Sensors der Kamera .....	59
Tabelle 8:	Schärfentiefen bei bestimmten Blendenzahlen.....	61
Tabelle 9:	Übersicht der durch Bildverarbeitung extrahierten Daten der Tropfen.....	66
Tabelle 10:	Anzahl der sich überlagernden Tropfen im Bild in Abhängigkeit der Tropfenrate .....	74
Tabelle 11:	Schätzung der Volumenabweichung bei Fehlerhafter Randerfassung .....	75
Tabelle 12:	Zusammenfassung der Parameter des Stroboskop Kamerasytems für die normierte Messung .....	77
Tabelle 13:	Übersicht der für Testzwecke verwendeten Flüssigkeiten und deren Eigenschaften.....	77
Tabelle 14:	Gravimetrische Messung verschiedener Tropfenmengen unter konstanten Bedingungen .....	78
Tabelle 15b:	Vergleichsmessungen Optisch und Gravimetrisch unterschiedlicher Lösungsmittel .....	81
Tabelle 16:	Übersicht der optischen Messung leicht flüchtiger Lösungsmittel .....	81
Tabelle 17:	Erforderliche Abtastraten (Bilder/s) für entsprechende Aufnahmequalität.....	87
Tabelle 18:	Abtastraten ausgewählter Hochgeschwindigkeitskameras [124-126] .....	87
Tabelle 19:	Tropfenabstand bei verschiedenen Fluggeschwindigkeiten und Frequenzen ....	95
Tabelle 20:	Teilaufgaben zur Erhöhung des Automatisierungsgrades .....	98
Tabelle 21:	Übersicht der vorgestellten Verfahren mit Kurzbeschreibung und Alternative	125

## Abkürzungsverzeichnis

CAN	Controller Area Network
CCD	Charge Coupled Device
CMOS	Complementary Metal Oxide Semiconductor
DLL	Dynamic Link Library
DMSO	Dimethylsulfoxid
DSP	Digital Signal Processor
FPGA	Field Programmable Gate Array
FPS	Frames per second
GC	Gaschromatographie
HTS	High Troughput Screening
ILIDS	Interferometric Laser Imaging Droplet Sizing
LC	Liquidchromatographie
LED	Light Emitting Diode
MTP	Mikrotiterplatte
NMP	N-Methyl-2-pyrrolidon
OpenCV	Open Computer Vision
Pixel	Picture Element
ROI	Region of Interest
uHTS	ultra High Troughput Screening
USB	Universal Serial Bus
Voxel	Volumetric Pixel

# 1 Einleitung

Das Dosieren von Flüssigkeiten ist ein elementarer Bestandteil von Fertigungs- und Produktionsprozessen. Für die Auslegung einer Dosieranlage ist entscheidend, ob wenige gleichartige oder verschiedenartige Flüssigkeiten dosiert werden sollen. Ein weiterer maßgeblicher Aspekt besteht in der Fähigkeit, das Dosievolumen variabel gestalten zu können. So sind beispielsweise Abfüllanlagen in der Lebensmittelindustrie von Saft, Jogurt oder Suppen jeweils spezialisiert auf die Dosierung der immer gleichen Substanz bzw. des gleichen Volumens. Die Verwendung einer solchen Anlage mit einer anderen als der zugewiesenen Flüssigkeit ist nicht vorgesehen. Selbst die Änderung des Abfüllvolumens erfordert technischen Aufwand. Im Gegensatz dazu sind die Anforderungen an Dosiersysteme im Bereich der Laborautomation vielfältiger. Für die Umsetzung von Arbeitsabläufen ist eine hohe Flexibilität in Bezug auf die Dosiermenge und die Flüssigkeitseigenschaften notwendig. Insbesondere bei automatisierten Systemen sind Genauigkeit und Reproduzierbarkeit wichtige Faktoren für die Qualität des Dosievorgangs [1;2].

## 1.1 Laborautomation

Zur Durchführung von Experimenten, sowohl auf dem chemischen als auch dem biologischen Sektor, sind bereits viele technische Geräte verfügbar, die Teilaufgaben übernehmen. In nicht automatisierten Laboren übernimmt die Durchführung der Experimente das Laborpersonal. Die Proben werden in einzelnen manuellen Schritten den Geräten zugeführt oder selbst bearbeitet. Beispielsweise wird die Probe manuell aus einem Gefäß entnommen und in verschiedenen Verdünnungsstufen auf einer Mikrotiterplatte verteilt. In einem weiteren Schritt erfolgt die Zugabe von Reagenzien, die Vermischung und abschließend die Messung einer speziellen Eigenschaft des Stoffgemisches.

In einem automatisierten Labor werden nahezu alle Schritte von automatisierten Systemen übernommen. Die geplanten Versuchsabläufe werden vom Nutzer über ein Benutzerinterface dem System übergeben. Das System errechnet aus diesen Daten die Ressourcennutzung und einen optimierten zeitlichen Ablauf. Spezielle Automaten übernehmen Teilaufgaben wie das Dosieren von Flüssigkeiten, das Öffnen und Schließen von Reaktionsgefäßern oder das Messen von speziellen physikalischer Größen. Den Transport der Probengefäße zwischen den einzelnen Stationen übernehmen z.B. Förderbänder oder Roboterarme [3;4].

Alle einzelnen Geräte werden von einem übergeordneten Leitsystem angesteuert. Die erzeugten Status- und Messdaten laufen zentral zusammen und können vom Benutzer zu jeder Zeit eingesehen werden. Für die Visualisierung, die Archivierung und die Verteilung dieser Daten existiert eine Vielzahl an LIM (Labor-Informations-Management) Systemen [5;6].

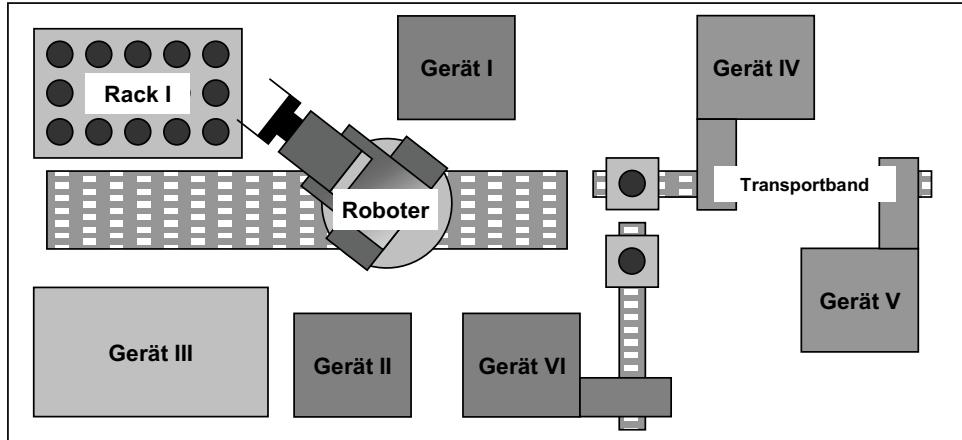


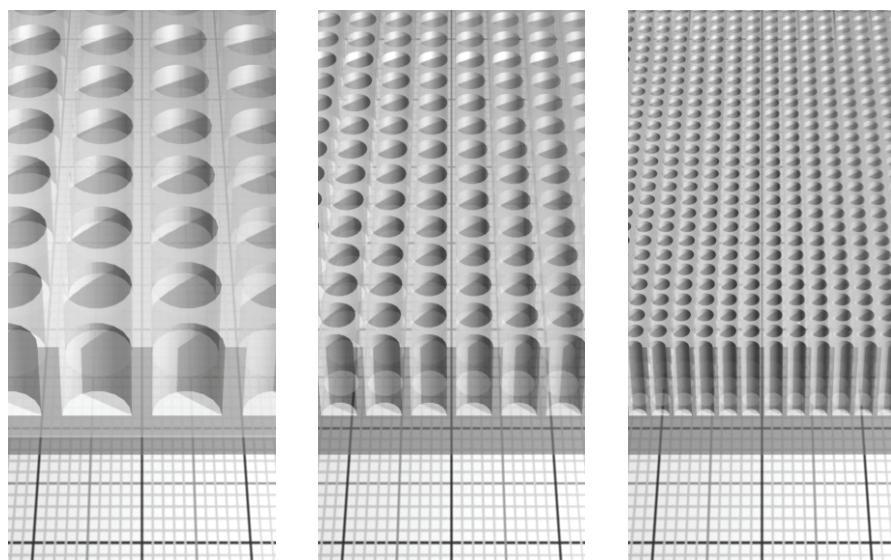
Abbildung 1 – Schema einer automatisierten Anlage

Diese komplexen Systeme, aus Einzelgeräten und Komponenten der Robotik, sind in den meisten Fällen für spezielle Aufgaben ausgelegt. Sie sind in der Lage, eine Vielzahl von Experimenten rund um die Uhr durchzuführen. Für den reibungslosen Ablauf ist es wichtig, dass die einzelnen Komponenten zuverlässig funktionieren und reproduzierbare Ergebnisse liefern. Mit zunehmender Größe und Flexibilität dieser Anlagen steigt auch die Komplexität bei Aufbau und Programmierung. Daher werden diese Systeme weniger für Einzelexperimente, sondern überwiegend für die Durchführung großer Versuchsreihen genutzt. Der Hintergrund der durchgeföhrten Experimente reicht dabei von Aufgaben der Forschung, der Durchführung von Tests bis hin zur Herstellung von Ausgangsprodukten zur weiteren Nutzung [7;8].

## 1.2 Miniaturisierung und Parallelisierung

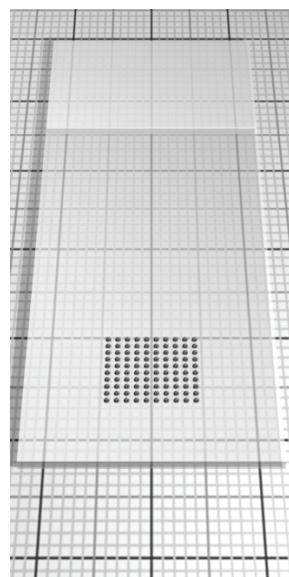
Die Mengen an Flüssigkeiten, die in automatischen industriellen Produktionsanlagen verbraucht, verarbeitet und erzeugt werden, reichen von mehreren hundert Millilitern bis in den Kubikmeterbereich. Im Bereich der labororientierten Tätigkeiten ist jedoch ein Trend zunehmender Miniaturisierung zu verzeichnen. Je kleiner die Systeme, desto geringer werden die benötigten Mengen an Reagenzien, Enzymen oder biologischem Probenmaterial. Das wesentliche Anliegen besteht in der Gewinnung möglichst vieler Datenpunkte mit einem einzelnen Experiment und möglichst geringen Mengen von Probenmaterial. Die Miniaturisierung ermöglicht es, mehr Experimente auf dem gleichen Raum durchzuführen, welcher zuvor für den Einzelversuch benötigt wurde.

Anhand der Entwicklung von Mikrotiterplatten, dem verwendeten Format für die Untersuchung von Flüssigkeiten, wird dieser Trend deutlich, siehe Abbildung 2. Auf dem Raum (127,76 mm x 85,48 mm) einer Platte erfolgt die Durchführung der Versuche stets unter den gleichen Bedingungen. Die Höhe der Anzahl der Experimente ermöglicht zusätzlich eine statistische Auswertung. Dies geschieht durch die nun möglich gewordene Parallelisierung [9;10].



**Abbildung 2** – Gegenüberstellung von Ausschnitten von einer 96er, 386er und 1.536 Mikrotiterplatte

Einen weiteren Trend stellen so genannte Mikroarrays dar. Bei diesem Verfahren finden spezielle Objektträger, ähnlich denen der Mikroskopie, die so genannten Slides, Verwendung. Für ein Experiment werden auf kleinstem Raum die Flüssigkeiten in Tropfenform in einer festgelegten Matrix platziert. Das in Abbildung 3 dargestellte Array enthält 100 Tropfen in einem quadratischen Raster von 10 x 10 Punkten auf einer Fläche von einem Quadratzentimeter. Dieser Vorgang kann nur von speziellen Dosierern vorgenommen werden. Die Reaktionen finden dort quasi ohne Reaktionsgefäß statt. Um die Tropfen möglichst in gewünschter Form zu halten (Benetzung etc.), sind diese Slides an einigen Stellen mit speziellen Beschichtungen versehen [11;12].

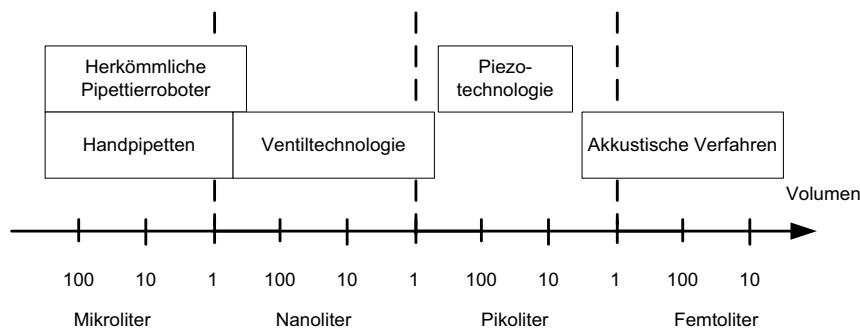


**Abbildung 3 –** Mikroarray von 100 Spots ( $1 \text{ cm}^2$ ) auf einem Objektträger

Bei der Miniaturisierung ist neben dem eigentlichen Downscaling auch das prozentuale Erhalten von Reproduzierbarkeit und Zuverlässigkeit notwendig. Aufgrund der Verlagerung der Dominanz von verschiedenen Eigenschaften ist das Downscaling nicht endlos fortsetzbar. Gleichzeitig tritt das Phänomen auf, dass Verfahren, welche in kleinen Maßstäben durchführbar sind, im größeren Rahmen nicht funktionieren. Ebenso ist das transformieren vom Makro- in den Mikroskopischenbereich nicht immer möglich [2;13].

## 1.3 Verfahren der Mikrodosierung im Überblick

Mit dem Trend in Richtung automatisierter Anwendungen steigen die Anforderungen an derartige Anlagen stetig. Zum einen soll ein hoher Durchsatz erreicht und zum anderen die benötigten Mengen reduziert werden. Der daraus resultierende Volumenbereich reicht von wenigen Mikrolitern bis hin zu mehreren hundert Pikolitern. Um auch in kleinem Maßstab vorgegebene Konzentrationsverhältnisse zu realisieren, sind spezielle Verfahren erforderlich, um die Dosierung zuverlässig und mit hinreichend hoher Genauigkeit vornehmen zu können [14;15].



**Abbildung 4 –** Überblick von Dosierverfahren der Laborautomation mit minimalen Volumenbereichen aus [14]

Mit zunehmender Miniaturisierung stoßen die herkömmlichen Pumptechniken an ihre Grenzen. Die kleinsten Abgabemengen ließen sich bisher mit Spritzenpumpen erzeugen. Die kleinstmöglichen Volumen liegen dabei im Bereich von ca. 200 nl – 500 nl. Mit der Forderung, immer kleinere Volumen hochgenau dosieren zu können, wurden neue Technologien entwickelt und aus anderen Bereichen adaptiert. Bestehende und erprobte Verfahren aus der Drucktechnik, insbesondere der Tintenstrahldrucker, ermöglichten bereits die Abgabe kleinstster Mengen. Zwar waren dies feinste Tintentröpfchen, doch ist das Dosierprinzip auch auf andere Flüssigkeiten anwendbar [16;17].

### 1.3.1 Vom Tintenstrahldrucker zum Nanodosierer

Die ersten Geräte, die in der Lage waren, kleinste Flüssigkeitsmengen zu dosieren, waren Tintenstrahldrucker. Vom ersten Patent 1867 und dem ersten Prototypen von Siemens 1957, bewirkten weitere Entwicklungen die Etablierung dieser Drucktechnik am Ende der 70er Jahre auf dem Markt [18].

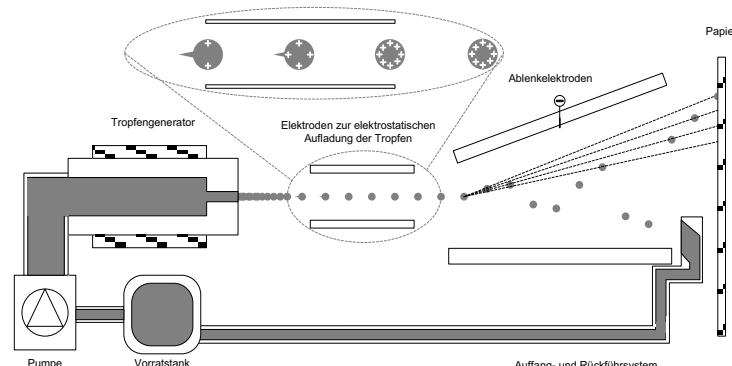
Die feine Quantelung des Volumens der zu dosierenden Flüssigkeit, in diesem Falle der Tinte, geschieht über die gezielte Bildung eines Tröpfchenstrahls. Zur Erzeugung verschiedener Druckmusters auf dem Papier ist in der Drucktechnik eine Vorrichtung zur gezielten Ablenkung der Tropfen ein fester Bestandteil des Systems. Bei der Verwendung als Flüssigkeitsdosierer ist diese Vorrichtung nicht notwendig. Die Unterteilung der gängigen Verfahren wird anhand der Erzeugung des Tröpfchenstrahls vorgenommen. Diese sind:

- **Continuous** – Permanente Tropfenerzeugung
- **Drop-on-Demand** – Tropfen wird nur erzeugt, wenn benötigt

In der Dosiertechnik haben sich für diese Begriffe andere Bezeichnungen durchgesetzt. Das für die Namensgebung maßgebende Element ist das Prinzip der Erzeugung des Tröpfchenstrahls. Unter dem Begriff Ventiltechnologie erfolgt die Einordnung der Verfahren der kontinuierlichen Tropfenerzeugung – ein schnell schaltendes Ventil startet und stoppt den Dosiervorgang. Die Erzeugung des Tropfens bei den Drop-on-Demand-Verfahren übernimmt in der Regel ein Piezoelement, daher auch die Bezeichnung als Piezotechnologie [19].

### 1.3.2 Continuous Mode

Beim Continuous-Verfahren ist das wesentliche Merkmal, dass der Tröpfchenstrahl erzeugt wird, indem die Tinte aus einer 50 - 80 µm breiten Düse gedrückt wird. Aufgrund der Oberflächenspannung zerfällt der Flüssigkeitsstrahl, der austretenden Tinte, in Tröpfchen. Durch diesen Zerfallsvorgang entstehen kontinuierlich gleichförmige Tröpfchen solange der Flüssigkeitsstrahl aufrechterhalten wird. Dieses Phänomen, Rayleigh Zerfall genannt, ist im Wesentlichen von den Eigenschaften der Tinte und den Strömungsverhältnissen abhängig. Nach dem Verlassen der Düse werden die Tintentröpfchen elektrostatisch aufgeladen. Diese Aufladung ermöglicht die gezielte Ablenkung der Tropfen, durch entsprechende gesteuerte Elektroden, auf das Papier oder in die Auffangvorrichtung [18].



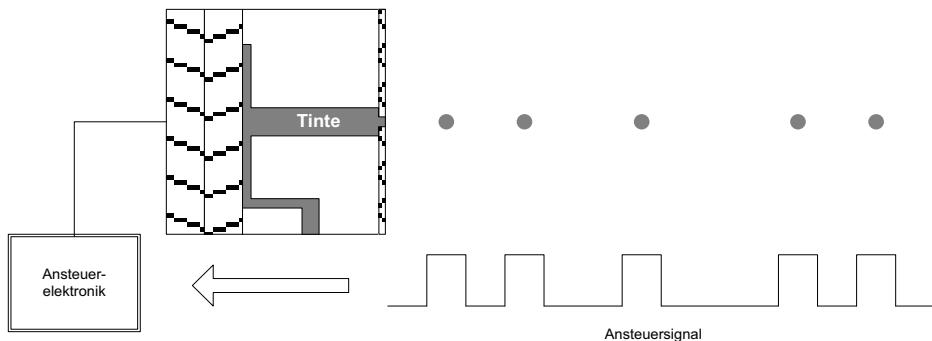
**Abbildung 5** – Funktionsprinzip von Continuous Ink-Jet Drucken / aus[20]

### 1.3.3 Drop-on-Demand

Bei dieser Methode wird der Tropfen nur dann erzeugt, wenn er auch benötigt wird. Das Ablenken des elektrostatisch aufgeladenen Tropfens ist bei diesem Verfahren nicht in demselben Maße wie beim Continous-Verfahren notwendig. Die gezielte Erzeugung eines einzelnen Tropfens beruht auf zwei unterschiedlichen Methoden:

- **Bubble-Jet** – Tropfenerzeugung über ein Heizelement
- **Piezo-Jet** – Tropfenerzeugung durch Piezokristall

Das Prinzip der Ansteuerung ist in Abbildung 6 dargestellt. Je nach Methode der Tropfenerzeugung existieren mehrere unterschiedliche Bauweisen. Sogar innerhalb der Piezo-Jet Technologie gibt es diverse Konstruktionsformen, siehe Abschnitt 2.5.2 [19].



**Abbildung 6** – Funktionsprinzip Drop-on-Demand Drucker / aus [21]

Die Adaption dieser Technologie in die Laborautomation ist die Grundlage der, in den folgenden Kapiteln, durchgeführten Überlegungen. Anstelle von Tinte wird mit dieser Technologie die Dosierung von verschiedenen Flüssigkeiten vorgenommen. Der Vorteil dieser Technologie ist, dass sehr kleine Tropfen, im Bereich von 10 pl – 500 pl erzeugt werden können. Je nach System können pro Sekunde bis zu 20.000 Tropfen abgegeben werden. Mit der zweiten Eigenschaft dieser Technologie, dem Erzeugen einer definierten Anzahl an Tropfen, kann theoretisch jedes beliebige Vielfache eines einzelnen Tropfens dosiert werden. Dadurch lässt sich eine Präzision erreichen, die mit keinem anderen Dosierverfahren derzeit möglich ist. Ein weiterer Aspekt des Verfahrens ist die Möglichkeit, die Flüssigkeiten kontaktlos zu übertragen.

Die Anpassung an die Verwendung in der Laborautomation, insbesondere der Umgang mit verschiedenen Flüssigkeiten stellt eine technische Herausforderung dar. Trotz der Anwendung dieser Systeme in der Praxis existiert Optimierungspotenzial.

## 1.4 Anwendungsbereiche der Nanodosiertechniken

Bereits in den verschiedenen Anwendungsbereichen liegt eine Spezialisierung vor. Daher sind die Bauformen der Dosierköpfe und vor allem der zugehörigen Hardware dem jeweiligen Bereich angepasst. Die Flüssigkeit ist neben ihren eigentlichen und gewünschten Eigenschaften auch als Medium zu betrachten, mit deren Hilfe gelöste Feststoffe oder Zellen dosiert werden können [21;22].

### 1.4.1 Mikroarrays zur Genom- und Proteomanalyse

Diese Technologie ist momentan die modernste Technik zur Analyse von Genen und Proteinen. Im Wesentlichen werden dabei mithilfe der Nanodosierer bestimmte Basensequenzen oder Proteine in einem definierten Raster, einem Array, auf einem Glaschip aufgetragen. Dieser Vorgang, das Spotten, versieht jede Position im Array mit einer unterschiedlichen DNA- Sequenz oder Peptid. Die zu analysierenden Substanzen werden für die Auswertung mit fluoreszierenden Farbstoffen versehen. Zur Analyse wird beim DNA-Microarray der gesamte Chip mit der zu analysierenden und aufgetrennten DNA behandelt. Bei Proteinarrays wird ein Protein, ein Antikörper oder der Proteinmix direkt, mit diesen Dosiertechniken, auf eine Position des Arrays gegeben. Die Auswertung erfolgt mit einem Lesegerät auf optischer Basis. Die eingefärbten Anteile werden sichtbar gemacht und können ausgewertet werden. Je nach Art der Färbung und der entsprechenden Position im Array, können Rückschlüsse auf das zu analysierende Material gezogen werden [23;24].

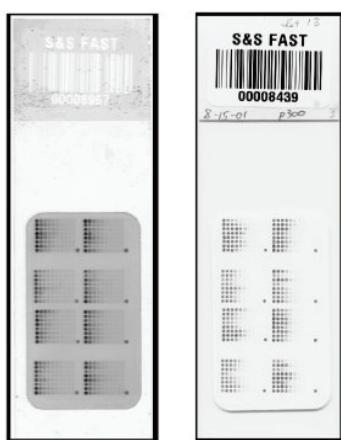


Abbildung 7 – Microarray auf einem Objektträger [25]

### 1.4.2 Miniaturisierte Anwendungen aus Chemie und Biologie

Besonders im biologischen Bereich haben sich automatische Verfahren mit einem hohen Durchsatz an Einzelexperimenten etabliert. Den gesamten Ablauf, der einen solchen Vorgang beschreibt, wird Assay genannt. In beiden Fachrichtungen gehört das Screening im Hochdurchsatzbereich (HTS) und Ultrahochdurchsatzbereich (uHTS) zum festen Repertoire. Die vollautomatischen Laborsysteme können dabei pro Tag 100.000 Substanzen auf ihre angestrebte Verwendung testen. Durch die Vielzahl an verfügbaren Substanzen besteht das Screening im Wesentlichen aus einer systematischen Suche. Diese Methoden sind nur mithilfe kompletter Automation möglich. Die Nanodosiertechniken sind notwendig, um die gewünschten kleinen Mengen dosieren zu können [26;27].

### 1.4.3 Lab-on-a-Chip Befüllung

Bei dieser Technologie sind verkleinerte Versionen von Laborgeräten bzw. Gerätegruppen auf kleinstem Raum untergebracht. Im Allgemeinen ist dies ein Glaschip mit einfachen Baugruppen wie Pumpen, Mischern, Heizungen, etc. Diese sind über Kapillaren miteinander verbunden. Weiterhin ist es möglich, komplexere Sensoren unterzubringen. Um diese kleinen Laboratorien mit Substanzen zu beliefern, bedarf es zum einen Dosievorrichtungen, welche in der Lage sind, kleine Mengen genau dosieren zu können und zum anderen werden genaue Positioniereinrichtungen, zur Substanzapplikation in die Reservoirs, benötigt [28;29].

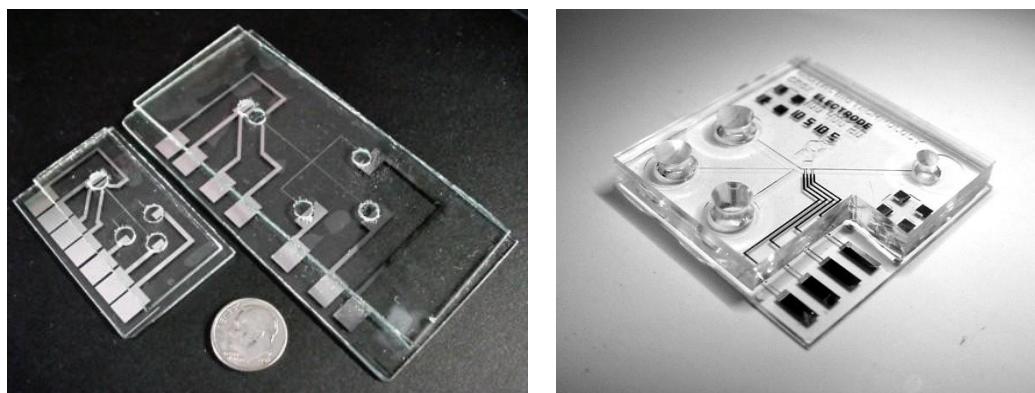


Abbildung 8 – Lab-on-a-Chip Systeme /aus l.[30], r. [31]

#### **1.4.4 Fertigungsprozesse in der Mikrotechnologie**

Weitere Anwendungsbereiche sind bei technischen Produktionsprozessen zu finden. Ein großer Vorteil ist das gezielte und sehr kontrollierbare Aufbringen von Flüssigkeiten an der benötigten Stelle. Beispiele dafür sind das Kühlen von Mikrobohrköpfen, das Ölen und Schmieren von Lagern mikroskopisch kleiner mechanischer Elemente, sowie Klebearbeiten. Durch die Verwendung der Mikrodosierung entfallen nachträgliche Waschschrifte, zur Beseitigung von Kühl- oder Klebstoffüberresten, die bei der Verwendung herkömmlicher Technologien entstanden wären [32;33].

Weiterhin können mithilfe von in den Flüssigkeiten gelösten Nanopartikeln Strukturen wie Leiterbahnen, Mikrolinsen oder spezielle Beschichtungen auf diverse Oberflächen aufgebracht werden. Im medizinischen Bereich werden Wirkstoffe auf Implantate aufgetragen, die dann sukzessive im Körper abgegeben werden [34;35].

#### Biosensoren

Sensoren, bei denen der spezifische Nachweis auf biologischen Gesetzmäßigkeiten beruht, werden im Allgemeinen als Biosensoren bezeichnet. Bei einfachen Verfahren ist der Nachweis, zum Beispiel ein Farbumschlag, sofort auswertbar. Bei komplexeren Analysen ist der biologischen Komponente noch eine Auswerteinheit, auf optischer oder elektrischer Basis, nachgeschaltet. In den Herstellungsverfahren von Biosensoren oder deren Baugruppen kommen die Technologien der Mikrodosierung zum Einsatz. Diese Dosiermethoden dienen der Übertragung der biologischen Komponenten, wie Proteinen, Enzymen oder Zellen, auf den Sensor. Dieser Produktionsschritt kann somit automatisiert durchgeführt werden [36;37].

## 1.5 Ziele der Arbeit

Diese Arbeit beschäftigt sich mit der Anwendung der Drop-on-Demand-Technologie im automatisierten Life Science Labor. Eines der wesentlichen Merkmale der erzeugten Tröpfchen ist die enorm hohe Gleichförmigkeit unter konstanten Bedingungen. Gleichzeitig besteht jedoch eine relativ starke Abhängigkeit von den Umgebungsbedingungen. In dem Anwendungsbereich der Laborautomatisierung kommen die verschiedensten Flüssigkeiten, teilweise mit im Voraus unbekannten Eigenschaften, zum Einsatz. Aufgrund dieser Zusammenhänge und der speziellen Weise der Erzeugung der Tröpfchen entstehen für die Anwendung dieser Technologie im Bereich der Laborautomation zwei Fragestellungen:

- Welches Volumen besitzen die erzeugten Tropfen?
- Wie müssen die Dosierparameter gewählt werden?

Die Arbeit zeigt Wege auf, diese Vorgänge zu automatisieren. Es wird dabei eine Lösung gesucht, die in der Praxis anwendbar ist. Neben der demonstrierten technischen Umsetzung werden zusätzliche Alternativen vorgestellt. Am Ende sollen, durch die in dieser Arbeit demonstrierten Optimierungen den Dosiersystemen eine höhere Autonomie verleihen werden.

### 1.5.1 Messung des Tropfenvolumens

Mit der Fähigkeit, eine beliebige Anzahl an Tropfen zu erzeugen und der Kenntnis des Tropfenvolumens lassen sich größere Mengen sehr präzise Erzeugen. Das Tropfenvolumen ist jedoch nicht konstant, sondern ist abhängig von den Eigenschaften der Flüssigkeit und den Dosierparametern. Das Volumen des einzelnen Tropfens liegt bei dieser Technologie und Bauweise zwischen 50 pl und 500 pl. Es existieren sowohl Verfahren, welche den einzelnen Tropfen messen können, als auch Methoden, um die dosierten Mengen im Nanoliterbereich zu erfassen. Diese Methoden werden in Abschnitt 3.1 näher erläutert. Der Nachteil ist jedoch, dass diese Methoden auf sehr aufwändiger Messtechnik basieren bzw. eine zeitnahe Messung des Volumens nicht möglich ist.

Somit ist ein Ziel der Arbeit ein Verfahren sowohl für die zeitnahe Messung des Volumens als auch für die Bewertung der Flugphase der Tropfen zu finden. Dabei ist jedoch ein ausgewogenes Verhältnis von Aufwand und Nutzen bei der Integration in bestehende Geräte sowie der praktikable Einsatz in der Laborautomatisierung vordergründig.

### 1.5.2 Automatische Kalibrierung

Die unterschiedlichen Eigenschaften der Flüssigkeiten führen dazu, dass eine Anpassung der Dosierparameter an den jeweiligen Dosierkopf erforderlich ist. Dabei wird in der Regel in zwei Etappen vorgegangen:

1. Ermitteln von Parametern, welche die Tropfenbildung bewirken
2. Gezielte Beeinflussung des Tropfenfluges durch Variation der Parameter

Aufgrund der Flüssigkeitseigenschaften wie Dichte, Viskosität und Oberflächenspannung muss zum Herauslösen des Tropfens eine unterschiedliche hohe Aktivierungsenergie aufgebracht werden. Gleichzeitig spielt die Dauer des Druckimpulses eine wichtige Rolle. Nur bei abgestimmten Werten wird Flüssigkeit aus der Nozzle herausgedrückt. Damit ist jedoch der Kalibrierungsprozess nicht abgeschlossen. Die sich bildenden Tropfen müssen, für eine Sicherstellung einer hochwertigen, Dosierung bestimmten Normen entsprechen. Eine detaillierte Beschreibung dieser Normen befindet sich in Abschnitt 5.2.1, welche im Wesentlichen folgende Punkte umfasst:

- Vermeidung der Bildung von Satellitentropfen
- Keine Anlagerung von Flüssigkeit während des Dosievorganges
- Geradlinige Flugbahn

Diese Einstellungen werden bisher ausschließlich manuell vorgenommen und vor dem Start des Dosievorganges durchgeführt. Bei der angestrebten Verwendung in automatisierten Abläufen kommt erschwerend hinzu, dass Flüssigkeiten aus anderen Prozessen, deren Eigenschaften bis dato unbekannt sind, an diesen Dosierer übergeben werden. Mit dem aktuellen Funktionsumfang sind die Dosiersysteme der Drop-on-Demand Technologie nicht in der Lage, eine selbständige Kalibrierung durchzuführen und sind daher nicht in automatisierten Abläufen mit der gewünschten Flexibilität einsetzbar.

Daher besteht ein weiteres Ziel der Arbeit darin, den Kalibervorgang zu automatisieren. Es soll ermöglicht werden einen unterbrechungsfreien Ablauf, ohne Interaktion eines Benutzers, zu gewährleisten. Des Weiteren ermöglicht die Umsetzung dieser Funktionen eine selbständige Rekalibrierung bei unvorhergesehenen Unterbrechungen oder Änderungen im Dosierablauf. Somit ist die Erweiterung um eine Prozedur zum automatischen Einstellen der Dosierparameter auch eine Verbesserung im Stand-Alone Betrieb.

## 2 Drop-on-Demand Technologie in der Laborautomation

Die Anpassung der Drucktechnik an die Anforderungen in der Laborautomation sind vielfältig. Der wesentliche Unterschied ist der Umgang mit verschiedenen Flüssigkeiten anstelle nur einer speziell angepassten Tinte. Die unterschiedlichen physikalischen Eigenschaften erfordern im Zusammenhang mit diesem Dosierprinzip besonderen technischen Aufwand. Die Grundlegenden Prinzipien werden in den Folgenden Abschnitten erläutert.

### 2.1 Physikalische Größen zur Beschreibung von Flüssigkeiten

Für die Beschreibung von Flüssigkeiten gibt es eine Vielzahl an Kennwerten. An dieser Stelle werden die für die kommenden Erläuterungen wichtigsten kurz eingeführt.

#### 2.1.1 Dichte

Die Dichte beschreibt das Verhältnis von Masse und Volumen eines Stoffes. Es besteht eine Temperatur- und Druckabhängigkeit.

$$\rho = \frac{m}{V} \quad \rho \text{ - Dichte; } m \text{ - Masse; } V \text{ - Volumen (Gl. 2.1)}$$

Bis auf wenige Anomalien – wie die des Wassers – ist die Dichte indirekt proportional zur Temperatur. Bei Flüssigkeiten, die größtenteils einen sehr hohen Kompressionsmodul besitzen, hat ausschließlich hoher Druck einen Effekt [38;39].

#### 2.1.2 Viskosität

Der Effekt zwischenmolekularer Wechselwirkungen bei der Bewegung innerhalb der Flüssigkeit wird als innere Reibung bezeichnet. Auf diesen Wechselwirkungen beruht auch die Zähflüssigkeit – die Viskosität – von Flüssigkeiten und Gasen. Hohe Viskositäten im Bereich von mehr 20 mPa s deuten zunehmend auf ölige Flüssigkeiten hin, Wasser liegt bei 1 mPa s. Weitere darunter liegende Flüssigkeiten sind leichte organische Lösungsmittel wie z. B. Aceton mit 0,35 mPa s. Sobald die Werte der dynamischen Viskosität ausschließlich temperaturabhängig sind, werden diese Stoffe als „Newtonscche Fluide“ bezeichnet. Im Gegensatz dazu ist bei den „Nicht-Newtonscchen Fluiden“ die Viskosität zusätzlich abhängig von der Bewegungsgeschwindigkeit [38;39].

### 2.1.3 Oberflächenenergie und Oberflächenspannung

In jeder Flüssigkeit herrschen zwischen den einzelnen Molekülen Kohäsionskräfte. Diese sind räumlich begrenzt und heben sich, bei Betrachtung eines Moleküls, im inneren der Flüssigkeit auf. An der Oberfläche fehlt bzw. ist die nach außen gerichtete Anziehungskraft deutlich geringer. Aufgrund dessen kommt es zur Bildung einer Grenzschicht, deren Dicke ungefähr des Wirkungsbereiches innerhalb der Flüssigkeit (ca. 20 nm) entspricht. Für die Vergrößerung der Oberfläche müssten zusätzlich Moleküle aus dem Inneren an die Oberfläche gelangen. Für diese Vorgänge muss jedoch Arbeit verrichtet werden. Daher besitzt jedes Teilchen an der Oberfläche potentielle Energie. Diese Zunahme der Oberflächenenergie  $\Delta E$  ist proportional zur Oberflächenvergrößerung.

$$\Delta E = \sigma \Delta A \quad \Delta E \text{ - Oberflächenenergie; } \sigma \text{ - Oberflächenspannung; } A \text{ - Fläche (Gl. 2.2)}$$

Das Phänomen, das Tröpfchen oder Gasblasen immer Kugelgestalt annehmen, ist auf die Oberflächenspannung zurückzuführen. Die ist mit dem Streben des Systems, einen stabilen Gleichgewichtszustand bzw. einen Zustand mit der geringsten potentiellen Energie einzunehmen, begründet. Dieses Verhalten bewirkt, dass alle Flüssigkeitsoberflächen stets Minimalflächen sind. Das Einnehmen einer Kugelgestalt ist drauf zurückzuführen dass die Kugel von allen Körpern des gleichen Volumens die kleinste Oberfläche besitzt [39].

### 2.1.4 Kompressionsmodul

Diese intensive Größe ist ein Maß für die Veränderung des Volumens aufgrund einer Druckänderung.

$$K = -\frac{\Delta p V}{\Delta V} \quad \text{(Gl. 2.3)} \quad K \text{ - Kompressionsmodul} \quad \Delta p \text{ - Druckänderung;} \\ V \text{ - Volumen;} \quad \Delta V \text{ - Volumenänderung}$$

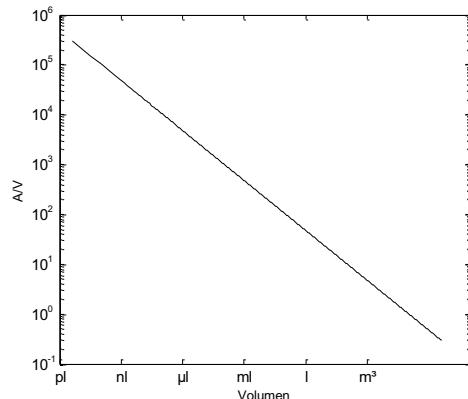
Feststoffe besitzen einen hohen Kompressionsmodul (Stahl: 160 GPa), gasförmige Substanzen (Luft: 100 kPa) dagegen einen geringen. Flüssigkeiten liegen ca. zwei Zehnerpotenzen unter denen der Feststoffe (Wasser: 2 GPa). Im Allgemeinen werden Flüssigkeiten als inkompressibel betrachtet. Daher wird in Berechnungen aus Gründen der Vereinfachung, die Kompressibilität oft nicht berücksichtigt. Eine weitere Kenngröße, die direkt mit dem Kompressionsmodul und der Dichte zusammenhängt, ist die Geschwindigkeit der Schallausbreitung in Flüssigkeiten. Da es bei der Drop-on-Demand Technologie um das induzieren von mechanischen Wellen geht, beeinflusst der spezifische Kompressionsmodul die Ausbreitungsgeschwindigkeit [39].

## 2.2 Besonderheiten des Verhaltens im Mikroliterbereich

Das Verhalten von Flüssigkeitsmengen sehr kleiner Volumina unterscheidet sich wesentlich von dem größerer Mengen. Dieses Phänomen resultiert aus dem Verschieben des Verhältnisses zwischen inneren und äußeren Kräften bei der Verringerung des Volumens. Bei sehr kleinen Mengen von wenigen Mikrolitern übt die Oberflächenspannung einen dominierenden Einfluss aus. Aufgrund der Tatsache, dass die meisten Aspekte des Verhaltens von Flüssigkeiten weitgehend erforscht sind und es bei den nachfolgenden Überlegungen in dieser Arbeit nicht darum geht, die Einflüsse zu modellieren oder Zusammenhänge darzustellen, wird an dieser Stelle nur kurz auf die wesentlichen Eigenschaften von Flüssigkeiten hingewiesen [40;41].

### 2.2.1 Verschobene Verhältnisse

Eine Besonderheit bei kleinen Maßstäben ist das Verhältnis von der Oberfläche zu dem Volumen eines Körpers. Dieses Verhältnis ändert sich wesentlich, wenn der Körper gleichmäßig vergrößert wird. In Abbildung 9 ist das Oberflächen-Volumen Verhältnis einer Kugel dargestellt.



**Abbildung 9** – Diagramm des Oberflächen-Volumen Verhältnisse (doppelt logarithmische Darstellung)

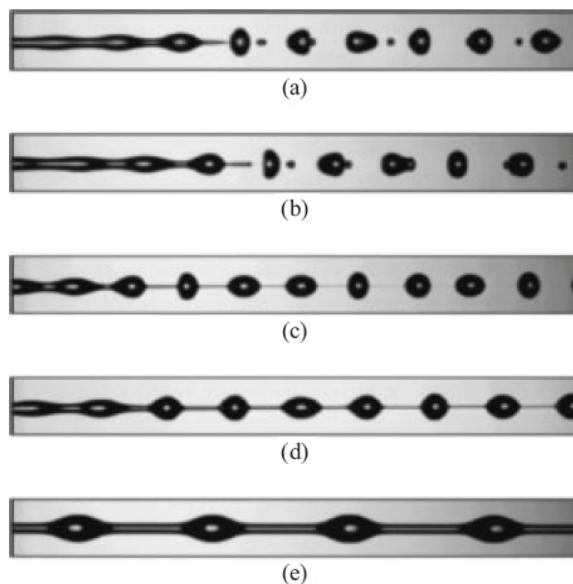
Je kleiner das Volumen ist, desto größer wird dieses Verhältnis. Diese Phänomene sind die Ursache für das unterschiedliche Verhalten im Kleinen gegenüber dem Großen. Wesentlichen Einfluss auf der physikalischen Ebene gewinnt dabei die Oberflächenspannung. Beispiele sind dafür die Zerstäubung in feine Tröpfchen oder die Fähigkeit von Insekten, auf der Wasseroberfläche zu laufen. Auf chemischer Ebene verhält sich die Reaktivität bei Prozessen die einen kleineren Energiezustand anstreben, proportional zum Oberflächen-Volumen Verhältnis. Ein bekanntes Beispiel ist die Staubexplosion [42].

### 2.2.2 Instabilitäten im Flüssigkeitsstrahl

Aufgrund der Oberflächenspannung beginnt ein Flüssigkeitsstrahl nach dem Austritt aus einer Düse in Tröpfchen zu zerfallen. Dieses Phänomen wurde von Rayleigh 1878 mathematisch beschrieben. Aufgrund dessen und weiteren Untersuchungen konnten Gesetzmäßigkeiten entdeckt werden, welche den Zerfall eines Flüssigkeitsstrahls in Tröpfchen charakterisieren. Im Wesentlichen wird der Zerfall bestimmt durch:

- Eigenschaften der Flüssigkeit
- Strömungsgeschwindigkeit
- Anregung
- Eigenschaften der Düse (Form, Dimensionen)

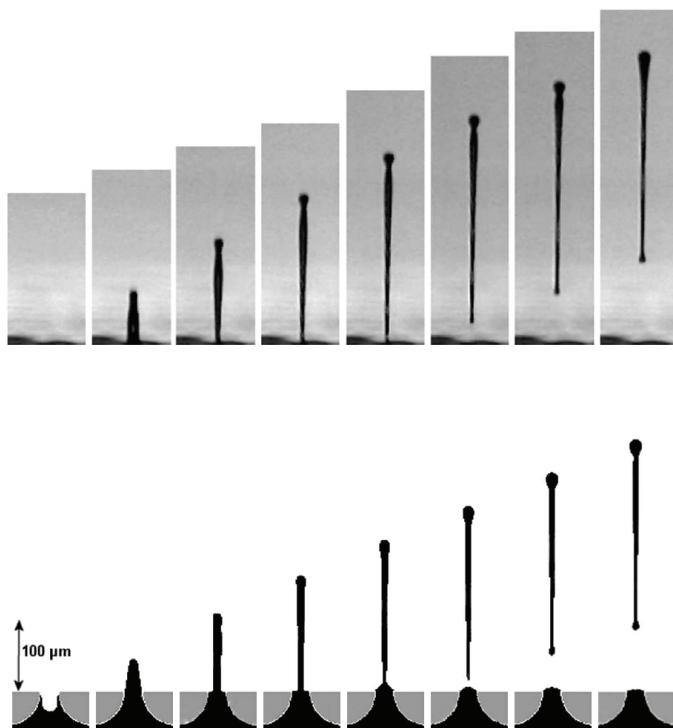
Bei einer gezielten Abstimmung erfolgt die Bildung von einheitlichen Tropfen. Dieses Verhalten wird bei der kontinuierlichen Tropfenerzeugung in der Druck- und Dosiertechnik genutzt. Die Größe der Tropfen wird durch Düsengeometrie, Strömungsgeschwindigkeit und Eigenschaften der Flüssigkeit bestimmt. Durch das Erzeugen einer zusätzlichen Anregung, zum Beispiel durch hochfrequente Schwingungen, ist die gezielte Beeinflussung der sich ausbildenden Tropfen möglich [43;44].



**Abbildung 10** – Zerfall eines Flüssigkeitsstrahls unterschiedlicher Flüssigkeiten nach Austritt aus der Düse [45]

## 2.3 Simulation von Prozessen der Mikrofluidik

Das Verhalten der newtonischen Flüssigkeiten ist in mathematischen Modellen erfasst. Ebenso lassen sich komplexe mechanische Systeme mit der Hilfe von Simulationsprogrammen, basierend auf Finite-Elemente Berechnungen erfassen. Ein Vertreter dieser Kategorie ist Flow3d. In einigen wissenschaftlichen Arbeiten wurden die Vorgänge in Piezo basierten Dosierköpfen bereits ausführlich simuliert. Die Einspeisung der erforderlichen Daten in das Simulationsprogramm ist mit zusätzlichem Aufwand verbunden. Jedoch sind die erzielten Resultate, wie in Abbildung 11 demonstriert, sehr nahe an der Realität [46;47].



**Abbildung 11** – Gegenüberstellung von gemessener Tropfenbildung (oben) und Simulation (unten) (Darstellung jeweils von 0 µs - 80 µs in Schritten von 10 µs) aus [48]

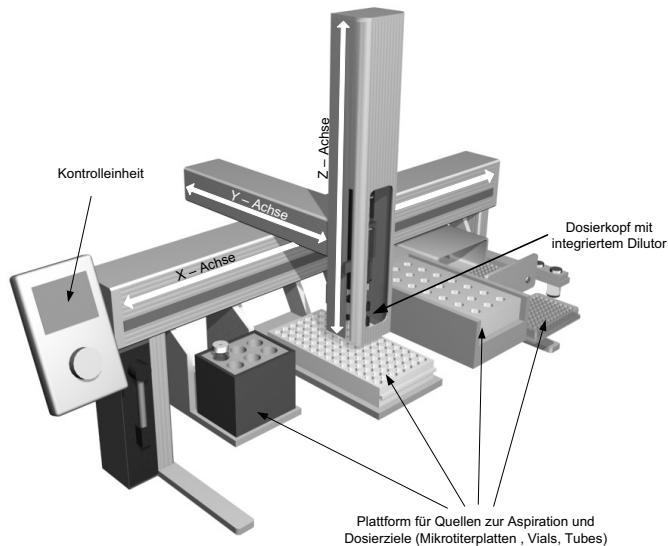
Diese Arbeit soll sich jedoch nicht mit der Simulation des Verhaltens von Flüssigkeiten befassen. Für die Mess- und Automatisierungsaspekte ist die Kenntnis der tendenziellen Auswirkungen von Einflüssen oft ausreichend. Des Weiteren sind die Simulationen sehr zeitaufwändig und können nicht zeitnahe durchgeführt werden. Im praktischen Einsatz kommen für Simulationsberechnungen unbekannte Parameter, wie die Eigenschaften der Flüssigkeit hinzu. Weiterhin entstehen bei speziellen Fertigungsverfahren Abweichungen der für eine Simulation angenommenen Geometrie.

## 2.4 Nanodosiersysteme in der Laborautomation

Bei der Verwendung von Dosierern werden flexible Systeme benötigt, die vielfältig eingesetzt werden können. Bei der Entwicklung von Nanodosierern für den Einsatz im Labor erfolgt die Orientierung an den bereits auf dem Markt etablierten Dosierplattformen, wie zum Beispiel dem Biomek FX von Beckman-Coulter [49]. Der Grundaufbau dieser Systeme ist prinzipiell ähnlich. Besonderheiten der technischen Anforderungen der Nanodosierung fließen in die Konstruktionen mit ein [50;51].

### 2.4.1 Aufbau eines Dosierroboters

Der größte Teil der auf dem Markt verfügbaren Geräte zur Dosierung kleiner Mengen hat einen ähnlichen Grundaufbau. Die Dosierziele sind unter anderem Mikrotiterplatten, Slides oder Lab-on-a-Chip Systeme. Diese sind auf speziellen Trägern auf der Plattform verankert. Die Relativbewegung des Dosierkopfes ist in der horizontalen Ebene und vertikal möglich.



**Abbildung 12 – Schema eines Liquidhandlers und Basiskomponenten am Typ PAL von ctc Analytics [52]**

Neben der Forderung nach hoher Positioniergenauigkeit sollte der Dosierkopf für die unterschiedlichsten Dosierziele verwendbar sein. Einzelne zusätzliche Freiheitsgrade, wie zum Beispiel variabler Abstand zwischen den Nozzlen bzw. Pipettenspitzen, vergrößern die Flexibilität, erhöhen jedoch den Aufwand bei Konstruktion und Steuerung. Des Weiteren sind Einrichtungen zur Reinigung der Dosierköpfe und dem Aufbewahren benötigter Flüssigkeiten notwendig. Optionale Hardware-Komponenten können u. a. Umweltkontrollen für die Regelung von Luftfeuchtigkeit und der Temperatur sein [53;54].

### 2.4.2 Anforderungen an automatisierte Systeme

Die Anforderung an automatisierte Systeme ist, dass diese in definierten Abschnitten autark arbeiten können. Aufgrund eines gewissen Gefährdungspotenzials durch bewegte mechanische Teile oder den Umgang mit gefährlichen Stoffen (z. B. giftige) bestehen generell hohe Anforderungen an die Zuverlässigkeit und den sicheren Betrieb. Das Dosierprinzip bestimmen vor allem die verwendeten Dosierziele und das zusätzlich notwendige Equipment. Verallgemeinern lässt sich für das Dosierverfahren daher:

- Genauigkeit und Reproduzierbarkeit (Menge)
- Robustheit
- Vielseitigkeit (diverse Flüssigkeiten)

An die Konstruktion und Robotik ergeben sich Forderungen nach einer möglichst hohen Einsetzbarkeit für unterschiedliche Dosierziele und einer angemessen hohen Genauigkeit bei der Positionierung des Dosierziels. An die Software, welche zum einen die Ablaufsteuerung übernimmt und zum anderen als Benutzerinterface zur Programmierung der gewünschten Abläufe dient, besteht ebenfalls die Forderung nach Flexibilität und Zuverlässigkeit [55].

Neben den genannten Punkten kommen weitere Aspekte, wie die Bestückungsmöglichkeiten im Zugriffsbereich des Dosierkopfes und die Qualität der Software, hinzu. Bei komplexeren Dosierplattformen ist außerdem weiteres technisches Equipment vorhanden. Dazu gehören im Allgemeinen Werkzeuge zum Transport der Labware, zur individuellen Temperierung, zum Schütteln oder zum Versiegeln der sich auf der Plattform befindlichen Gefäße. Seitens der Software sind für die Integration in automatisierte Laborumgebungen Schnittstellen für übergeordnete Leitsysteme oder Labor-Informations-Management-Systeme erforderlich [56].

### 2.4.3 Kontaktloser Dosievorgang

Ein weiterer wichtiger Aspekt bei der Nutzung von Flüssigkeitsdosierern in „High Throughput“ -Bereichen ist das kontaktlose Dosieren. Es ist kein Eintauchen der Dosierköpfe in das Ziel erforderlich. Der erste wesentliche Vorteil ist die Senkung des Risikos der Querkontamination. Zweitens entfällt der mit dem Auswechseln der Dosierspitzen verbundene Aufwand (Wechselprozess, Abfall). Dies führt zu einer Zeitersparnis und ein bewirkt eine Steigerung des Arbeitstempos [57].

#### 2.4.4 Kommerziell erhältliche Systeme

Diese Übersicht enthält derzeit auf dem Markt verfügbare Systeme. Neben den wichtigsten technischen Daten befinden sich Anmerkungen zur Methode der Tropfenüberwachung.

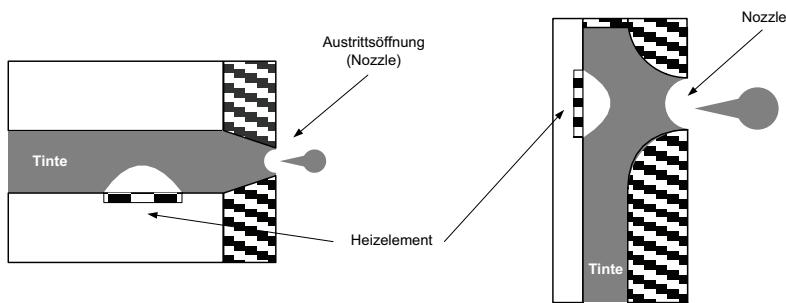
Hersteller	Technische Daten	Systeme zur Dosier- und Volumenüberwachung
Beckman Coulter Europark Fichtenhain B13 47807 Krefeld Germany <a href="http://www.beckmancoulter.com">http://www.beckmancoulter.com</a>	<b>PicoRAPTR</b> Anzahl Nozzeln: 8 Tropfenvolumen: 500 pl Dosierziele MTP 96,384, 1536 u. 3456 Anwendung: Verdünnungsreihen, Microarrays	Prozedur zur Bestimmung des Tropfenvolumens über Fluoreszenzmessung Externer Reader erforderlich Dosiergenauigkeit: k. A.
Dimatix Postbus 178 1380 AD Weesp The Netherlands <a href="http://www.dimatix.com">http://www.dimatix.com</a>	<b>DMP-2831</b> Anzahl Nozzeln: 16 Tropfenvolumen: 1 – 10 pl Dosierziele Anwendungsspezifisch Anwendung: Herstellungsprozesse in der Mikrotechnologie	Interne Kameras zur Überwachung von Tropfenbildung und Dosierziel Dosiergenauigkeit: CV ≤ 1%
Gesim GeSiM Gesellschaft fuer Silizium-Mikrosysteme mb Bautzner Landstrasse 45 D-01454 Großerkmannsdorf Germany <a href="http://www.gesim.de">http://www.gesim.de</a>	<b>Nano-Plotter Series</b> Anzahl Nozzeln: 8 - 16 Tropfenvolumen: 70 – 100 pl Dosierziele: MTP 96,384, 1536 und Slides Anwendung: Verdünnungsreihen, Microarrays	Interne Kameras zur Überwachung von Tropfenbildung und Dosierziel Kopplung mit Bildverarbeitung Dosiergenauigkeit: 100 Tropfen CV ≤ 2%
Microdrop microdrop Technologies GmbH Muehlenweg 143 D-22844 Norderstedt Germany <a href="http://www.microdrop.de">http://www.microdrop.de</a>	<b>AD- &amp; MD-Series</b> Anzahl Nozzeln: 1 – 8 Tropfenvolumen: 20 – 400 pl Dosierziele: Slides ,Anwendungsspezifisch Anwendung: Microarrays, Herstellungsprozesse in der Mikrotechnologie	Interne Kameras zur Überwachung von Tropfenbildung System zur Topfenzählung Dosiergenauigkeit: CV ≤ 1%
Microfab MicroFab Technologies, Inc. Dallas, TX, USA <a href="http://www.microfab.com">http://www.microfab.com</a>	<b>jetLab Series</b> Tropfenvolumen: 10 – 100 pl Dosierziele: Anwendungsspezifisch Anwendung: Herstellungsprozesse in der Mikrotechnologie	Interne Kameras zur Überwachung von Tropfenbildung und Dosierziel Kopplung mit Bildverarbeitung Dosiergenauigkeit: k. A.
Scienion Scienion AG, Berlin Volmerstraße 7b D-12489 Berlin <a href="http://www.scienion.com">http://www.scienion.com</a>	<b>S 5/S 11</b> Anzahl Nozzeln: 1 – 8 Tropfenvolumen: 50 – 500 pl Dosierziele: MTP 96,384, 1536 und Slides Anwendung: Microarrays	Interne Kameras zur Überwachung von Tropfenbildung und Dosierziel Dosiergenauigkeit: CV ≤ 1%.

**Tabelle 1** – Übersicht aktueller Dosiersysteme der Piezotechnologie (Herstellerangaben)

## 2.5 Prinzip der Tropfenerzeugung

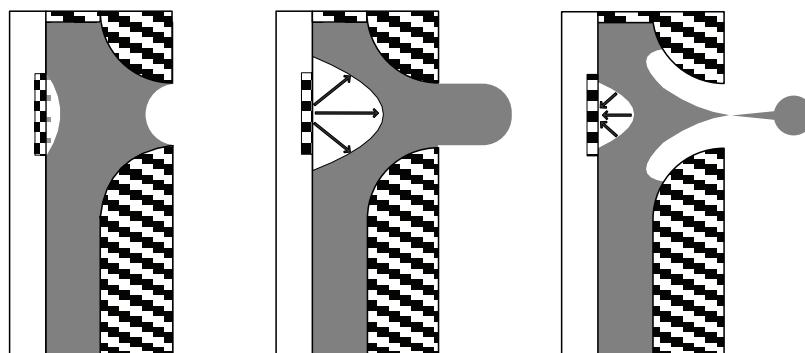
Diese Art der Tropfenerzeugung wurde nach den Prinzipien des Drop-on-Demand Verfahrens aus der Drucktechnik nachempfunden. Das Design der Dosierköpfe ist jedoch der Verwendung an unterschiedliche Flüssigkeiten und den hinzugekommenen Anforderungen, wie Aspiration und Waschvorgängen angepasst worden.

### 2.5.1 Bubble Jet



**Abbildung 13** – Unterschiedliche Bauformen des Bubble-Jet (links: side shooter, rechts: roof shooter) [19]

Eine Methode stellt das Erzeugen von Tropfen mithilfe eines Heizelementes dar. Unmittelbar vor der Düse wird die Flüssigkeit in der Kapillare kurzzeitig sehr stark aufgeheizt, so dass sich eine Glasblase bildet. Dies hat eine explosionsartige Volumenzunahme zur Folge. Dadurch wird die Flüssigkeit aus der Düse herauskatapultiert. Die Aktivierung des Heizelementes ist von sehr kurzer Dauer (ca.  $2 \mu\text{s} - 10 \mu\text{s}$ ). Durch diesen kurzen Impuls der Wärmezufuhr kühlt sich die Flüssigkeit schlagartig wieder ab. Es kommt zum einen zum Tropfenabriß und zum anderen kann neue Flüssigkeit aus dem Reservoir nachfließen. Die möglichen Dosierfrequenzen liegen zwischen 2 kHz und 8 kHz [58;59].

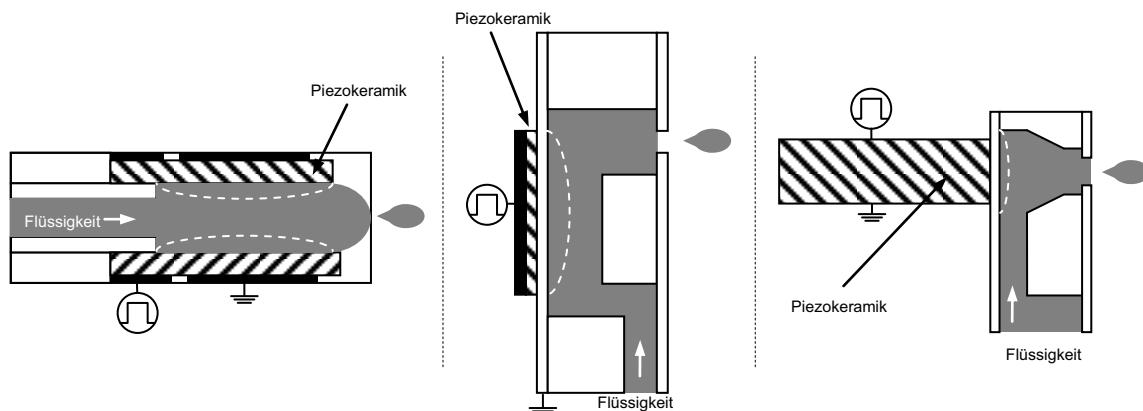


**Abbildung 14** – Schema des Tropfenabschusses beim Bubble-Jet [19]

Die Anwendbarkeit dieses Verfahrens für Dosierprozesse in der Chemie oder Biologie ist umstritten. Zum einen besitzen Flüssigkeiten unterschiedliche Siedepunkte, zum anderen ist die Wirkung des thermischen Stresses auf die Flüssigkeit nicht vollständig erforscht. Trotz dieser Erwägungen findet diese Technologie Anwendung bei der Herstellung von Mikroarrays [60-62].

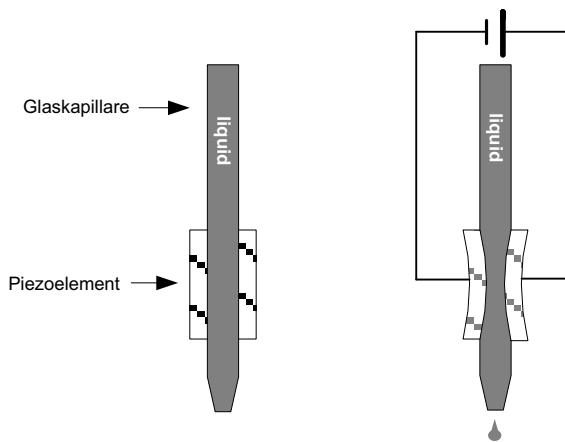
### 2.5.2 Piezo Jet

Bei dieser Technik wird ein Piezokristall zur Tropfenerzeugung verwendet. Das Prinzip basiert auf der Eigenschaft eines Piezokristalls, seine Form beim Anlegen von Spannung zu verändern. Die durch das Anlegen einer Spannung verursachte Verformung überträgt sich auf die umliegenden Strukturen.



**Abbildung 15 – Drop-on-Demand Technologien auf Basis von Piezoelementen  
(Links: Squeeze Mode, Mitte: Bend Mode, Rechts Push Mode) / aus [63]**

Durch die schlagartige Änderung der Form entsteht ein Druckimpuls. Dieser wird auf die Flüssigkeit übertragen. In dem Bestreben, einen Ausgleich zu bewirken, wird ein Teil aus der Nozzle, der Ausgangsdüse, herausgedrückt. Die Dauer des Spannungsimpulses beträgt nur wenige Mikrosekunden. Mit dem Abfallen der Spannung und dem zurückkehren des Kristalls in die ursprüngliche Form, kommt es zu einer erneuten, jedoch entgegengesetzt gerichteten, Druckschwankung. Diese ist für den Tropfenabriss verantwortlich. Dabei löst sich die herausgedrückte Flüssigkeitsmenge aus dem Verband der Flüssigkeit und wird zum Tropfen. Im Vergleich zu der Benutzung eines Heizelementes ist dieses Verfahren technisch aufwändiger [20].



**Abbildung 16** -Piezo-Jet Verfahren in Kapillarbauweise (l. Ruhezustand, r. Piezoelement unter Spannung)

Im Gegensatz zur Anwendung beim Drucken ist es erforderlich, anstelle einer einzigen Flüssigkeit, wie der Tinte, eine Vielzahl von Substanzen dosieren zu können. Die Düse und deren Zuleitungen müssen den Anforderungen diverser Flüssigkeiten gerecht werden. Im Sinne einer flexiblen Nutzung und des schnellen Austauschs der Flüssigkeiten muss die Fähigkeit zur Aspiration durch technische Mittel umgesetzt werden. Die Bauweise in Kapillarform, dargestellt in Abbildung 16, ist bei Dosierern in der Laborautomation die am meisten vertretende Variante. [64]

Die Mengen dieser Tropfen liegen im Bereich von 10 pl – 600 pl je nach Nozzledesign, Frequenz, angelegter Spannung und Dauer des Spannungsimpulses. Die Dosierfrequenz bezieht sich auf Tropfen pro Sekunde und beinhaltet einen Zyklus des kontinuierlichen Ansteuersignals des Piezokristalls [65].

## 2.6 Ansteuerung und Systemverhalten

Das Signal zur Tropfenabgabe besteht im Wesentlichen aus einem Rechtecksignal. Für die kontinuierliche Abgabe oder zur Erzeugung einer definierten Anzahl an Tropfen wird eine unendliche Folge dieser Rechtecksignale bzw. eine genaue Anzahl an Impulsen generiert. Diese ist in Abbildung 17 dargestellt und ist gekennzeichnet durch Frequenz, Amplitude und Impulsbreite.

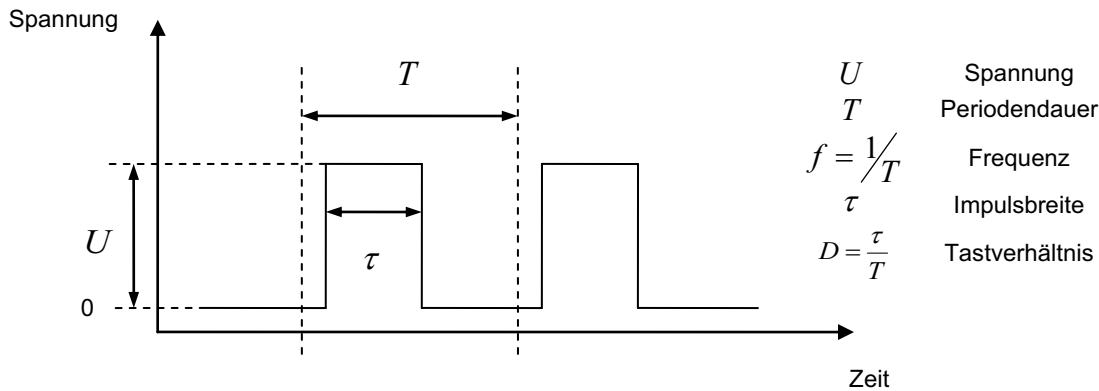


Abbildung 17 – Ansteuersignal des Piezoelementes

### 2.6.1 Frequenz

Theoretische Vorhersagen nach einfachen Modellen ohne Berücksichtigung von Resonanz- oder weiteren Seiteneffekten beschreiben den Einfluss der Frequenz wie in Abbildung 18 dargestellt. Dabei wird erheblicher Einfluss dem Durchfluss zugeschrieben. Dieser erhöht sich proportional mit steigender Frequenz bis zu dem Punkt, an dem aufgrund systembedingter Aspekte keine Erhöhung mehr möglich ist. Die Beschränkung beruht hauptsächlich auf der Dosierkammergeometrie der Kapillarlänge des Zulaufs.

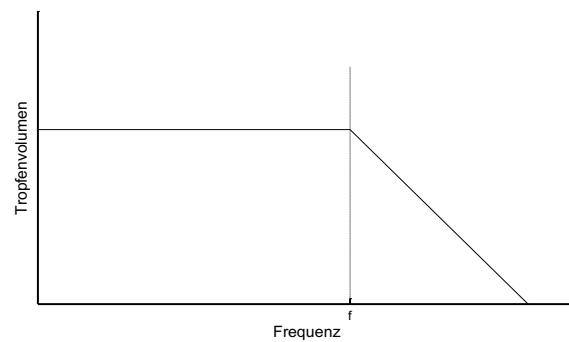


Abbildung 18 – Schema der Abhängigkeit zwischen Tropenvolumen und Frequenz / aus [20]

Das Reziproke der Zeit, die für das komplette Nachfüllen des freigewordenen Volumens in der Nozzle benötigt wird, stellt gleichzeitig die Grenzfrequenz dar.

$$t_r = \sqrt{\frac{K\rho d_d^3}{3T d_o}} \quad (\text{Gl. 2.4}) \text{ mit}$$

$K$  - Geometrische Konstante  
 $\rho$  - Dichte  
 $d_d$  - Tropfendurchmesser  
 $d_o$  - Durchmesser der Nozzleöffnung  
 $T$  - Oberflächenspannung

Wird diese Überschritten, ist die Dosierkammer beim nächsten Spannungsimpuls nicht vollständig gefüllt und demzufolge die Tropfenmenge kleiner. Bei weiterer Steigerung der Frequenz nimmt das Volumen des einzelnen Tropfens weiter ab. Der Richtwert für die Nachfüllzeit bzw. die Grenzfrequenz lässt sich mit Gleichung 2.4 berechnen [20].

### 2.6.2 Spannung

Die Stärke des Druckimpulses verhält sich proportional zur Spannung, die am Piezokristall anliegt. Um den Tropfen aus dem Gefüge der Flüssigkeit herauszulösen, ist eine bestimmte kinetische Energie zum Überwinden der Oberflächenspannung notwendig. Die Gleichung zur Berechnung dieser kinetischen Energie lautet wie folgt:

$$E_{kin} = \frac{1}{2}mv^2 \quad (\text{Gl. 2.5})$$

Sie enthält die Komponenten der Masse und der Tropfengeschwindigkeit. Die Masse kann dabei über das Tropfenvolumen und die Dichte der zu dosierenden Flüssigkeit bestimmt werden. Das Volumen wird approximativ mit dem einer Kugel gleichgesetzt und durch den Durchmesser der Nozzle bestimmt.

Über die Dichte  $\rho = \frac{m}{V}$  und das Kugelvolumen  $V = \frac{1}{6}\pi d^3$  ergibt sich für die Masse die

$$\text{Gleichung: } m = \rho \frac{1}{6}\pi d^3 \quad (\text{Gl. 2.6})$$

Aus den Eigenschaften der Flüssigkeit ist ebenfalls die spezifische Oberflächenenergie  $\sigma$  bekannt. Diese lässt sich wie folgt berechnen:

$$E_{Ob} = \sigma A_{Ob} \quad (\text{Gl. 2.7})$$

Die Größe der Oberfläche  $A_{Ob}$  gleicht der kreisförmigen Nozzleöffnung, deren Durchmesser dem des Tropfens entspricht.

$$A_{Ob} = \pi d^2 \quad (\text{Gl. 2.8})$$

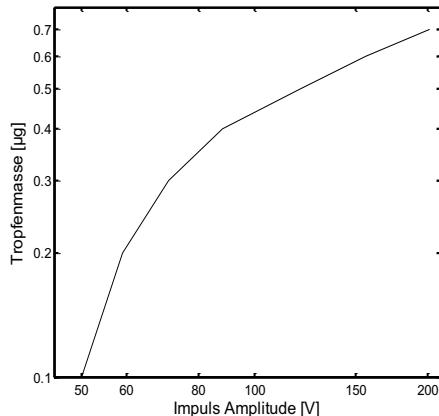
Jetzt wird nach den Energieerhaltungssatz die Kinetische- mit der Oberflächenenergie gleichgesetzt; es ergibt sich:

$$\frac{1}{2}mv^2 = \sigma\Delta A \text{ Umgestellt nach } v = \sqrt{\frac{\sigma\Delta A}{m}} \text{ (Gl. 2.9)}$$

Durch das Einsetzen der umgeformten Gleichungen der (Gl. 2.6) Masse und der Größe der Oberfläche (Gl. 2.8) lässt sich folgenden Gleichung für die notwendige Anfangsgeschwindigkeit aufstellen:

$$v_0 = \sqrt{\frac{2\sigma\pi d^2}{\rho \frac{1}{6}\pi d^3}} = \sqrt{\frac{12\sigma}{\rho d}} \text{ (Gl. 2.10)}$$

Die Auswirkung der Spannung kann tendenziell vorhergesagt werden. Die Spannung eines Impulses ist proportional zu dem Energieeintrag in das System. Somit kann durch die genannten Betrachtungen geschlussfolgert werden, dass der erhöhte Energieeintrag dem abgelösten Tropfen einen höheren Impuls verleiht. Dies kann sich durch eine Vergrößerung der Tropfmasse, in einer höheren Anfangsgeschwindigkeit oder in Beidem auswirken [66].



**Abbildung 19** – Prinzipielle Abhängigkeit zwischen Spannung und Tropfengröße / aus [20]

### 2.6.3 Impulsbreite und Resonanzeffekte

Die Variation der Impulsbreite beeinflusst neben der eigentlichen Tropfenbildung auch die Tropfengröße und die Tropfengeschwindigkeit. Durchgeführte Messungen zeigen das prinzipiell ähnliche Verhalten unterschiedlicher Flüssigkeiten. Die Impulsbreite beschreibt gleichzeitig das Zurückkehren des Piezokristalls in seine ursprüngliche Form. Um den Tropfenabriß zu bewirken, muss die Rückkehr mit dem Herausdrücken optimal abgestimmt sein. Bei einer zu kurzen Impulsdauer ist u. U. nicht ausreichend Flüssigkeit aus der Nozzle entwichen und es erfolgt kein Abriss. Im umgekehrten Fall, einer zu langen Impulsdauer, hat sich die herausgedrückte Flüssigkeit vor dem Spannungsabfall wieder zurückgezogen.

Im Zusammenspiel mit Frequenz und Geometrie der Dosierkammer ist die Impulsbreite wichtig für die Abstimmung der Superposition der induzierten Druckwellen und deren Reflektionen. Gleichzeitig wirken sich die Eigenschaften der Flüssigkeiten aus, da diese die Ausbreitungsgeschwindigkeit der mechanischen Welle sowie den Grad der Reflektion bestimmen. Die Frequenz der Anregung des Piezokristalls bei dem hier verwendeten System beträgt 500 Hz bis maximal 2000 Hz, gleichzusetzen mit Periodendauern von 2 ms bzw. 500  $\mu$ s [67].

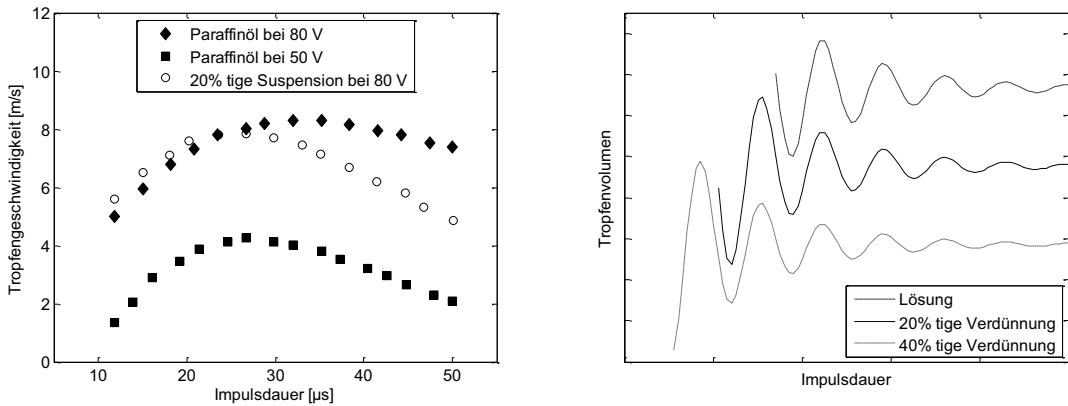


Abbildung 20 – Prinzipielle Impulsdauer und Tropfengeschwindigkeit bzw. Tropfenvolumen aus [68]

Die dargestellten Diagramme zeigen Verläufe bei konstanter Spannung und Frequenz. Würde die Spannung erhöht werden, ist die Verschiebung entlang der Ordinatenachse der Messreihen unter Beibehaltung der charakteristischen Form wahrscheinlich. Diese Variation jedoch auf einen kleinen Bereich beschränkt. Neben dem eigentlichen Tropfen kann es zur Bildung von Satellitentropfen, siehe Abschnitt 4.3.2, oder zur Anlagerung von Flüssigkeit an der Nozzle kommen. Bei Dosierern aus der Laborautomation, welche auf Glaskapillaren beruhen, ist die Geometrie aufgrund des Herstellungsverfahrens nicht genau bekannt und dadurch eine Anpassung der Impulsbreite für jede Nozzle individuell notwendig.

Im optimierten Bereich der Tintenstrahldrucker werden weitere Verfahren genutzt, um die Tropfenbildung gezielt zu manipulieren. Diese Verfahren befassen sich auch mit der Variation der Impulsbreite innerhalb des kontinuierlichen Signals. Weitere Überlegungen bestehen in der gezielten Ausnutzung von Resonanzen aufgrund der dort sehr genau bekannten Dosierkammergeometrie und der Optimierung der Ansteuersignale speziell auf die Eigenschaften der Tinte. Zum Beispiel wird vor dem eigentlichen Impuls des Tropfenabschusses ein Anregungs- bzw. danach eine Bremsimpuls gesendet. Die Form dieser Impulse ist bei den Tintenstrahldruckern nicht auf ein Rechtecksignal eingeschränkt [69;70].

#### 2.6.4 Einfluss der Flüssigkeitseigenschaften

Im Gegensatz zu den klassischen Dosiersystemen ist die Viskosität der Flüssigkeit nicht der entscheidende Faktor. Dennoch kann zunächst eine Vorselektion anhand der Viskosität vorgenommen werden. Im Allgemeinen können Flüssigkeiten in einem Bereich von 0,5 - 10 mPa s dosiert werden, siehe Abbildung 21. Durch Beheizen des Dosierkopfes kann dieser Bereich auf 10 - 10000 mPa s erweitert werden. Ein weiter Aspekt der Viskosität ist das „Newtonische Verhalten“. Newtonische Flüssigkeiten verhalten sich unter Umständen durch die sehr dynamischen Lastwechsel wie „Nicht-Newtonische Fluide“. Insbesondere bei Substanzen mit langkettigen Molekülen ist dies zu beobachten [71;72].

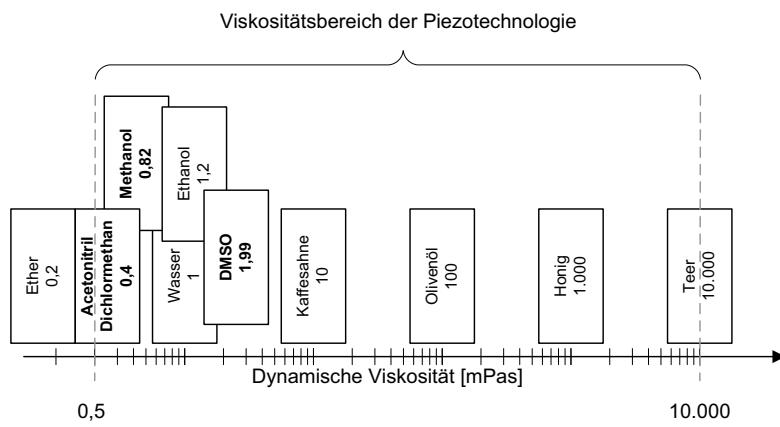


Abbildung 21 – Viskositätsbereich der Piezotechnologie mit relevanten Lösungsmitteln (fett gedruckt)

Weitere Eigenschaften, die sich auf die Dosierbarkeit auswirken sind die Kohäsionskräfte der Flüssigkeit und die Adhäsion zwischen Flüssigkeit und Material der Nozzle. Bei Dominanz der Adhäsionskräfte erfolgt eine starke Benetzung der Nozzle mit dem zu dosierenden Medium, welche den Dosievorgang behindert bzw. blockiert. Trotz bekannter Kohäsionskräfte, bzw. deren Auswirkung auf die Oberflächenspannung, kann keine Verallgemeinerung getroffen werden.

Des Weiteren verändern sich diese zwischenmolekularen Kräfte sobald die Flüssigkeit nicht mehr als reine Substanz vorliegt, sondern es sich um Stoffgemische handelt. Um die Dosierung dennoch zu ermöglichen können die Viskosität und die Oberflächenspannung gezielt durch Additive beeinflusst werden. Alternativ könnten Nozzlen mit anderen Beschichtungen zum Einsatz kommen [73].

Die Sicherheit, ob sich die gewünschte Substanz mit dem System dosieren lässt, könnte bei Kenntnis aller Details durch eine Simulation überprüft werden. In der Praxis jedoch empfehlen die Hersteller die Dosierbarkeit mit dem jeweiligen System zu testen.

## 2.7 Spezielle Systemkomponenten

Die Besonderheiten der Drop-on-Demand Technik gegenüber herkömmlichen Dosierverfahren haben zur Folge, dass zusätzliche Komponenten in das Dosiersystem integriert werden müssen, um den automatischen Ablauf gewährleisten zu können.

### 2.7.1 Kamerasysteme

Mit Hilfe dieses Systems wird die Tropfenbildung überwacht. Dabei werden die Tropfen durch ein Stroboskop sichtbar gemacht. Die Kernkomponenten dieses Systems bestehen aus einer herkömmlichen Videokamera mit vergrößernder Optik und einer Stroboskop LED. Diese ist mit der Elektronik zur Generierung des Spannungsimpulses auf das Piezoelement verbunden. Somit kann der Tropfen über das Kamerabild betrachtet werden. Eine detaillierte Beschreibung dieses Überwachungssystems befindet sich in Abschnitt 4.1.1.

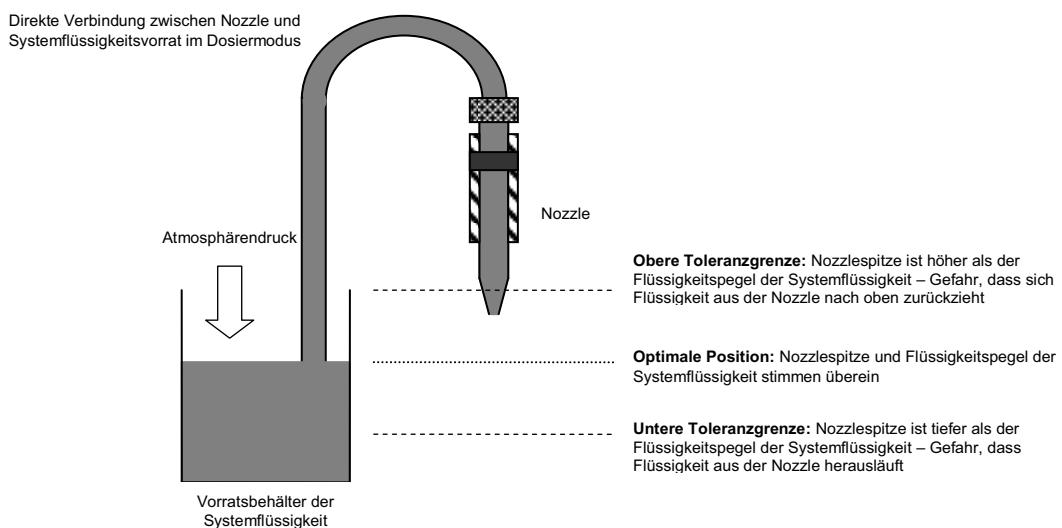
Eine weitere, auf das Dosierziel ausgerichtete, Kamera bietet zusätzliche Optionen. Die wichtigsten Verwendungen sind:

- Positionierhilfe bei speziellen Dosierzielen
- Qualitätskontrolle
- Identifikation der Dosierziele (Barcodes)

Für die Umsetzung des automatischen Ablaufs werden Bildverarbeitungsalgorithmen eingesetzt. Unterstützung bei der Positionierung ist bei speziellen Dosierzielen, wie Lab-on-a-Chip Systemen oder beschichteten Slides, erforderlich. Die auf diesen Dosierzielen anzusteuernden Punkte befinden sich aufgrund von Fertigungstoleranzen oder Besonderheiten der Zuführung in das System, nicht immer starr an der vorgesehenen Position. Die entsprechenden Positionen werden über spezielle Bildverarbeitungsalgorithmen ermittelt und die Verfahrwege errechnet. Ein anderer wichtiger Aspekt ist die Kontrolle der Dosierziele. Es wird geprüft, ob bei dem Dosievorgang Flüssigkeitsabgabe erfolgte. Es ist möglich zu detektieren, ob auf die jeweilige Position Flüssigkeit gegeben wurde oder nicht. Das Spektrum reicht dabei von der manuellen bis hin zur vollautomatisierten Nachkontrolle. Weiterhin können auch Barcode-Lese-Algorithmen oder ähnliches zur Identifikation der Dosierziele implementiert sein.

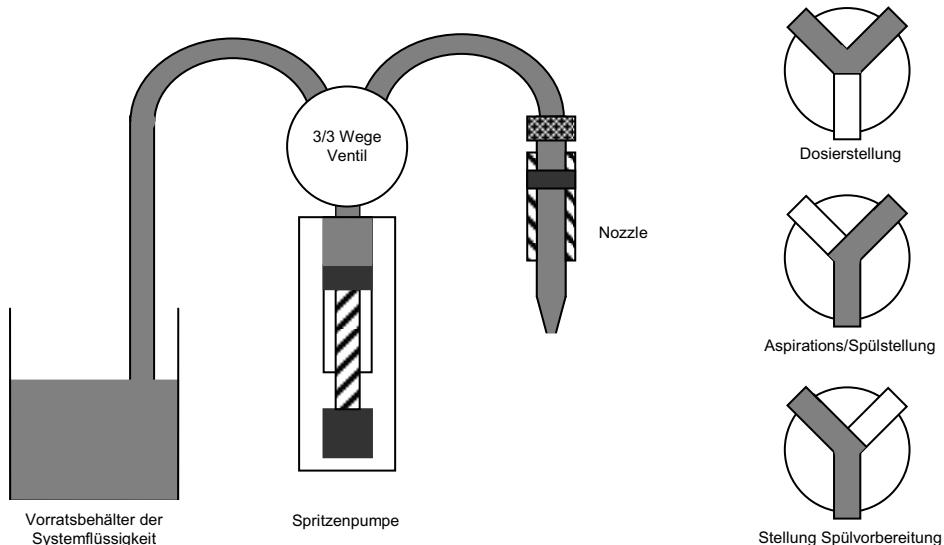
### 2.7.2 Kapillarsystem und Systemflüssigkeit

Um die Funktion des Systems zu gewährleisten, wird eine so genannte Systemflüssigkeit benötigt. Diese sorgt für den Kraftschluss im Kapillarsystem. Bei der Anwendung der Piezo-Technologie liefert sie zusätzlich die erforderliche Trägheit, um zu gewährleisten, dass der Tropfenabschuss aus der Düse besser erfolgen kann. Bei der Anordnung in Abbildung 23 ist das mit Systemflüssigkeit gefüllte Kapillarsystem dargestellt. Der Vorratsbehälter ist ein offenes Gefäß, in dem Atmosphärendruck herrscht. Die Systemflüssigkeit verhindert somit das Herauslaufen der Flüssigkeit aus der Nozzle und liefert durch die eigene Trägheit einen Widerstand gegenüber dem Druckimpuls, sodass der Tropfenabschuss begünstigt wird.



**Abbildung 22 – Schema des Kapillarsystems im Dosiermodus**

In den meisten Fällen wird hochreines und entgastes Wasser verwendet. Diese Eigenschaften sind wichtig, damit sich keine Gasblasen bilden, die den Kraftschluss unterbrechen. Ebenfalls kann die zu dosierende Substanz als Systemflüssigkeit Anwendung finden. Diese Vorgehensweise kommt vor allem bei den Anwendungen zum Einsatz, bei denen wenige Flüssigkeiten in größeren Mengen benötigt werden.



**Abbildung 23** – Schema des Ventilsystems und der Ventilstellungen

Um über die Nozzlen Flüssigkeit aufnehmen und Spülprozesse durchführen zu können, sind eine Pumpe und ein 3/3-Wegeventil notwendig. Die möglichen Schaltstellungen und deren Bedeutung sind in Abbildung 23 und Tabelle 2 dargestellt.

Schaltstellung/Hauptfunktionen	Beschreibung
a) Dosiermodus	In dieser Schaltstellung sind der Vorratsbehälter der Systemflüssigkeit und die Nozzle direkt verbunden. Während des Dosierens kann permanent Flüssigkeit nachließen.
b) Aspirieren & Spülen	Es besteht eine direkte Verbindung zwischen Pumpe und Nozzle. In Abhängigkeit der Pumprichtung wird aspiriert oder Flüssigkeit aus der Nozzle herausgedrückt.
c) Vorbereitung	Für den Fall, dass der Pumpzylinder der Spritzenpumpe sich an einer ungünstigen Position befindet oder Mengen über dessen Volumen hinaus gefördert werden sollen, ist eine Umschaltung erforderlich die es ermöglicht den Zylinder zu heben und zu senken ohne das andere Kapillarsegment zu beeinflussen

**Tabelle 2** – Beschreibung der Ventilstellungen

#### Anmerkungen zur Systemflüssigkeit

Ein anderes mögliches Problem, welches durch die Verwendung von Systemflüssigkeit auftreten kann, ist die Vermischung zwischen dieser und dem aspirierten Medium. Die Verdünnung kommt zum einen durch die Vermischung bei der Aspiration und zum anderen

durch Diffusion an der Grenzfläche zu Stande. Mögliche Folgen sind Kontamination der Proben (durch Systemflüssigkeit), unerwünschte chemische Reaktionen bzw. ungewünschte Verdünnung. Jedoch kann diesem Phänomen durch die Aspiration einer definierten Mindestmenge entgegengewirkt werden. Alternativ besteht die Möglichkeit, eine Pufferlösung zwischen Dispensierflüssigkeit und Systemflüssigkeit zu platzieren. Diese Maßnahmen bedeuten jedoch einen aufwändigeren Aspirationsvorgang. Des Weiteren ist es von Bedeutung, dass möglichst kein Gas in der Systemflüssigkeit gelöst ist. Dieses gelöste Gas könnte ansonsten zu der Bildung von Gasblasen im Kapillarsystem beitragen und den Dosievorgang behindern.

### 2.7.3 Mechanismus zur Aspiration

Um das System flexibel und für den Umgang mit verschiedenen Flüssigkeiten auszulegen, ist die Fähigkeit zur Aspiration erforderlich. Die Anforderungen an die Genauigkeit beim Aspirieren spielen im Vergleich zu denen des Dosierens eine eher untergeordnete Rolle. Für die technische Umsetzung sind ggf. zusätzliche Ventile oder Pumpen sowie deren Ansteuerung erforderlich. Der Aspirationsvorgang wird technisch im Allgemeinen durch das direkte Ansaugen von Flüssigkeit in die Dosierköpfe realisiert. Daraus resultieren jedoch die folgenden Probleme:

- Luftblasen im System
- Vermischung
- Verunreinigung durch Partikel

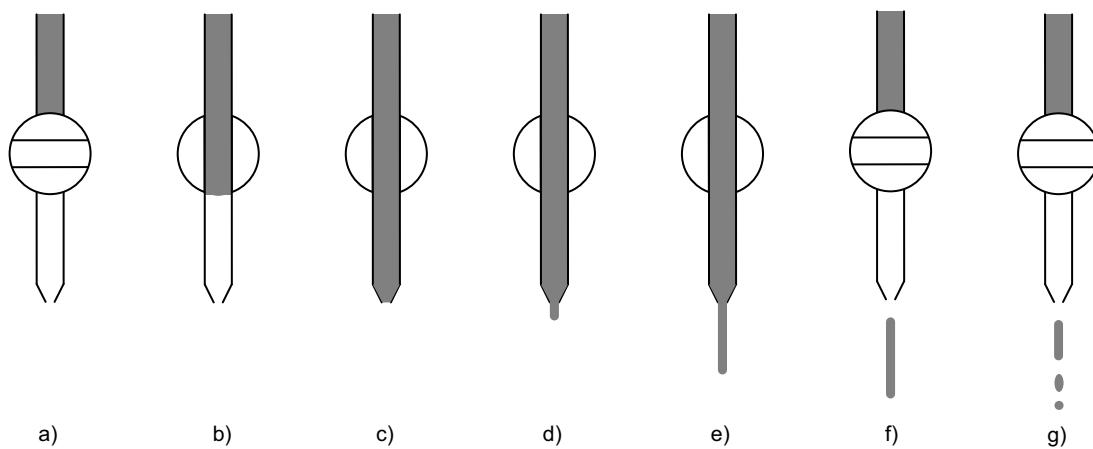
Bei Systemen, die nach dem Prinzip von Druckerpatronen arbeiten, ist die Fähigkeit zur Aspiration und der damit verbundene zusätzliche Aufwand nicht erforderlich. Für die Anwendung dieser Systeme in Prozessen bei denen die Flexibilität im Umgang mit wechselnden Flüssigkeiten nicht erforderlich ist, besteht darin eine Alternative. Beispiele für diese Anwendungen sind die Verwendung der Dosierköpfe in starren Produktionsabläufen wie dem Ölen von Mikrolagern, der Applikation von Klebstoff, der Drucktechnik oder der Präparation von Biosensoren im größeren Maßstab. Dabei ist die zu dosierende Substanz gleichzeitig die Systemflüssigkeit. Verbunden ist damit auch eine Zeitersparnis gegenüber dem anderenfalls häufigerem Aspirieren und Waschen. Diesem Vorteil steht jedoch der Verlust an Flexibilität gegenüber [74].

## 2.8 Kontinuierliche Tropfenerzeugung - Ventil Technologie

Das zweite gängige Verfahren zur Dosierung von Flüssigkeiten basiert auf dem Prinzip der kontinuierlichen Tropfenerzeugung der Drucktechnik. Bei der Adaption dieses Verfahrens in der Dosiertechnik sind Modifikationen hinsichtlich der technischen Umsetzung entstanden. Bei diesen werden, je nach Hersteller, zusätzliche Sensoren und Aktoren in das Dosierverfahren eingebunden. Diese Ergänzungen optimieren das Verfahren hinsichtlich unterschiedlicher Anforderungen.

### 2.8.1 Funktionsprinzip

Die zu dosierende Flüssigkeit befindet sich in einem Reservoir welches über eine Kapillare mit der Austrittsdüse verbunden ist. Unmittelbar vor diese Düse befindet sich ein Ventil. Im gesamten System Kapillarsystem kann Überdruck aufgebaut werden. Die Erzeugung des Überdrucks wird mit der Hilfe von Spritzenpumpen oder durch das Einspeisen eines Gases in das Kapillarsystem vorgenommen.



**Abbildung 24 – Prinzip der Flüssigkeitsabgabe bei der Ventiltechnologie / aus [75]**

Während des Dosierbetriebes steht das Kapillarsystem permanent unter Druck. Zum Dosieren wird das Ventil eine bestimmte Zeit geöffnet. Nach dem Öffnen des Ventils verlässt ein Flüssigkeitsstrahl die Düse. Dieser zerfällt aufgrund der in Abschnitt 2.2.2 beschriebenen Instabilitäten in einen Strahl aus einzelnen Tröpfchen. Die Dosiermenge wird vorrangig durch die Öffnungszeit des Ventils und den Druck auf dem Kapillarsystem bestimmt. Die Koordination des Zusammenspiels von Druckbeaufschlagung und der Ventilöffnungszeit übernimmt ein Mikrocontroller [76].

### 2.8.2 Kommerziell erhältliche Systeme

Die folgende Übersicht zeigt derzeit auf dem Markt erhältlichen der Dosierroboter der Ventiltechnologie. Die Basisdaten sind durch Angaben zur Genauigkeit bei unterschiedlichen Volumenbereichen ergänzt.

Hersteller	Technische Daten	Genauigkeiten
Microdrop  microdrop Technologies GmbH Muehlenweg 143 D-22844 Norderstedt Germany <a href="http://www.microdrop.de">http://www.microdrop.de</a>	<b>MJ – NJ Series</b>  Anzahl Dosierköpfe: 1 - 8 Prinzip der Druckerzeugung: Gas Volumenbereich: Piezo: > 50 nl o. > 300 nl Dosierziele: Anwendungsspezifisch Anwendungsbereich: Mikrotechnologie	Piezovalve: CV ≤ 1% Selenoid: CV ≤ 3%
CyBio  CyBio AG Göschwitzer Straße 40 07745 Jena Deutschland <a href="http://www.cybio-ag.com">http://www.cybio-ag.com</a>	<b>NanoJet</b>  Anzahl Dosierköpfe: 16 Prinzip der Druckerzeugung: Gas Volumenbereich: 50 nl – 20 µl Dosierziele: MTP 96, 384, 1536 Anwendungsbereich: Verdünnungsreihen	< 500 nL CV ≤ 5% > 500 nL CV ≤ 4%  Kalibrierung über Prozedur zur Fluoreszenzmessung
Biodot  BioDot, Ltd The Kingley Centre Downs Road West Sussex PO18 9HJ United Kingdom <a href="http://www.biodot.com">http://www.biodot.com</a>	<b>Biojet Series</b>  Anzahl Dosierköpfe: 4 Prinzip der Druckerzeugung: Spritzenpumpe Volumenbereich: 20 nl – 4 µl Dosierziele: MTP 96, 384, 1536 Slides Anwendungsbereich: Microarrays, Verdünnungsreihen	> 100 nL CV ≤ 2.3% > 50 nL CV ≤ 3.6% > 40 nL CV ≤ 4.4% > 30 nL CV ≤ 4.7%
Perkin Elmer  PerkinElmer LAS GmbH Ferdinand Porsche Ring 17 63110 Rodgau - Jügesheim, Germany <a href="http://www.perkinelmer.com">http://www.perkinelmer.com</a>	<b>Flexdrop Series</b>  Anzahl Dosierköpfe: 32 Prinzip der Druckerzeugung: Gas Volumenbereich: 200 nl – 2 ml Dosierziele: MTP 96, 384, 1536 Anwendungsbereich: Verdünnungsreihen	>500 nl CV ≤ 5%
Innovadyne  Innovadyne Technologies, Inc., Europe P.O. Box 360 Chorley, PR6 7WW, UK <a href="http://www.innovadyne.com">http://www.innovadyne.com</a>	<b>Nanodrop Series</b>  Anzahl Dosierköpfe: 8 – 16 (104) Prinzip der Druckerzeugung: Gas Volumenbereich: 100 nl – 40 µl Dosierziele: MTP 96, 384, 1536 Anwendungsbereich: Verdünnungsreihen	> 100 nL CV ≤ 10% > 200 nL CV ≤ 7% > 1 µL CV ≤ 5%
Gilson  World Headquarters Gilson, Inc. 3000 Parmenter Street P.O. Box 620027 Middleton, WI 53562-0027 <a href="http://www.gilson.com">http://www.gilson.com</a>	<b>Constellation 1200</b>  Anzahl Dosierköpfe: 32 Prinzip der Druckerzeugung: Spritzenpumpe Volumenbereich: 100 nl – 40 µl Dosierziele: MTP 96, 384, 1536, 3456, Slides Anwendungsbereich: Verdünnungsreihen, Microarrays	k. A.

**Tabelle 3** – Übersicht aktueller Dosiersysteme der Ventiltechnologie (Herstellerangaben)

### 2.8.3 Modifikation: Durchflusssensor

Auf der Dosierplattform „Star“ von Hamilton befinden sich neben den herkömmlichen Dosierköpfen auch Dosierköpfe, die auf dem Prinzip der Ventiltechnologie basieren. Die Druckerzeugung im Reservoir wird hierbei über einströmendes Gas realisiert und das Dosierprinzip beruht auf der Ventiltechnologie in Kombination mit einem Durchflusssensor. Das Schema des Sensorsaufbaus ist in Abbildung 25 dargestellt.

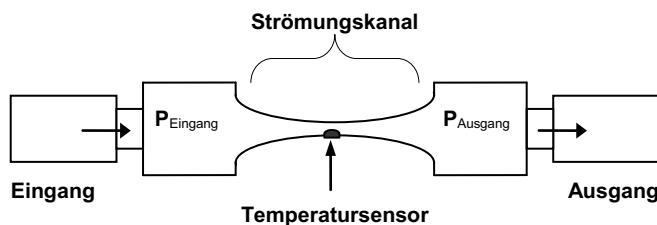


Abbildung 25 – Schema des Durchflusssensors aus Basis der Differenzdruckmessung / aus [77]

Das Funktionsprinzip basiert auf der Messung des Differenzdrucks nachdem die Flüssigkeit durch eine Kapillare mit bekannten Dimensionen geströmt ist. Mit den zusätzlichen Kenntnissen von der Temperatur und der Viskosität kann über die Hagen-Poiseulle'sche Gleichung die Strömungsgeschwindigkeit und folglich der Durchfluss berechnet werden. Das durch Mikrocontroller gesteuerte Zusammenspiel von Durchflussmessung und dem sehr schnellen Öffnen und Schließen des Ventils ermöglicht eine sehr genaue Dosierung. Weiterhin werden durch diese Echtzeitkontrolle Schwankungen in der Viskosität erkannt. Die Detektion von Schaum und Verklumpungen ist somit möglich [78;79].

### 2.8.4 Modifikation: Kombination mit Positionierung

Die patentierte SynQUAD Technologie kombiniert die Steuerung des Dosievorganges mit der Bewegung des Dosierziels. Der Controller zur Koordination von Spritzenpumpe und Ventil stimmt zusätzlich Position und Bewegung des Dosierziels ab. Dadurch ist es möglich während der kontinuierlichen Bewegung des Dosierkopfes Flüssigkeit abzugeben. Somit ist das Anhalten bei der Dosierung nicht mehr notwendig und die Zeiten für den gesamten Vorgang verkürzen sich. Nach Angaben des Herstellers werden für eine 1536er Mikrotiterplatte (4 µl pro Well) weniger als 60 Sekunden benötigt [80;81].

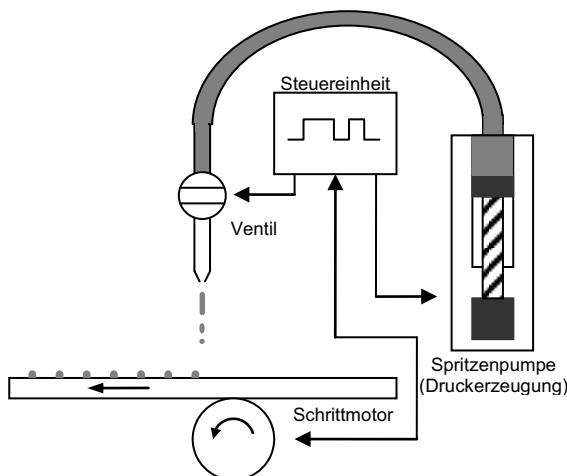


Abbildung 26 – Funktionsprinzip der SynQUAD Technologie / aus [82]

### 2.8.5 Modifikation: Spot On Technologie

Dieses Verfahren lässt sich prinzipiell in die Kategorie der Ventiltechnologie einordnen. Der größte Unterschied ist, dass die Verwendung von Systemflüssigkeit nicht erforderlich ist. Die Hauptkomponente dieser Technologie, dargestellt in Abbildung 27, ist ein Mechanismus auf Basis des Tauchspulenprinzips. Das Öffnen und Schließen des Weges zur Ausgangskapillare wird durch den magnetischen Kolben realisiert. Die Richtung des Flusses wird durch die Erzeugung von Über- oder Unterdruck, in dem hinter dem Kolben liegenden Gasreservoir, bestimmt. Das Heben und Senken des Magneten wird durch einen Mikrokontroller gesteuert. Sensoren, gepaart mit der Auswertung über den Mikrokontroller in Echtzeit, ermöglichen es die Viskosität und den Fluss zu ermitteln. Mit Hilfe dieser Daten, wird ebenfalls in Echtzeit, die Bewegung des Kolbens geregelt und eine präzise Dosierung möglich gemacht [83;84].

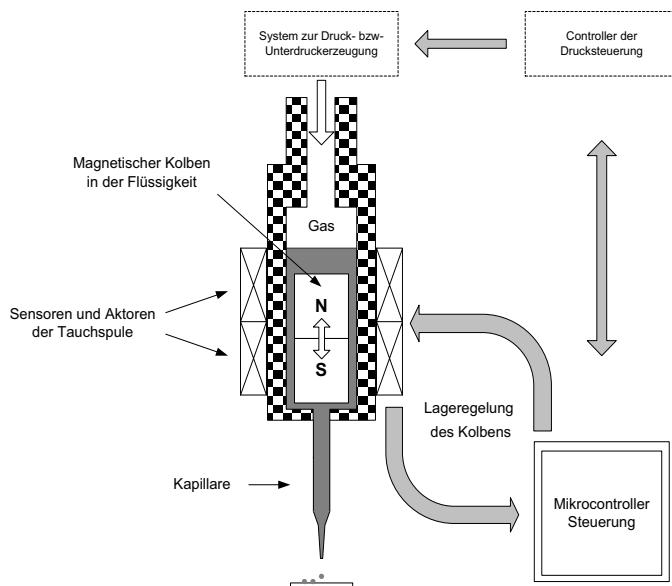


Abbildung 27 – Funktionsprinzip der Spot-On Technologie / aus [85]

### 2.8.6 Modifikation: Gezielte Anregung des Strahlzerfalls

Eine weitere Möglichkeit Tropfen einer bestimmten Größe zu erzeugen besteht in der gezielten Beeinflussung des Rayleigh-Zerfalls. Die Anregung erfolgt dabei über ein Piezoelement. Die durch Anregung erzeugten periodischen Kontraktionen führen jedoch nicht zu einem Tropfenabschuss, sondern bewirken periodische Schwankungen im Strahldurchmesser. Diese Schwankungen bewirken nach dem Verlassen der Düse, dass genau an den dünnen Stellen der Flüssigkeitsstrahl reißt und sich Tröpfchen bilden. Über den Durchfluss und die Frequenz der Anregung wird somit im Wesentlichen das Tropfenvolumen bestimmt. Die kleinstmöglichen Tropfen besitzen ca. die Hälfte der Größe des Düsendurchmessers und sind bestimmt durch die kleinstmögliche Wellenlänge des Anregungssignals. Die Erzeugung größerer Tropfen ist jedoch durch die Instabilitäten die bereits ohne künstliche Anregung vorhanden sind limitiert [86].

## 2.9 Vergleich: Piezo- und Ventiltechnologie

Diese Verfahren haben sich in der Dosiertechnik etabliert. Aufgrund der Unterschiedlichen Funktionsprinzipien ergeben sich unterschiedliche Charakteristika, welche eigene Vor- und Nachteile besitzen. Die wesentlichen Merkmale beider Dosiertechniken sind dargestellt in Tabelle 4.

	Piezotechnologie	Ventiltechnologie
Volumenbereich	30-500 pl (pro Tropfen)	100 nl - ∞
Genauigkeit	1%	5%
Viskositätsbereich	0,5 – 10 mPas (unbeheizt) 10 – 10000 mPas (beheizt)	0 – 50 mPas
Zeitkonstanten:	2000 Tropfen/s (designabhängig)	Taktzeitventil min. 3 ms
Max. Durchsatz	ca. 1 µl/s	2 ml/s

**Tabelle 4** – Übersicht Piezo- und Ventiltechnologie [87]

Die Vorteile der Piezotechnologie liegen in der kleineren Quantisierung und der hohen Genauigkeit. Der Nachteil ist jedoch, dass nicht alle Flüssigkeiten dosiert werden können, siehe Abschnitt 2.6.4. Die Tropfenbildung ist unter gleichen Bedingungen zwar sehr reproduzierbar, erfordert jedoch eine Kalibrierung. Bei der Verwendung in der Laborautomatisierung unter ständig wechselnden und mitunter unbekannten Flüssigkeiten resultieren daraus Probleme. Auf technischer Ebene ist die zeitnahe Messung des Tropfenvolumens eine Herausforderung. Im Allgemeinen ist der technische Aufwand und die Forderung nach zusätzlichen Komponenten hoch.

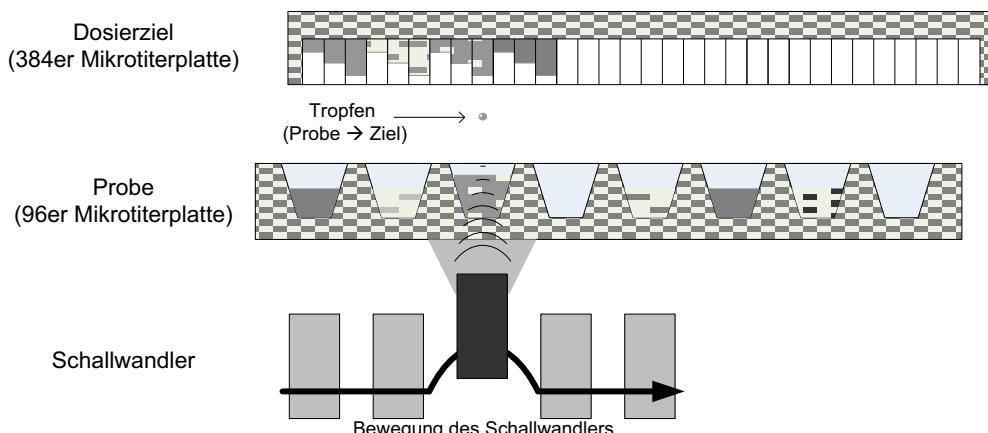
Bei der Dosierung mithilfe der Ventiltechnologie handelt es sich hingegen um einen recht robusten Vorgang. Die geringeren Genauigkeiten stehen jedoch einem nicht so aufwändigen Kalibriervorgang gegenüber. Bei der technischen Realisierung ist geringerer zusätzlicher Aufwand als bei der Piezotechnologie erforderlich. Die existierenden und vorgestellten Modifikationen dieses Verfahrens bedeuten einen höheren technischen Aufwand, bewirken jedoch gleichzeitig eine Erhöhung der Genauigkeit.

## 2.10 Weitere Dosierverfahren im Submikroliterbereich

An dieser Stelle werden zwei weitere wichtige Verfahren in diesem Volumenbereich erläutert. Diese finden ebenfalls Anwendung, basieren jedoch auf anderen Funktionsprinzipien.

### 2.10.1 Akustische Tropfenlevitation

Dieses weitere kontaktlose Verfahren löst Tropfen aus einem Flüssigkeitsreservoir mittels Schallwellen heraus. Ein fokussierter Schallstrahl hebt dabei den Tropfen vertikal von unten nach oben. Die emporgehobene Flüssigkeitsmenge besteht ebenfalls aus einzelnen Tropfen. Das Tropfenvolumen liegt im Bereich von hunderten Femtolitern bis zu einigen Pikolitern. Der obere Bereich des Transfervolumens wird mit einem Mikroliter angegeben. Das Transferprinzip der Flüssigkeiten zeigt Abbildung 28.



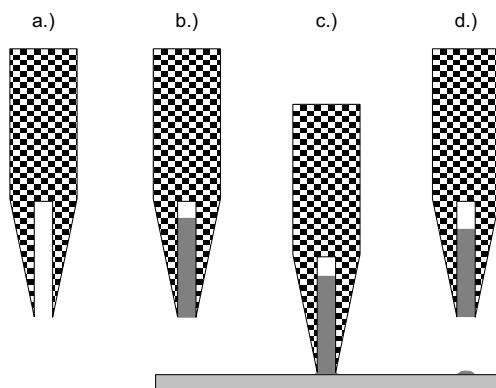
**Abbildung 28** – Prinzip der Tropfenlevitation durch einen fokussierten Schallstrahl / aus [88]

Aufgrund der Oberflächenspannung bleibt die Flüssigkeit in der über Kopf stehenden Mikrotiterplatte haften. Die Kopplung zur Impedanzanpassung zwischen Schallwandler erfolgt über das stetige Umspülen mit Wasser. Über die Messung der Reflexionen vom Boden der Mikrotiterplatte, des Wells und der Flüssigkeitsoberfläche wird der Füllstand bestimmt.

Die Vorteile dieses Verfahrens liegen unter anderem darin, dass überhaupt keine Waschvorgänge anfallen. Das System benötigt jedoch spezielle Mikrotiterplatten, welche den Schallstrahl nicht negativ beeinflussen. Die Genauigkeit dieser Systeme liegt bei ca. 5%. Die Dosiergeschwindigkeit ist mit herkömmlichen Systemen vergleichbar. Ein kommerziell erhältliches System auf dieser Basis sind die Echo 550 und Echo 555 Geräte der Firma Labcyte. [89;90]

### 2.10.2 Kontaktverfahren

Für die Präparation von Arrays bzw. dem erstmaligen Auftragen bieten sich auch Kontaktverfahren an. Diese Verfahren sind bei bereits auf dem Träger aufgebrachten Substanzen aufgrund der Gefahr von Verschleppungen nicht anwendbar. Bei den auch Pin Tool genannten Verfahren wird mithilfe von kleinen Metallstiften, den Pins, Flüssigkeit auf das Dosierziel aufgebracht. Die Pins werden vor dem Dosiervorgang in die Flüssigkeiten getaucht. Die Übertragung der Flüssigkeit erfolgt über die Adhäsionskraft zwischen Pin und Medium bzw. zwischen Medium und Objektträger. In den Pins befinden sich Kerben, in denen sich das zu dosierende Medium sammeln kann. Beim Auftreffen auf eine Glasoberfläche als Target bleibt aufgrund von Adhäsionkräften Flüssigkeit zurück. Je nach Bauart kann der Pin einmalig oder mehrere Male auf das Dosierziel abgesetzt werden. Die Übertragung der Flüssigkeit wird durch direkte Berührung vollzogen. In Abbildung 29 ist das Dosierprinzip dargestellt. [91]



**Abbildung 29** – Schema der Tropfenabgabe beim Pin Tool Verfahren / aus [92]

Nachteilig bei diesem Verfahren ist die geringe Flexibilität. Die Mengen sind durch die Bauweise der Pins vorgegeben. Zur Vermeidung von Querkontamination sind Waschvorgänge der Pins erforderlich. Durch die Notwendigkeit des Aufsetzens ist dieses Verfahren gegenüber den vorgestellten Technologien vergleichsweise langsam. Ebenfalls ungeklärt ist der Einfluss der Metalloberflächen der Pins auf die zu dosierenden Stoffe, insbesondere der Proteine. [93;94]

Die technische Ausführung der Dosierroboter auf Basis der Pin-Tool Technologie sind ebenfalls spezialisierte Systeme. Es existieren jedoch Aufsätze mit Pins, die anstelle von Pipettenspitzen, an die Dosierköpfe von Dosierplattformen diverser Hersteller montiert werden können. Die zweite Variante ermöglicht eine kostengünstige Umrüstung von bestehenden Pipettiersystemen. Hummingbird [95]; Adapter Bsp. [96]

### 3 Analyse des Optimierungspotentials und neue Konzepte

In den nachfolgenden Abschnitten erfolgt die detaillierte Untersuchung einzelner Aspekte von Dosierrobotern, welche auf dem Prinzip der Piezotechnologie basieren. Das Ziel ist unter praktischen Gesichtspunkten Lösungen zu entwickeln, welche verfahrensbedingte Defizite reduzieren. Des Weiteren sollen im Hinblick auf eine Vollautomatisierung die Abläufen autonomer gestaltet werden.

Wie bereits Eingangs in Abschnitt 1.5.1 erwähnt, sind die wesentlichen Punkte ein vollautomatisches Echtzeitverfahren zur Volumenmessung und die Umsetzung einer automatischen Kalibrierung. Die Komplexität der Dosierroboter mit den zugehörigen Sensoren, Aktoren und Steuerungseinrichtungen ist auf einem hohen Niveau. Um die Notwendigkeit der Optimierungsvorschläge darzustellen erfolgt jeweils eine ausführliche Beschreibung der bisherigen Verfahrensweise und den internen Zusammenhängen.

#### 3.1 Volumenbestimmung

Die Dosierer auf Basis der Piezotechnologie können derzeit<sup>1</sup> die kleinsten Volumina abgeben. Die Quantelung der abzugebenen Menge erfolgt in der gezielten Erzeugung einzelner Tropfen mit nahezu identischen Eigenschaften. Diese hohe Reproduzierbarkeit ist jedoch nur unter konstanten Bedingungen gegeben. Das Tropfenvolumen hängt von den Dosierparametern, der Flüssigkeit und der verwendeten Nozzle ab. Daher ist für jede neue Konfiguration die Größe der erzeugten Tropfen unbekannt. Die Dosierung von größeren Volumen beruht jedoch auf der Abgabe einer definierten Anzahl von Tropfen mit bekanntem Volumen. Somit setzt sich die Dosiermenge aus dem Produkt von Tropfenvolumen und Tropfenanzahl zusammen. Selbst bei größeren Tropfenzahlen ist die Messung des Volumens aufgrund der geringen Mengen, im Nano- und Mikroliterbereich, eine technische Herausforderung. Des Weiteren ist die Charakteristik des Tropfenfluges ebenso wichtig für die Qualität der Endprodukte und hängt ebenfalls von den Dosierparametern ab.

##### 3.1.1 Messverfahren aus der Analytik

Die im Folgenden aufgeführten Methoden zur Volumenmessung sind nicht im gleichen Maße zeitnahe. Bei diesen Analysen erfolgt die Dosierung einer definierten Anzahl von Tropfen im Voraus. Rückschlüsse auf das Volumen des Einzeltropfens erfolgen über die Kenntnis der

---

<sup>1</sup> Ausnahme ist die Technologie der akustischen Levitation von Labcyte (Abschnitt 2.10.1)

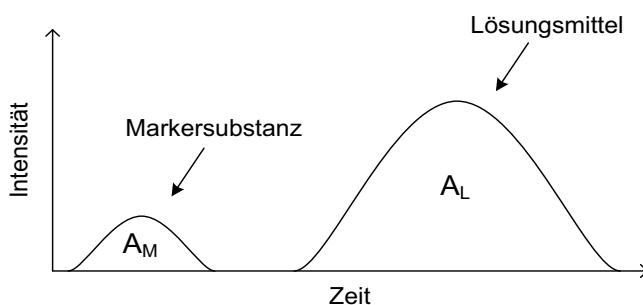
Tropfenanzahl, einer je nach Verfahren speziellen Zusatzinformation und der ebenfalls verfahrensspezifischen gemessenen physikalischen Eigenschaft. Des Weiteren ist die Gewinnung von Informationen über die anderen Aspekte des Dosiervorgangs, wie die Flugphase, Satellitentropfen etc. ausgeschlossen.

### Gravimetrisch

Das Verfahren mit dem geringsten Aufwand ist die Bestimmung des Volumens über die Masse. Mithilfe der Dichte, als hier benötigte Zusatzinformation, erfolgt die Berechnung des Volumens. In den hier durchgeführten Experimenten wurde die Masse von 10.000 Tropfen mit einer Feinstwaage bestimmt. Nachteilig bei dieser Methode ist neben den genannten Einschränkungen, dass die Dichte des Stoffes bekannt sein muss und das Risiko der Verdunstung besteht. Im Hinblick auf die Erhöhung des Automatisierungsgrades, ist die technische Realisierung im Bereich des Möglichen. Sie stellt aber aufgrund der Einschränkungen keine wirkliche Alternative dar. Anwendung findet es jedoch als Referenzverfahren zu den in Abschnitt 3.1.2 vorgestellten optischen Verfahren [97].

### Konzentrationsmessung via Gas- oder Flüssigchromatographen

Bei diesem Verfahren wird eine Substanz mit einem festgelegten Volumen als Referenz vorgegeben zu der dann eine definierte Anzahl an Tropfen hinzugegeben wird. Die Analyse dieses Stoffgemisches erfolgt mithilfe von Flüssig- oder Gaschromatographen. Ein Resultat der Messung ist das Verhältnis der beiden Volumina – die Konzentration.



**Abbildung 30** – Schema eines Chromatogramms

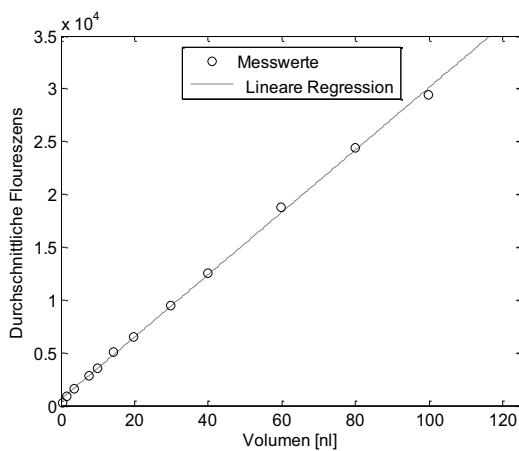
In den in Abbildung 31 dargestellten Chromatogramm, wird die Konzentration durch die Flächen unterhalb der Peaks repräsentiert. Die Berechnung des Volumens erfolgt über die gemessene Konzentration und die bekannte Menge der vorgelegten Referenzsubstanz. Zur Verminderung des Messfehlers durch Verdunstung wird eine weitere flüchtige Substanz appliziert, welche selbst verdunstet, aber die Verflüchtigung der entscheidenden Substanzen unterbindet. Nachteilig ist bei dieser Methode, zusätzlich zu den erwähnten Aspekten, dass

die Referenzsubstanz ebenfalls mit einer hohen Genauigkeit dosiert werden muss. Weiterhin basiert die Analyse auf sehr aufwändiger Messtechnik. Technisch ließe sich das Prozedere automatisieren, ist jedoch aufgrund des hohen Aufwandes aus praktischen Gesichtspunkten nicht sinnvoll. Diese Methode wird daher nicht angewendet [98;99].

### Fluoreszenzmessung

Diese Methode basiert ebenfalls auf einer Konzentrationsmessung. Eine Substanz mit bekannten Fluoreszenzeigenschaften wird bei einer Messreihe, mit steigender Tropfenzahl in die Wells einer Mikrotiterplatte gegeben. Die Auswertung erfolgt mithilfe eines speziell dafür vorgesehenen Gerätes – einem Reader. Dieses Gerät regt mit einer definierten Energie die Substanz an und misst die daraufhin emittierte Strahlung. In den vorgenommenen Messungen aus [100] erfolgt die Dosierung einer speziell vorbereiteten Fluoreszinlösung in eine Natriumboratlösung. Die Auswertung wird mit einem optischen Reader von Tecan vorgenommen. Das Resultat der Messung ist in Abbildung 31 dargestellt.

Die Bestimmung des Volumens erfolgt aus dem bekannten Verhältnis von gemessener Strahlung der jeweiligen fluoreszierenden Substanz. Neben den erwähnten Einschränkungen ist auch hier aufwendige Messtechnik erforderlich [101].



**Abbildung 31** – Zusammenhang zwischen Volumen und Fluoreszenz [100]

### 3.1.2 Echtzeit Messverfahren aus der Partikelmesstechnik

Im Bereich der Partikelmesstechnik existieren bereits Verfahren, die auf Basis optischer Instrumente die erzeugten Tropfen hochgenau vermessen können. Die Messtechnik ermöglicht eine Erfassung in Echtzeit beruht jedoch auf sehr aufwendiger Hardware.

#### Ortsfiltertechnik

Diese, in der Partikel- und Strömungsmesstechnik etablierte, Methode beruht auf der Verwendung von Kameras mit CMOS-Sensoren, welche im Gegensatz zu CCD Sensoren die Möglichkeit bieten einzelne Bereiche, Zeilen oder sogar einzelne Pixel auszulesen.

Die technische Anwendung dieser Systeme erfolgt in der sogenannten Ortsfiltertechnik. Das zugrunde liegende Funktionsprinzip ist die Beugung am Gitter. Das Gitter wird durch eine Zeilen- oder Matrixkamera ersetzt. Die Gitterkonstante ergibt sich dann aus der Größe und dem Abstand der einzelnen Pixel. Bewegt sich ein Objekt entlang einer Zeile, wie in Abbildung 32 dargestellt, ergibt sich aufgrund der abwechselnden Wichtung (positiv, negativ) des Einzelsignals der Pixel nach der Summierung ein charakteristisches Signal. Die Signalauswertung beruht unter anderem auf einer Frequenzanalyse. In Kombination mit der Kenntnis der Eigenschaften des optischen Systems, der Pixel, der Auslesecharakteristik und der Auswerteelektronik erfolgt die Berechnung der Geschwindigkeit des Partikels [102].

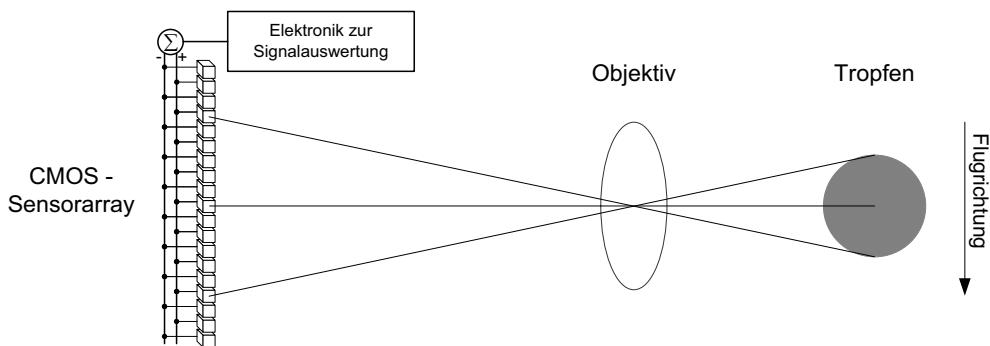
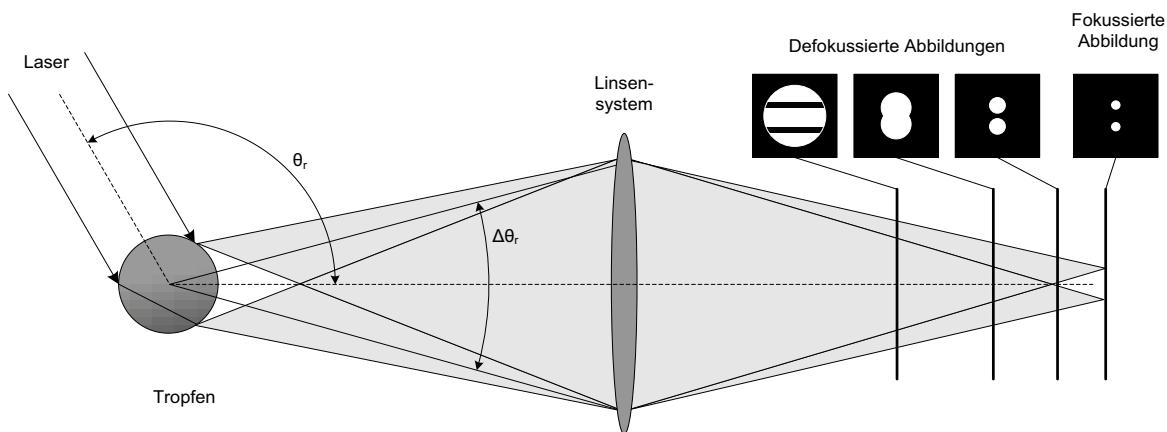


Abbildung 32 – Prinzipieller Aufbau eines Ortsfiltermesssystems

Bei bekannter Geschwindigkeit ist es möglich die Teilchengröße zu bestimmen. Lösungen in der Praxis enthalten daher zwei Zeilen, bei denen eine der Geschwindigkeits- und die andere der Größenmessung dient. Weiterhin stehen Matrixsensoren zur Verfügung, bei denen auf Basis des gleichen Prinzips die Erfassung in zwei Dimensionen möglich ist. Die Bedingung, dass der Ausleseyklus wesentlich schneller sein muss als die Bewegung des Messobjekts, erfordert Abtastraten im MHz Bereich. Diese können mit CMOS-Sensoren und DSP's zur Signalverarbeitung erreicht werden [103;104].

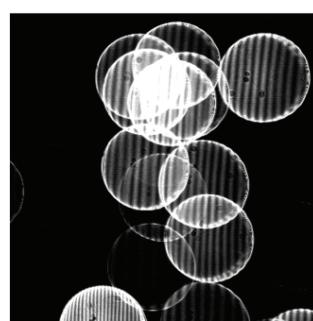
### Lasermesstechnik - ILIDS

Dieses hochauflösende Verfahren aus der Partikelmesstechnik basiert auf der Beleuchtung des Tropfens mit einem Laser. Beim Durchdringen der Flüssigkeit erfolgt die Brechung gemäß den Eigenschaften der Flüssigkeit. Der gebrochene Strahl wird mit einer Kamera aufgenommen. Im fokussierten Bild sind kleine Lichtpunkte zu erkennen. Die Benutzung einer defokussierenden Optik bewirkt eine Überlagerung dieser Lichtbündel. Die Charakteristik der Überlagerung der beiden Punkte resultiert aus dem Brechungsindex der Flüssigkeit. Die Zählung der Streifen in der defokussierten Abbildung ist eine Möglichkeit den Durchmesser des Tropfens zu bestimmen.



**Abbildung 33** – Schema des ILIDS – Verfahren zur Bestimmung des Tropfenvolumens / aus [105]

Die Genauigkeit bei der Bestimmung des Tropfendurchmessers ist bis auf einen  $1 \mu\text{m}$  genau. Voraussetzung ist jedoch die Kugelgestalt der Tropfen. Das Verfahren ist ausschließlich für die Größenmessung geeignet. Es existieren weitere Verfahren die auf diesem Messprinzip beruhen. Diese basieren auf umfangreicherer Technik, liefern aber genauere und erweiterte Resultate. Ein weiterer Vorteil dieses Verfahrens ist, dass es vollständig von der Ansteuerung des Dosierkopfes entkoppelt angewendet werden kann. Das bedeutet, dass keine Kenntnis über die Dosier- oder Stroboskopparameter erforderlich ist. Mit dem Dosieren in diese Vorrichtung wäre die Volumenmessung vollzogen. Über die anderen Kriterien des Dossiervorgangs können mit diesem Verfahren keine Informationen gewonnen werden.



**Abbildung 34** – Defokussiertes Bild der ILIDS-Technik eines Tröpfchennebels / aus [106]

## 3.2 Entwicklung eines Verfahrens zur Analyse der Tropfenbildung

Die genannten Verfahren eignen sich nicht für den konkreten Anwendungsfall. Bei den „klassischen“ Verfahren ist keine zeitnahe Messung möglich und die notwendigen externen Analysesysteme bedeuten zum einen materiellen Aufwand und zum anderen erschweren sie die Automatisierung der Volumenmessung. Die Verfahren aus der Partikelmesstechnik eignen sich sowohl für eine sehr präzise Messung des Tropfenvolumens in Echtzeit als auch für die automatische Durchführung. Es handelt sich jedoch dabei um sehr aufwendige Messtechnik welche für die Integration in kommerzielle Geräte unter Umständen einen nicht vertretbaren Aufwand darstellt.

### 3.2.1 Messung von Volumen und Flugverhalten

Für die Messung von Volumen und Flugverhalten werden im Rahmen der Arbeit Lösungsansätze entwickelt. Das Ziel besteht in der Entwicklung einer Lösung, welche in die bestehenden Systeme und Abläufe integrierbar ist. Dabei soll insbesondere der Aspekt der praktischen Anwendbarkeit im Vordergrund stehen. Im Wesentlichen sind dies:

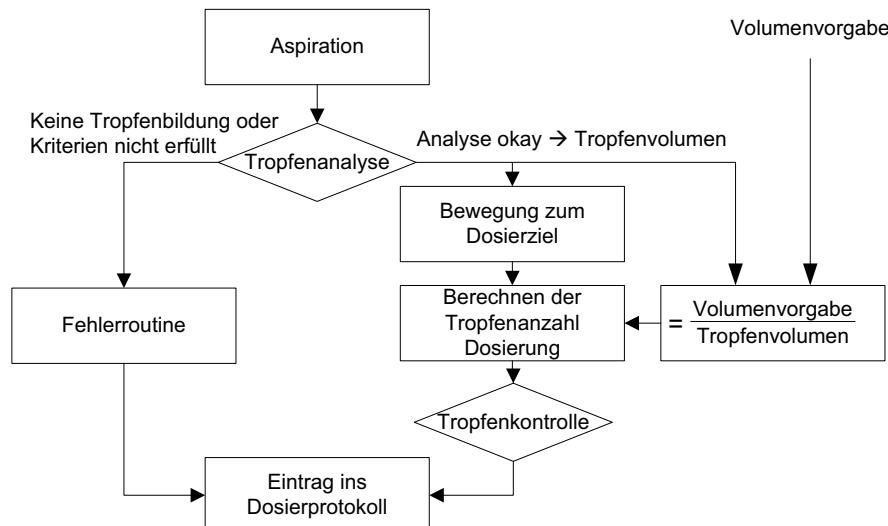
- Zeitnahe Ermittlung des Volumens
- Vertretbarer Integrationsaufwand
- Robustes Verfahren

Im Hinblick auf die Anwendbarkeit und Umsetzung in der Praxis wird bei der Methode der Volumenbestimmung ein Kompromiss zwischen dem technischen Aufwand und der Genauigkeit angestrebt. Im Bedarfsfall oder für Referenzmessungen besteht die Möglichkeit eines der oben genannten Verfahren zu verwenden. Neben den Volumen des Tropfens ist es erforderlich einen Eindruck über den gesamten Dosievorgang zu erhalten. Der Vorgang des Dosierens beschreibt den Zeitraum vom Beginn des Ansteuersignals des Piezokristall über die Tropfenablösung bis zum Auftreffen des Tropfens auf dem Dosierziel. Mit Hilfe eines speziellen Visualisierungssystems, vorgestellt in Abschnitt 4.1.1, kann der Tropfen von der Ablösung von der Nozzle bis zum Erreichen der Grenze des Erfassungsbereiches beobachtet werden. Während des Fluges kommt es unter bestimmten Bedingungen zu Effekten wie der Aufspaltung des Tropfens in Einzeltropfen oder dem Abweichen von der gewünschten Flugbahn. Für die Qualität der Dosierung ist es daher wichtig Informationen über die Flugphase zu besitzen und diese anhand von definierten Kriterien einzustufen zu können.

Der Fokus liegt auf dem Entwickeln von Lösungen, die mit einem relativ einfachen Verfahren in akzeptablen Genauigkeitsgrenzen das Volumen in Echtzeit ermitteln.

### 3.2.2 Integration der Tropfenanalyse in den automatischen Dosierablauf

Der Ablauf der Dosierung soll in den weiteren Schritten um die Analyse des Tropfenfluges erweitert werden. Voraussetzung ist die Kenntnis von Dosierparametern für die jeweilige Flüssigkeit. Die Robustheit des Verfahrens, konstante Tropfenbildung unter gleichen Bedingungen, erlaubt die Annahme, dass nach Messung und anschließender Dosierung innerhalb eines gewissen Zeitintervalls (einige Stunden), gleiche Ergebnisse vorliegen. Wird nun die Substanz deren Dosierparameter bereits bestimmt wurden, aufgenommen, wird die ursprüngliche Kontrolle der Präsenz des Tropfens um die Messung des Volumens und die Charakteristik des Fluges erweitert. Über die gemessene Tropfengröße und die Volumenvorgabe des Benutzers kann die erforderliche Anzahl an Tropfen berechnet und bei schlechten Flugeigenschaften die Dosierung ausgesetzt werden.



**Abbildung 35 – Prinzipieller Ablauf mit integrierter Tropfenanalyse / Vergleich Abbildung 37**

### 3.3 Automatisierungsgrad

Der Automatisierungsgrad in der Laborautomatisierung, insbesondere im Bereich des Umgangs mit Flüssigkeiten, ist bereits sehr hoch. Es existieren zahlreiche Dosierroboter die über längere Zeiträume autark arbeiten können. Für die Gewährleistung hoher Qualität müssen programmierte Abläufe zuverlässig ausgeführt werden. Bei komplexeren Dosierplattformen müssen zusätzliche Aufgaben, wie die Zufuhr oder der Abtransport von Labware, ggf. durch externe Robotersysteme, ebenfalls koordiniert werden. Trotz dieser Möglichkeiten sind manuelle Tätigkeiten erforderlich. Im Rahmen dieses Kapitels werden die manuellen und automatisierten Vorgänge bei den Nanodosiersystemen der Piezotechnologie beschrieben. Gleichzeitig erfolgt die Analyse von Bereichen bei denen Potential für Optimierungen oder Neuerungen besteht.

#### 3.3.1 Prinzipieller Ablauf eines Dosievorganges

Die folgende Abbildung zeigt den prinzipiellen Ablauf einer Dosierung mit einem Gerät auf Basis der Piezotechnologie.

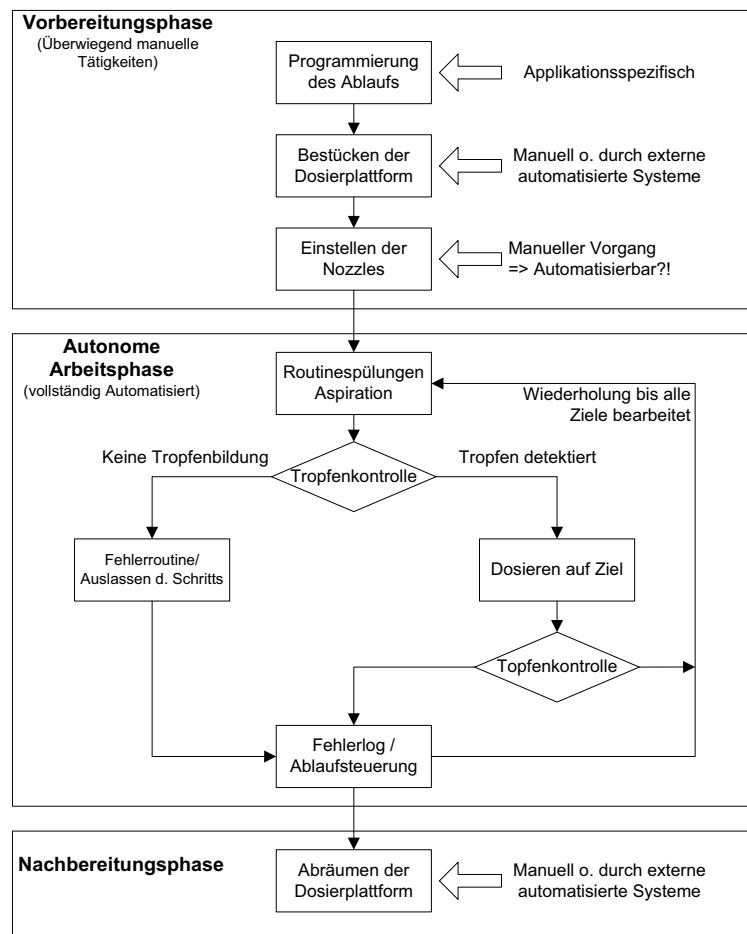


Abbildung 36 – Schema des Ablaufs einer Dosierung

### 3.3.2 Vorbereitungsphase

Vor dem Beginn des eigentlichen Dosierprozesses sind Vorbereitungen notwendig. Allgemeine Maßnahmen wie Wartungsarbeiten, das Entsorgen von Rückständen oder die Bereitstellung von Betriebsmitteln wie Systemflüssigkeiten, Druckluft etc, gehören jedoch nicht in diese Kategorie. Diese Arbeiten sind bei nahezu allen automatisierten Anlagen notwendige Schritte die vom Bedienpersonal ausgeführt werden.

#### Programmierung des Ablaufs

In Abhängigkeit der geplanten Anwendung teilt der Benutzer dem System die gewünschten Abläufe mit. Die Basisdaten eines Ablaufs sind die Positionen von Entnahme und Abgabe sowie die jeweilige Menge und ggf. Waschvorgänge oder einzuhaltende Zeitpunkte. Bei komplexeren Systemen kommen zusätzlich Schritte wie das Aufnehmen der Dosierköpfe, Aktivierung von zusätzlichen Geräten zum Lesen von Barcodes, Heizungen etc. dazu. Die Eingabe dieser Daten geschieht durch die Programmierung mithilfe von grafischen Oberflächen in Form von Flussdiagrammen, Listen oder speziellen Skripten. Die Eingaben des Benutzers werden von Assistenten (Programmen) überprüft. So gibt es Fehlermeldungen, wenn die Dosiermenge das aufgenommene Volumen übersteigt. Gleichzeitig werden weitere Optimierungen, Korrekturen und das Scheduling vorgenommen. Die Ergebnisse dieser Analysen werden dem Benutzer grafisch dargestellt und die Freigabe zum Start erwartet.

#### Bestücken der Plattform

Die Positionierung der erforderlichen Quellen und Ziele muss in korrekter Weise erfolgen bevor die Durchführung beginnt. Die Orte der Labware auf der Plattform richten sich dabei nach dem programmierten Ablauf oder den Vorgaben nach Analyse des Ablaufs durch die Software. Bei den Quellen handelt es sich im Allgemeinen um Mikrotiterplatten oder andere Gefäße. Die Dosierziele sind in erster Linie Mikrotiterplatten sowie Slides der verschiedensten Ausführungen oder Lab-on-a-Chip Formate. Der Bestückungsvorgang kann je nach Grad der Integration in andere Robotersysteme manuell oder automatisch vorgenommen werden.

### Kalibrierung

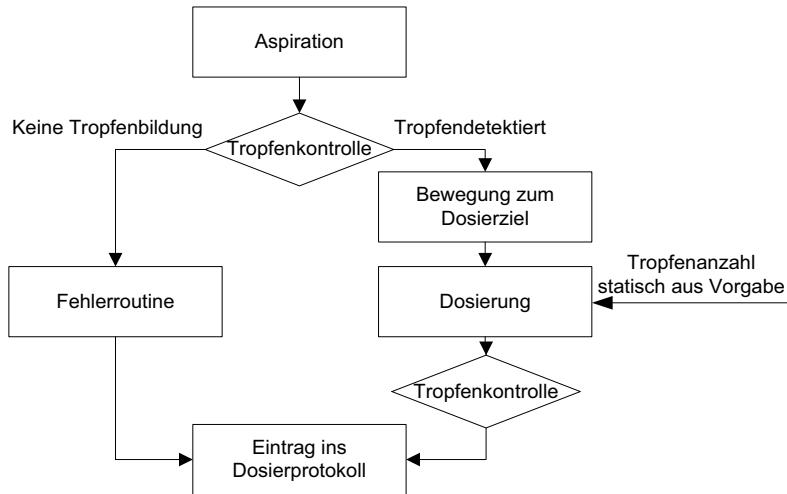
Bei nahezu allen Dosiersystemen ist eine Kalibrierung erforderlich. Aufgrund der unterschiedlichen Eigenschaften von Flüssigkeiten variieren die dosierten Mengen bei gleichen Dosierparametern mit unterschiedlichen Flüssigkeiten. Besonders bei der Piezotechnologie ist die Dosierung sehr stark von den Parametern abhängig. Dabei tritt neben dem unterschiedlichen Volumen auch der Effekt auf, dass die Parameter für die Tropfenbildung der jeweiligen Substanz unbekannt sind.

Zum Kalibrieren wird die zu dosierende Flüssigkeit aufgenommen. Bei Verfahren, in denen eine Verwendung von Vorratspatronen, Cartridges oder der zu dosierenden Flüssigkeit als Systemflüssigkeit zur Anwendung kommt, entfällt der Aspirationsvorgang. Mit dem Erfüllen dieser Bedingungen kann der Kalibriervorgang gestartet werden. Bei den Drop-on-Demand Systemen wird dieser überwiegend manuell durchgeführt. Dabei werden verschiedene Parameter getestet, so dass entsprechend der Erfahrung des Benutzers anschließend akzeptable Parametersätze für die Dosierung gewählt werden.

In Hinblick auf die Verwendung in automatisierten Abläufen, kann die Kalibrierung erst unmittelbar nach der Übergabe der Flüssigkeiten erfolgen. Da mitunter die Eigenschaften, die an das Gerät übergebenen Flüssigkeiten unbekannt sind. Für den automatischen Ablauf stellt dies jedoch eine Unterbrechung dar. Daher ist ein wesentlicher Bestandteil dieser Arbeit ist die Automatisierung des Kalibriervorganges. Eine detaillierte Beschreibung des Kalibrierungsprozesses erfolgt in den kommenden Kapiteln.

### 3.3.3 Autonome Arbeitsphase

In dieser Arbeitsphase werden alle Vorgänge eingeordnet, für welche keine externen Ressourcen mehr benötigt werden. Alle in dieser Phase durchgeführten Arbeiten finden auf der Plattform des Nanodosiersystems statt und laufen automatisiert ab. Nach dem Abschluss der Vorbereitungsphase läuft ein herkömmlicher Dosievorgang wie folgt ab:



**Abbildung 37 – Ablaufschema einer einzelnen Dosierung**

Ein entstehendes Problem ist die unbekannte Tropfengröße. Die Anzahl der Tropfen die benötigt wird um ein gewisses Volumen zu dosieren, wird im Voraus, ohne Kenntnis des Tropfenvolumens festgelegt. Daher ist dieser Punkt für die Qualität problematisch. Die notwendigen Dosierparameter, für die jeweilige Flüssigkeit, werden dabei manuell und vorher ermittelt.

#### Aspiration

Das Aufnehmen der Flüssigkeit erfolgt mithilfe der jeweiligen Aspirationstechnik. Die erforderlichen Mengen sind dem System bereits aus Berechnungen oder Benutzervorgaben bekannt. Der Aspirationsvorgang kann während des gesamten Dosierprozesses wiederholt werden.

#### Dosierprobe vor Beginn der Dosierung

Vor dem eigentlichen Dosieren auf die Ziele wird die Tropfenbildung in bestimmten Abständen getestet. Primär wird detektiert, ob bei eingestellten Dosierparametern die Tropfenbildung erfolgreich ist. Bei Erfolg wird der Dosievorgang fortgesetzt. Im Fall eines negativen Resultats wird der Dosierschritt mit dieser Substanz übergangen und ins Fehlerprotokoll aufgenommen.

### Dosierung auf das Ziel

Zunächst erfolgt die Bewegung des Dosierkopfes über das Dosierziel. Die genaue Position befindet sich in der Software. Da es sich um ein kontaktloses Dosierverfahren handelt, erfolgt die Platzierung der Nozzle etwa 0,5 mm über dem Ziel. Für die Auswertung und Weiterverarbeitung der Dosierziele ist eine hohe Zielgenauigkeit wichtig. Dies trifft insbesondere zu, sobald auf speziell beschichteten Objektträgern einzelne Bereiche bzw. Einlassöffnungen bei Lab-on-a-Chip Systemen zu treffen sind. Mit dem Erreichen der gewünschten Position wird die Abgabe von Tropfen der entsprechenden Nozzle initiiert.

### Nachkontrolle

Wie bei der Kontrolle vor dem Dosieren auf das Ziel wird die Tropfenbildung überprüft. Anhand des Resultates dieser Kontrolle wird geschlussfolgert, ob die Dosierung erfolgreich war. Bleibt die Tropfenbildung aus, wird ein Fehlschlag vermutet und dieser protokolliert. Für die Durchführung dieser Kontrollen ergibt sich jedoch das Problem, dass Zeit in Anspruch genommen und ein Vielfaches der eigentlichen Dosiermenge verbraucht wird. Daher muss ein Optimum zwischen der Anzahl der Kontrollen und dem dafür zusätzlichem Aufwand gefunden werden. Es kann jedoch nicht festgestellt werden, bei welchen Dosierpunkten die Tropfenabgabe versagt hat. Über zusätzliche Systeme ist die Kontrolle des Dosierziels unmittelbar nach Tropfenabgabe ebenfalls möglich.

### Waschen und Spülen

Wasch- und Spülvorgänge dienen der Reinigung des Systems. In der Regel wird eine Nozzle vor dem erneuten Aspirieren gewaschen. Der zweite Grund ist die Beseitigung von der an der Nozzle angelagerten Flüssigkeit. Diese entsteht durch ungünstige Dosierparameter oder durch das Eintrocknen von Rückständen. Dafür verfügen die Dosiersysteme über Waschstationen mit entsprechenden Pumpensystemen. Um bereits aufgenommenen Substanzen wieder abzugeben oder Gasblasen aus dem Kapillarsystem zu befördern werden Spülvorgänge eingeleitet.

#### **3.3.4 Nachbereitungsphase**

Nach dem der Dosievorgang abgeschlossen ist werden die Dosierköpfe gespült und gewaschen. Gegebenenfalls erfolgen Nachkontrollen der Dosierziele. Damit ist prinzipiell die Arbeit des Dosierroboters abgeschlossen. Die vollständig bearbeiteten Dosierziele können anschließend manuell oder durch die gleichen Automatismen die bei der Bestückung genutzt werden, abgeräumt werden.

### 3.4 Konzepte zur Erhöhung des Automatisierungsgrades

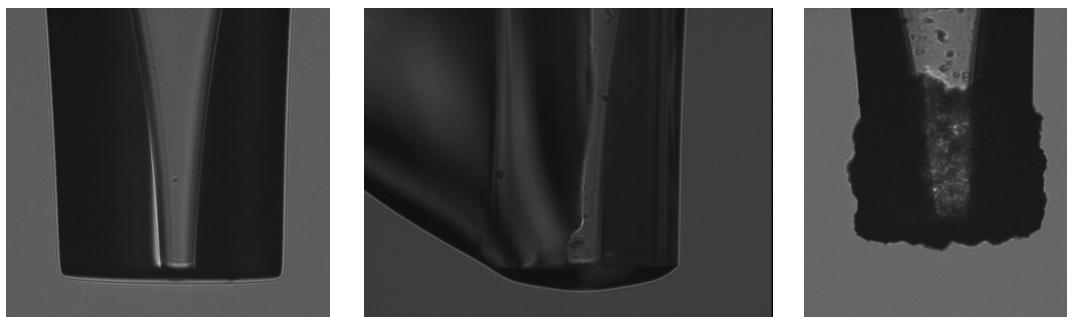
Dieser Schwerpunkt befasst sich mit der Automatisierung von bisher manuell durchgeführten Tätigkeiten. Wartungs- sowie Vorbereitungsarbeiten, die bei allen Maschinen notwendig sind, fallen nicht in diese Kategorie, da deren Automatisierung nicht zweckmäßig ist. Das Hauptanliegen ist die Automatisierung des Kalibrierorganges. Der erste Schritt in dieser Richtung ist mit der Messung des Tropfenvolumens und der Analyse des Dosievorganges abgeschlossen. Weiterhin ist während der Kalibrierung die Erkennung von Störeinflüssen notwendig. Dadurch kann unterschieden werden, ob die Charakteristik des Tropfenfluges auf mangelhafte Dosierparameter oder auf ebendiese Störeinflüsse zurückzuführen ist.

#### 3.4.1 Erkennung und Beseitigung von Störungen

Die Störungen beziehen sich auf Faktoren welche die Tropfenbildung be- oder verhindern. Insbesondere zählen dazu:

- Anlagerungen an der Nozzle
- Gasblasen im Kapillarsystem

Die Dosiersysteme verfügen über Waschstationen und Spülverfahren mit denen diese Störungen eliminiert werden können. Das Einleiten der erforderlichen Maßnahme zur Beseitigung erfolgt bisher ausschließlich nach Routine oder nach Überprüfungen durch den Benutzer. In dieser Arbeit werden Methoden zur automatischen Erkennung dieser Störungen vorgestellt. Dies ermöglicht, der Ablaufsteuerung des Dosierroboters das eigenständige Einleiten der Waschvorgänge, wenn diese tatsächlich notwendig sind. Gleichzeitig stellt diese Erkennung eine Grundfunktion für den automatischen Kalibrierorgang dar.



**Abbildung 38** – Zustände der Nozzle: Operationsfähig; Flüssigkeitsanlagerung; Verkrustet durch Eintrocknung

### 3.4.2 Ermittlung der Dosierparameter – Kalibrierung

Die Tropfenbildung und deren Eigenschaften sind abhängig von der verwendeten Nozzle, der Flüssigkeit und den Dosierparametern. Diese Dosierparameter sind im Wesentlichen die Frequenz, die Amplitude und die Impulsbreite des Rechtecksignals zur Ansteuerung des Piezoelements. In Abhängigkeit von der zu dosierenden Flüssigkeit müssen diese Parameter für eine erfolgreiche Tropfenbildung angepasst werden.

Die bisherige Einstellung der Dosierparameter erfolgt manuell. Grundlage für die weiteren Schritte ist das Finden eines Parametersatzes bei dem, für die jeweilige Konfiguration, die Tropfenbildung ohne Flüssigkeitsanlagerung zu Stande kommt. Danach erfolgt die Überprüfung der Flugphase hinsichtlich der speziellen Kriterien wie Flugbahn und der Präsens von Satellitentropfen. Die Einschätzung, ob dieser Parametersatz innerhalb zulässiger Toleranzen liegt, nimmt der Benutzer anhand seiner Erfahrung vor.

Vorgehensweise	Beobachtete Kriterien
1. Finden von Parametern, die Tropfenbildung bewirken	- Anlagerung von Flüssigkeit
2. Untersuchung der Flugphase	- Geradlinigkeit - Satellitentropfen - Anlagerung von Flüssigkeit
3. Parametervariation	- Untersuchung der Flugphase bis Tropfenflug den definierten Kriterien entspricht

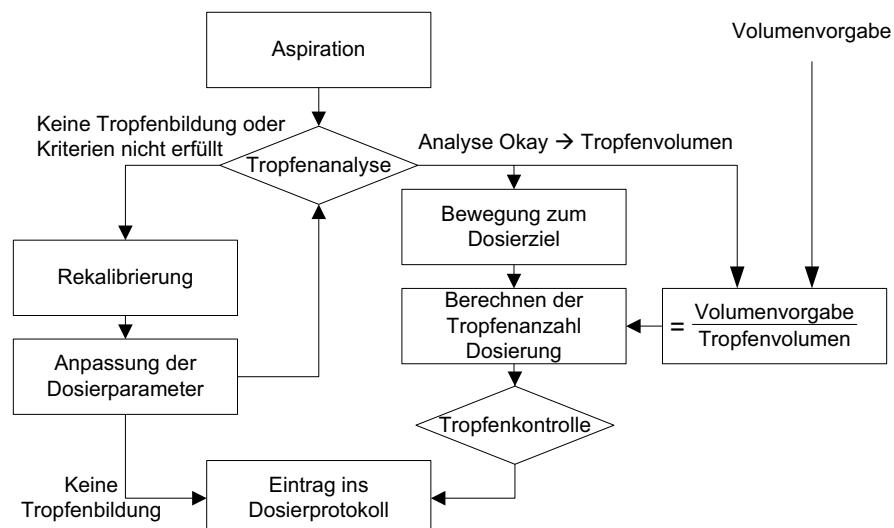
**Tabelle 5** – Schritte der manuellen Kalibrierung der Dosierparameter

Mit den geplanten Algorithmen, der Tropfenanalyse und Störungserkennung, ist die Basis für die Automatisierung der Kalibrierung gelegt. Weiterhin müssen die Kriterien für einen gültigen Tropfenflug in diskrete Schwellwerte transformiert werden. Das direkte Übertragen der Vorgehensweise des Benutzers wird, aufgrund der Komplexität, nur in eingeschränktem Maße mit vertretbarem Aufwand möglich sein. In der ersten Phase der Umsetzung sollte ein Suchalgorithmus, der sukzessive Parametersätze testet, erste Ergebnisse liefern. Dabei gilt die automatische Suche als erfolgreich abgeschlossen sobald die gestellten Anforderungen an die Tropfenbildung erfüllt sind. Andernfalls wird der Parametersatz als ungültig erklärt und die Suche fortgesetzt.

Aufgrund der nicht zur Verfügung stehenden Tropfendaten wird bisher keine gezielte Feinjustierung vorgenommen. Da jedoch mit der geplanten Tropfenerkennung diese Informationen zu Verfügung stehen, könnten in weiteren Schritten die Eigenschaften der

Tropfen beeinflusst werden. Voraussetzung für die gezielte Manipulation sind jedoch Kenntnisse über die Zusammenhänge von Flüssigkeitseigenschaften, den Dosierparametern und deren Einfluss auf die Tropfenbildung. Das Ziel der Einflussnahme sind Eigenschaften wie Volumen, Geschwindigkeit und Satellitenbildung der Tropfen.

Im Fokus steht hier die Entwicklung von Verfahren, die eine automatische Kalibrierung ermöglichen und deren Implementierung in den Dosierablauf gemäß Abbildung 39. Das Dosiersystem ist dann in der Lage nicht operationsfähige Nozzles zu erkennen, die Störung zu beseitigen und ggf. die Dosierparameter neu zu ermitteln. Dies ermöglicht einen sehr autarken Ablauf der gleichzeitig die Voraussetzung für die Einbindung in automatisierte Systeme darstellt.



**Abbildung 39** – Prinzipieller Dosierablauf mit integrierter Rekalibrierung / Vgl. Abb. 31 u. 32

### 3.5 Vorgehensweise zur Umsetzung der Optimierungen

Zunächst erfolgt die Bearbeitung der einzelnen Teilaufgaben. Neben den vorgestellten Verfahren liegt hier der Fokus primär auf einer Lösung die auf der zur Verfügung stehenden Hardware basiert. Im ersten Schritt werden Algorithmen zur Bearbeitung der Teilprobleme entworfen. Anschließend beginnt die Erstellung eines Ablaufs, in welchem je nach Problemstellung diese Algorithmen angewendet und mit Prozeduren der Ansteuerung der Komponenten des Dosierroboters kombiniert werden.

Entwicklungsschritt – Teilaufgabe	Inhalte
Erstellen von Erkennungsalgorithmen	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Erkennung Tropfenvolumen</li> <li>- Erkennung der Flugphase</li> <li>- Erkennung von Störeinflüssen</li> </ul>
Konkretisierung von Kriterien und Regeln	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Bewertung der Tropfenbildung und Flugbahn</li> <li>- Kriterien für das eigenständige Einleiten von automatischen Wartungsprozessen</li> </ul>
Erstellen von Abläufen (Kopplung von Auswertealgorithmen und Aktorik des Dosierroboters)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Automatische Suche nach gültigen Dosierparametern</li> <li>- Gezielte Beeinflussung der Tropfenbildung nach Benutzervorgaben</li> <li>Automatisches Durchführen von Wasch- und Spülvorgängen im Bedarfsfall</li> </ul>

**Tabelle 6** – Übersicht der Teilaufgaben zur Optimierung des Dosiersystems

Die Basis für alle weiteren Schritte sind die Erkennungsalgorithmen. Um die einwandfreie Funktionalität zu gewährleisten ist dabei besonderer Wert auf Zuverlässigkeit und Robustheit zu legen. Für die Weiterverarbeitung der gewonnenen Information sind Entscheidungskriterien notwendig, da anhand dessen die weiteren Abläufe ausgewählte werden. Für die Erstellung und Umsetzung dieser Kriterien sowie die Auswahl der nachfolgenden Schritte erfolgt, soweit wie möglich, die Orientierung an Erfahrungswerten und der Vorgehensweise der Benutzer. Nach dem somit die einzelnen Abläufe erstellt worden ist es für die praktische Umsetzung und Testung erforderlich diesen Algorithmen den Zugriff auf alle Subsysteme und Ressourcen des Dosierroboters zu ermöglichen.

Für die geplante Umsetzung und die Integration in die Ablaufsteuerung besteht ein wichtiger Aspekt in der Bewahrung einer gewissen Modularität der zu entwickelnden Komponenten. Damit soll ermöglicht werden, dass bei einer Portierung in andere Systeme die Übernahme von einzelnen Prozeduren möglich ist, oder im Fall von sich ergebenen Optimierungen, wie z. B. neuen Hardwarekomponenten eine Anpassung vorgenommen werden kann.

## 4 Analyse der Tropfenabgabe

Die Grundlage für alle weiteren Schritte ist die Erfassung des Dosiervorgangs. Dieses Ziel kann über verschiedene Technologien realisiert werden. Der Umfang reicht dabei von einfachen Lichtschranken und Kameras in diversen Ausführungen bis hin zu lasergestützten Messverfahren. Bei allen Messmethoden ist die Anwendbarkeit in der Praxis von besonderem Interesse und führt zu einem Kompromiss zwischen der Auflösung des Verfahrens und der Aufwändigkeit bei der Implementierung. Des Weiteren ist für die automatisierte Auswertung die Digitalisierung des Vorganges erforderlich.

Die generierten Tropfen besitzen ein durchschnittliches Volumen von ca. 250 pl ( $\varnothing 78 \mu\text{m}$ ) und fliegen mit einer Geschwindigkeit von ungefähr 2 m/s. Diese Gegebenheiten erschweren, aus den in Abschnitt 4.1.1 genannten Gründen, enorm den Tropfen während der Flugphase aufzunehmen. Im Einzelnen sind dabei die folgenden Informationen von Interesse:

- Präsenz von Tropfen
- Positionsbestimmung
- Zeitindex
- Volumen des Tropfens

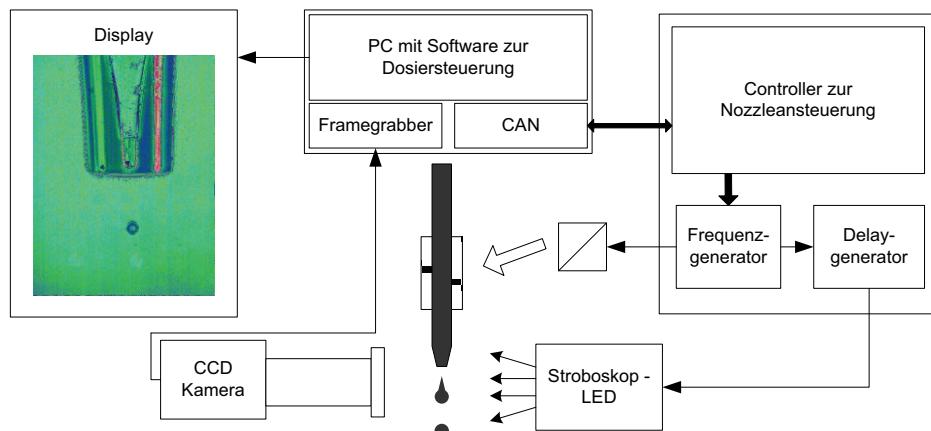
Im Optimalfall liefert ein Messverfahren diese Informationen mit hoher Genauigkeit. In der Praxis existieren Verfahren die einzelne Information liefern, jedoch sonst nicht mit den Anforderungen vereinbar sind. Beispielsweise würde eine technisch einfach zu realisierende Lichtschranke ausschließlich zur Erkennung der Präsenz der Tropfen dienen aber keine Informationen über die Tropfengröße liefern. Sofern weitere ausgewählte Verfahren für einzelne Punkte von besonderem Interesse sind, werden diese in den kommenden Abschnitten näher erläutert.

### 4.1 Messtechnische Erfassung des Tropfenfluges

Die Visualisierung ist bei den meisten Geräten mit Hilfe eines Stroboskop-Kamera Systems umgesetzt. Dieses ist für die manuelle Bewertung der Tropfenbildung bereits von großem Nutzen. Das Kamerabild wird über Framegrabber oder beispielsweise USB-Kameras in die Dosiersoftware eingespeist. Einige Steuerprogrammen der Dosierroboter verwenden bereits einfache Bildverarbeitungsalgorithmen zur Überwachung der Tropfenbildung.

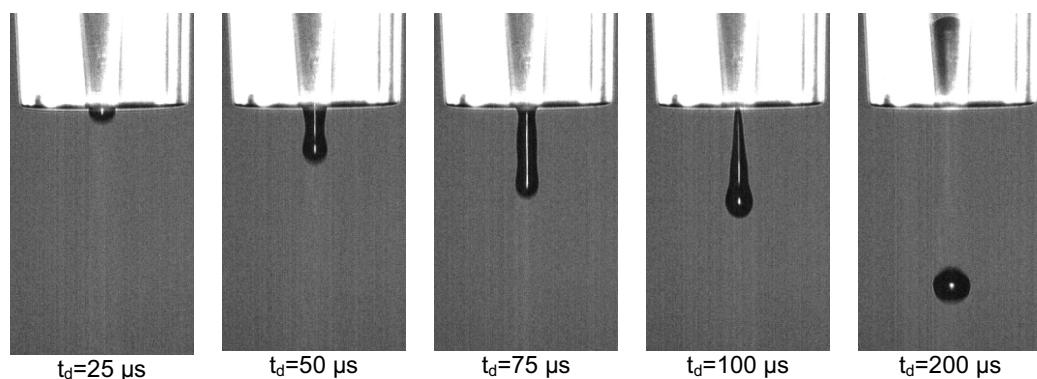
#### 4.1.1 Visualisierung über Stroboskop und Kamera

Der in den hier durchgeführten Versuchen verwendete Nanodosierer, S-5 von Scienon, verfügt über ein Stroboskop-Kamera-System und besitzt damit die technischen Voraussetzungen zur Überwachung der Tropfenbildung. Die vorhandene Hardware besteht aus einer Kamera mit vergrößerndem Objektiv und einer Stroboskop-LED. Das Stroboskop ist notwendig, da sich die Tropfen zu schnell für eine Einzelaufnahme mit einer gewöhnlichen Kamera bewegen. Die synchrone Auslösung des Stroboskops mit Ansteuerung des Piezokristalls liefert bei kontinuierlichem Betrieb ein Bild von sich überlagernden Tropfen. Zusätzlich ist es möglich die Verzögerung zwischen der ansteigenden Flanke des Piezosignals und der Aktivierung des Stroboskops zu verändern. Dadurch kann der Tropfen zu beliebigen Zeitpunkten nach dem Abschuss visualisiert werden [107-109].



**Abbildung 40 – Übersicht des Visualisierungs- und der Steuerungssystems der Nozzle**

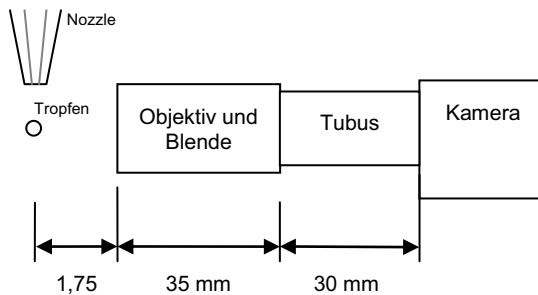
Um eine Vorstellung über den zeitlichen Verlauf des Tropfenabschuss zu bekommen, wird die Verzögerung des Stroboskopblitzes von Null beginnend, kontinuierlich erhöht. Dadurch werden stehende Bilder des kontinuierlichen Vorgangs zu verschiedenen Zeitpunkten erzeugt.



**Abbildung 41 – Tropfendarstellung bei unterschiedlichen Verzögerungszeiten des Stroboskops**

### 4.1.2 Kennwerte der optischen Komponenten

Das Objektiv mit Blende und die Zwischenringe sind neben dem Kamerasensor die wesentlichen Bestandteile des Systems. Anhand dieses Aufbaus erfolgt die Berechnung ausgewählter Kennwerte [110;111].



**Abbildung 42** – Schema des optischen Systems

#### Abbildungsmaßstab $\beta$

Dieser hängt vor allem vom Objektiv und dessen Brennweite und Position im optischen System ab.

$$\beta = \frac{l}{f} \quad (\text{Gl. 3.1}) \quad \begin{array}{l} l - \text{Auszuglänge} \\ f - \text{Brennweite} \end{array}$$

Für die verwendete Optik:

$$\beta = \frac{l}{f} = \frac{l_{\text{Objektiv}} + l_{\text{Tubus}}}{f_{\text{Objektiv}}} = \frac{35\text{mm} + 30\text{mm}}{12\text{mm}} = \frac{65}{12} = \underline{\underline{5,42}}$$

#### Umrechnungsfaktor Pixel $\leftrightarrow$ Mikrometer

Mit Hilfe des Abbildungsmaßstabes, den Daten des einzelnen CCD-Sensors und der Auflösung der Kamera erfolgt die Ermittlung dieses Faktors.

	Pixelanzahl ( $P_a$ )	Pixelgröße ( $P_g$ )	Sensorgröße ( $P_a * P_g$ )
Horizontal	768	8,4 $\mu\text{m}$	6451 $\mu\text{m}$
Vertikal	494	9,8 $\mu\text{m}$	4841 $\mu\text{m}$

**Tabelle 7** – Technische Daten des CCD-Sensors der Kamera

Somit entsprechen 768 Pixel der vertikal maximal möglichen Bildgröße von  $B_{\text{vertikal}} = 6451 \mu\text{m}$ . Über den Abbildungsmaßstab und der Formel  $\beta = \frac{B}{G}$  wird die Gegenstandsgröße berechnet:

$$G = \frac{B}{\beta} = \frac{B_{\text{horizontal}}}{\beta} = \frac{6451 \mu\text{m}}{5,42} = \underline{\underline{1191 \mu\text{m}}}$$

Für den Einzelnen Pixel ergibt sich:

$$\frac{G}{P_a} = \frac{1191\mu m}{768Pixel} = \underline{\underline{1,55\mu m / Pixel}}$$

Analog dazu wird vertikale die Breite des Bildes berechnet mit:

$$G = \frac{B}{\beta} = \frac{B_{vertikal}}{\beta} = \frac{4841\mu m}{5,42} = \underline{\underline{894\mu m}}$$

Der CCD-Sensor besteht aus 494 Zeilen. Dennoch werden im resultierenden Bild 576 Zeilen dargestellt. Somit ergibt sich für die Umrechnung in vertikaler Richtung:

$$\frac{G}{P_a} = \frac{894\mu m}{576Pixel} = \underline{\underline{1,55\mu m / Pixel}}$$

### Schärfentiefe des Systems

Dieser Kennwert beschreibt den Raum zwischen zwei Ebenen die senkrecht zur optischen Achse stehen. In dem Bereich zwischen den Ebenen ist die Fokussierung optimal. Der Abstand dieser Ebenen ist abhängig von den genannten optischen Komponenten sowie der Blendenzahl. Die Blendenzahl ist definiert und genormt nach DIN 4522 und beschreibt das Verhältnis zwischen Brennweite und dem Durchmesser der Eintrittspupille des Objektivs.

$$\kappa = \frac{f}{D} \quad (\text{Gl. 3.2}) \quad \begin{array}{l} f - \text{Brennweite} \\ D - \text{Durchmesser der Eintrittspupille} \end{array}$$

Weitere Voraussetzungen, ebenfalls aus den Daten des Systems berechenbar, sind der Streukreisdurchmesser und die hyperfokale Entfernung. Der Streukreisdurchmesser wird mit einer allgemein akzeptierten Nahrungsformel ermittelt über:

$$Z = \frac{d}{1730} \quad (\text{Gl. 3.3}) \text{ aus [112]} \quad d - \text{Diagonale des CCD-Sensors der Kamera}$$

Für die hier verwendeten Apparaturen ergibt sich:

$$Z = \frac{d}{1730} = \frac{\sqrt{B_{horizontal}^2 + B_{vertikal}^2}}{1730} = \frac{\sqrt{(6451\mu m)^2 + (4841\mu m)^2}}{1730} = \underline{\underline{4,7\mu m}}$$

Mit dem Streukreisdurchmessers Z kann die hyperfokale Entfernung  $d_h$  berechnet werden.

$$d_h = \frac{f^2}{Z \cdot \kappa} \quad (\text{Gl. 3.4}) \quad f - \text{Brennweite des Objektivs}$$

Der Nah- und Fernpunkt, die Grenzen der Schärfentiefe, werden berechnet mit:

$$d_n = \frac{g \cdot d_h}{d_h + (g - f)} \text{ für den Nachpunkt und } d_f = \frac{g \cdot d_h}{d_h - (g - f)} \text{ für den Fernpunkt.}$$

Die Differenz aus Fern- und Nahpunkt gibt den Bereich der optimalen Fokussierung an. In Tabelle 8 sind für die verwendete Optik die berechneten Werte für ausgewählte Blendenzahlen dargestellt. Der für die Messungen favorisierte Wert der Blendeneinstellung liegt bei:  $\kappa=4$ .

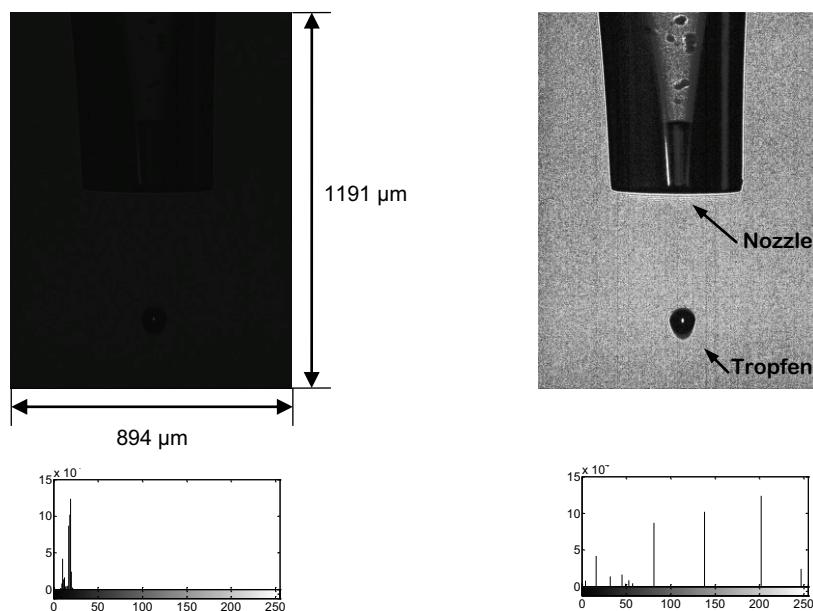
	$\kappa = 2$	$\kappa = 4$	$\kappa = 8$
Nahpunkt	17.555 µm	17.549 µm	17.536 µm
Fernpunkt	17.568 µm	17.574 µm	17.587 µm
Schärfentiefe	12 µm	25 µm	51 µm

**Tabelle 8** – Schärfentiefen bei bestimmten Blendenzahlen

Die Kenntnis der Schärfentiefe gewinnt in Kombination mit der Bestimmung der Fokussierung an Bedeutung. Mit beiden Kennwerten ist es möglich die dreidimensionale Flugbahn des Tropfens zu bestimmen.

#### 4.1.3 Generiertes Bild

Auf der linken Seite in Abbildung 43 befindet sich das mit dem Visualisierungssystem erzeugte Bild. Dieses bildet in Kombination mit den Geräteeinstellungen die Grundlage der weiteren Analysen. Diesem sehr kontrastarmen Bild steht rechts dessen Interpretation nach Angleichung des Histogramms gegenüber.



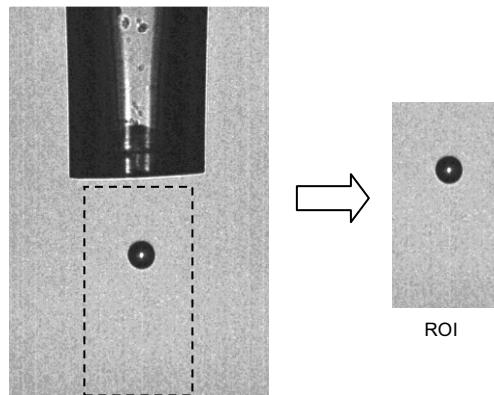
**Abbildung 43** – Darstellung des Kamerabildes (links) und nach Angleichung des Histogramms (rechts)

## 4.2 Algorithmus zur Extraktion der Bildinformationen

Mithilfe von Bildverarbeitungsalgorithmen werden aus dem erzeugten Bild des beschriebenen Visualisierungssystems die Daten des Tropfens gewonnen. Um auch bei unzureichender Fokussierung oder ungünstigen Lichtverhältnissen den Tropfen erfassen zu können, müssen die Algorithmen robust ausgelegt sein. In den folgenden Abschnitten erfolgt die Beschreibung dieses Verfahrens. Die eigentliche Bestimmung der Tropfenparameter setzt die optimale Fokussierung des Tropfens voraus. Die Messung und das Einstellen der Fokussierung sind jedoch mit zusätzlichem Aufwand verbunden und werden daher gesondert in Abschnitt 5.1 beschrieben [113].

### 4.2.1 Isolation der „Region of Interest“

In diesem Schritt wird festgelegt, welcher Bereich des Bildes nach einem Tropfen untersucht wird. Die Festlegung dieses Bereiches erfolgt statisch. Dies wird dadurch ermöglicht, dass die Positionierung der Nozzle vor der Kamera definiert und im Voraus vorgenommen wird. Ein weiterer Grund für die Einschränkung ist, dass der Tropfenabschuss in der Regel lotrecht erfolgt. Außerdem bewirkt die Verkleinerung der zu analysierenden Bildregion eine Verringerung des Rechenaufwandes. Aus diesen Gründen wird der Erkennungsbereich bzw. die „Region of Interest“ auf das mittlere Drittel der unteren Bildhälfte beschränkt.

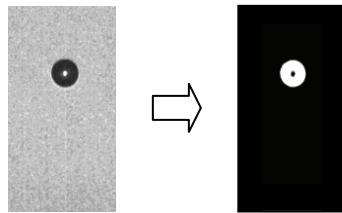


**Abbildung 44 – Extraktion der Region of Interest (ROI)**

### 4.2.2 Erstellung des Binärbildes

Die Grundlage der weiteren Algorithmen, für die Bestimmung der Eigenschaften des Tropfens, ist ein Binärbild. Dieses Schwarz-Weiß-Bild besteht in diesem Fall aus den Pixelwerten von 0 für schwarz und 255 für weiß. Für die Unterteilung ist ein Schwellwert erforderlich. Seine Berechnung erfolgt dynamisch aus dem Mittelwert der Graustufen im Bild. Dabei wird die Tatsache genutzt, dass der abgebildete Tropfen immer dunkler ist als der

Hintergrund. Für eine robuste Erfassung wird der eigentliche Schwellwert aus der Multiplikation des Mittelwertes mit dem Korrekturfaktor 0,9 berechnet.



**Abbildung 45** – Erstellung des Binärbildes aus der Region of Interest

Nach der Umwandlung besteht das Bild aus dem weißen Hintergrund (WAHR bzw. 255) und dem Tropfen (FALSCH bzw. 0). Diese Konstellation ist jedoch für die weiteren Berechnungen ungünstig, da der Tropfen das Objekt von Interesse ist. Deshalb erfolgt nach der Umwandlung die Bildung des Negativs.

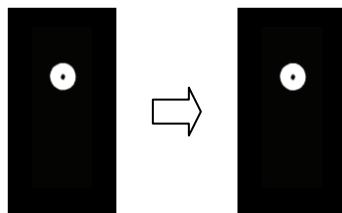
#### Anmerkung: Erkennung über Kantendetektion

Eine weitere Möglichkeit den Tropfen an dieser Stelle zu isolieren, ist die Detektion von Kanten. Bei der Implementierung wurde jedoch der oben genannte Weg gewählt, da die Kantendetektoren, insbesondere bei unscharfen Bildern unbefriedigende und schwer weiterverarbeitbare Resultate liefern. Hinzu kommt, dass bei der Detektion des Tropfens die optimale Fokussierung noch nicht gewährleistet ist. Daher hat sich das oben genannte Verfahren als robuster erwiesen.

### 4.2.3 Präparation der Tropfenkontur

#### Morphologische Öffnung

Aufgrund der Art der Visualisierung und dem damit verbundenen unscharfen Rand wird das Binärbild mit einem Kreis morphologisch geöffnet. Dadurch werden zum einen die Ränder der verbliebenen Kontur geglättet und zum anderen werden verbliebene einzelne störende Pixel eliminiert [114;115].



**Abbildung 46** – Tropfenkontur nach morphologischer Öffnung und Eliminierung ungewollter Konturen

### Löschen von Objekten am Rand

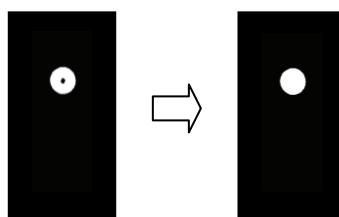
Dieser Schritt ist zum einen notwendig um ungewollte Konturen, resultierend aus ungünstigen Lichtverhältnissen, am Bildrand zu beseitigen und zum anderen um Messfehler bei einem nur teilweise abgebildeten Tropfen zu vermeiden. Der erste Punkt ist bei guten Lichtverhältnissen eher zweitrangig. Der zweite Aspekt ist jedoch von Bedeutung, sobald sich das Tropfenabbild während der Messung am Bildrand befindet. Wird der Tropfen trotz Randberührungen gemessen, führt dies zu deutlichen Messfehlern wenn das Abbild nur zu einem Bruchteil der wahren Größe innerhalb Aufnahmefeldes vorhanden ist.

### Herausfiltern von ungewollten Konturen

Einzelne und aus den vorangegangenen Schritten verbliebene Konturen, die nicht den Tropfen darstellen, müssen gefiltert werden. Diese Konturen sind bedingt durch Helligkeitsrauschen, Staub auf der Linse oder ähnlichem. Die prinzipielle Vorgehensweise ist dabei die systematische Abarbeitung aller verbliebenen Konturen. Das Kriterium zur Eliminierung stellt dabei die Fläche der Kontur dar. Zusammenhängende Flächen, die größer als 300 Pixel sind, bleiben bestehen. Der Schwellwert für den Flächeninhalt ist ein Erfahrungswert. Dieses Verfahren beseitigt nahezu alle Störkontakte, lässt aber dennoch die Erfassung von Satellitentropfen zu.

### Füllen von Löchern

In der Regel ist die Lichtbündelung in der Mitte des Tropfens heller als der Rand. Daher hat die Tropfenkontur nach der Invertierung ein Loch in der Mitte. Die Füllung ist für die weiteren Berechnungen erforderlich und erfolgt über einen in der Bildverarbeitungsbibliothek vorhandenen Algorithmus. Dieser wird systematisch auf die im Bild verbleibenden Konturen angewendet. Das Resultat dieser Operation ist die Grundlage für alle weiteren Verfahren, welche der Gewinnung von Informationen über den Tropfen dienen.



**Abbildung 47** – Tropfenkontur nach Abschluss des Erkennungsalgorithmus

#### 4.2.4 Projektion der Tropfenerkennung in das Kamerabild

Für die Vermittlung des Eindrucks über die aktuelle Erfassung des Tropfenabbildes wird der detektierte Tropfen in das Originalbild eingeblendet. Dazu wird aus dem finalen Binärbild die Randlinie der Tropfenkontur in einem sichtbaren hellen Ton über den aufgenommenen Frame gelegt.

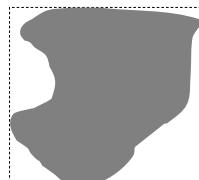


**Abbildung 48** – Kamerabild mit Projektion des erkannten Tropfens

Diese Darstellung des Ergebnisses der Bildverarbeitung ist vor allem bei der Entwicklung wichtig. Der Entwickler bzw. Anwender kann überwachen in wie weit die Erfassung der Tropfen mit der Realität übereinstimmt. Obwohl dies ein subjektives Empfinden ist, können einzelnen Parameter, wie zum Beispiel die Schwelle bei der Konvertierung, in das Binärbild angepasst werden.

### 4.3 Basisdaten der Tropfen

Die im Binärbild verbleibenden Tropfenkonturen enthalten bereits einige Informationen, welche für die nachfolgenden Schritte die Grundlage bilden. Die Extraktion der Daten erfolgt über Algorithmen die standardmäßig, im Repertoire nahezu jeder Bildverarbeitungsbibliothek vorhanden sind. Für den Fall, dass keine Konturen vorhanden sind, ist dies ebenfalls eine Information (kein Tropfen vorhanden) und es erfolgen keine weiteren Analysen.

Umfassendes Rechteck	Ermittelt wird ein Rechteck, dessen Seitenkanten parallel zu den Bildrändern verlaufen und welches dabei die Dimensionen der jeweils größten horizontalen und vertikalen Ausdehnung der Kontur besitzt.
	 <ul style="list-style-type: none"> <li>● Kontur</li> <li>---- Umfassendes Rechteck</li> </ul>
Umfang	Berechnet durch spezielle Algorithmen den Umfang der Kontur in Subpixel - Genauigkeit.
Fläche	Anwendung spezieller Algorithmen, die nicht ausschließlich eine Aufsummierung der Pixel vornehmen, sondern durch spezielle Verfahrensweisen Werte im Subpixelbereich zurückliefern
Schwerpunkt	Berechnung des Flächenschwerpunktes
Anzahl	Der Bibliotheksinterne Umgang mit den Konturen ermöglicht eine Zählung dieser. Die nach den Selektionsschritten noch bestehenden Konturen sollten daher Tropfen sein. Somit wäre die Anzahl der Konturen im Bild mit der Anzahl der Tropfen gleichzusetzen.

**Tabelle 9** - Übersicht der durch Bildverarbeitung extrahierten Daten der Tropfen

Anhand dieser Basiswerte lassen sich im Anschluss weiterführende Analysen durchführen. Durch die Kenntnis der zu erwartenden Werte können unwahrscheinliche Messwerte, wie zum Beispiel eine Tropfengröße, weit über dem Erwartungswert, erkannt werden.

### 4.3.1 Rundheit

Darunter ist im Allgemeinen die Bewertung der Ähnlichkeit einer geometrischen Form zu einem Kreis zu verstehen. Mathematische Modelle auf der basieren auf der Tatsache, dass der Kreis, im Vergleich mit allen anderen Flächen des gleichen Flächeninhalts, die Fläche mit dem geringsten Umfang ist.

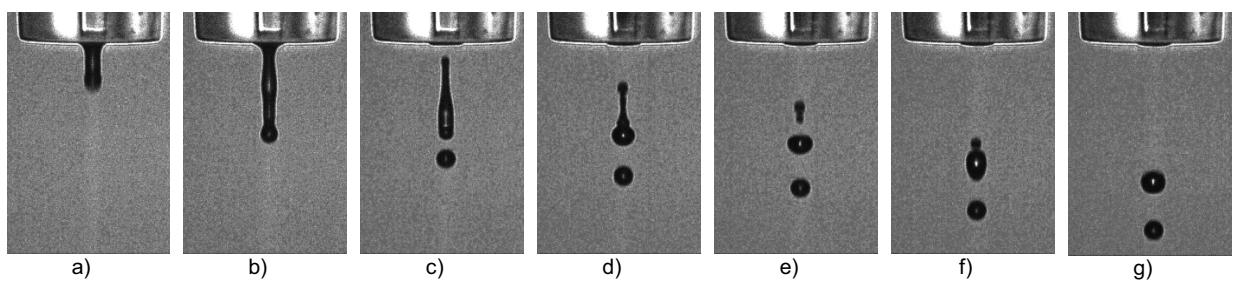
Ein häufig verwendetes Verfahren ist die so genannte „Heywood Circularity“. Diese lässt sich aus dem Umfang und dem Flächeninhalt der geometrischen Form berechnen. Ein perfekter Kreis hätte einen Heywood Faktor von Eins, abweichende Formen weisen dagegen größere Werte auf. Prinzipiell gilt, je größer der Unterschied zwischen Länge und Breite, desto größer der Heywood Faktor. (Beispiel: Quadrat mit 1,128 und gleichseitiges Dreieck mit 1,286) [116].

$$HCF = \frac{U}{2 \cdot \sqrt{\pi \cdot A}} \quad (\text{Formel für Heywood-Circularity (Gl. 4.1)})$$

U – Umfang  
A - Flächeninhalt

### 4.3.2 Satellitentropfen

Entstehen beim Tropfenabschuss mehrere Tropfen werden diese als Satelliten bezeichnet. Das Auftreten dieser Tropfen kann unterschiedliche Erscheinungsformen haben. In der Regel ist der Satellitentropfen um ein Vielfaches kleiner als der eigentliche Tropfen. Die Aufspaltung erfolgt in der Regel zu Beginn der Flugphase. Oftmals kommt es jedoch zu einer Wiedervereinigung noch während des Fluges. Problematischer ist es, wenn sich die beiden Tropfen nicht vereinigen und nicht die gleiche Flugbahn besitzen. Dadurch entstehen auf dem Dosierziel zwei Auftreffpunkte. Dies kann zur Querkontamination führen. In Abbildung 49 ist in chronologischer Reihenfolge, von a nach g, die Aufspaltung der Flüssigkeitsmenge dargestellt. Der erste Zerfall ereignet sich in (c) und der Zweite folgt in (d-e). Während zwischen dem oberen und mittleren Einzeltropfen in (f) sich die Wiedervereinigung vollzieht, bleiben die übrigen Tropfen separat [108;117].



**Abbildung 49** – Darstellung der Aufspaltung des Tropfens in Satteliten

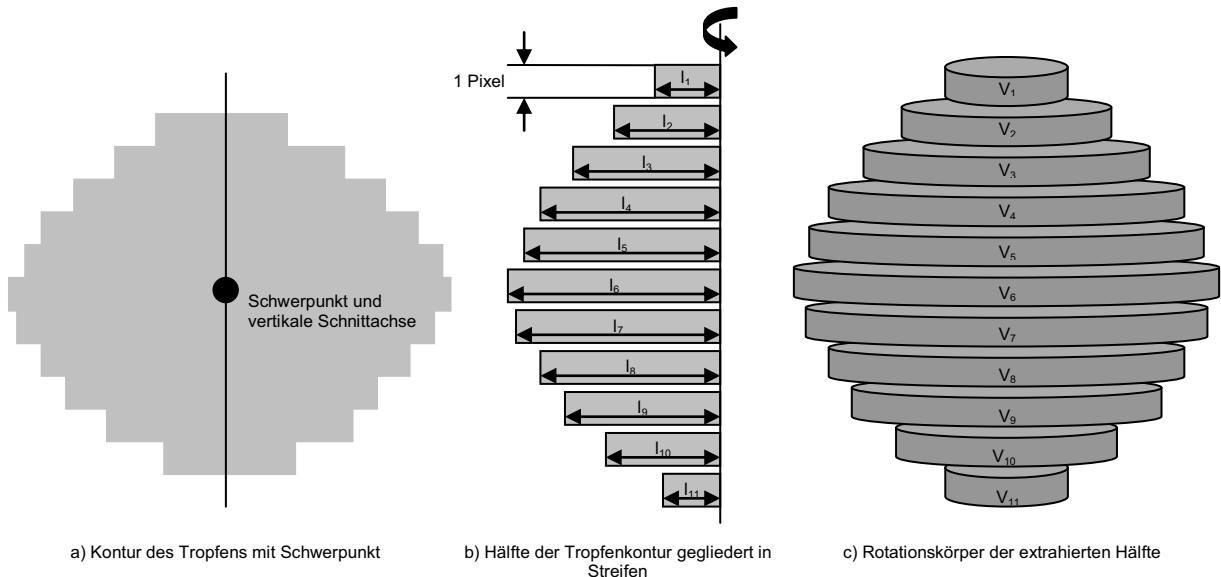
Bei der Erkennung geht es primär um Erfassung aller Tropfen. Für die spätere Analyse der Tropfensequenz ist der Vereinigungszeitpunkt interessant. Die Messung des Tropfenvolumens ist nur dann sinnvoll, wenn zum Messzeitpunkt keine Satellitentropfen existieren. Im Algorithmus wird die Erkennung der Satellitentropfen über die Zählung der Konturen im Binärbild vorgenommen.

#### 4.3.3 Phantomtropfen

Diese Bezeichnung beschreibt einen Tropfen, der aufgrund der Periodizität des Dosiervorganges und der Visualisierungstechnik mehrmals im Bild vorhanden ist. Eine Ursache dieses Effekts kann sein, dass der, quasi gleiche, Tropfen aus der vorangegangen Periode den Bildausschnitt noch nicht verlassen hat. Sobald der Tropfenabschuss mit hohen Frequenzen erfolgt und/oder die Tropfen sich sehr langsam bewegen, ist das Auftreten dieses Effektes sehr wahrscheinlich. Die zweite Möglichkeit beruht auf den in Abschnitt 4.4.2 beschriebenen Schwankungen der Abstände der Tropfen. Dabei kann es vorkommen, dass derselbe Tropfen doppelt in geringem Abstand detektiert wird. In den beschriebenen Algorithmen ist keine Erkennung von Phantomtropfen oder deren Unterscheidung von Satelliten realisiert worden.

## 4.4 Volumenberechnung aus dem Tropfenbild

Um aus der zweidimensionalen Tropfenkontur einen dreidimensionalen Körper zu berechnen, bestehen mehrere Möglichkeiten. Dabei kann aus der Kontur über die Annahme von Kugelgestalt oder Ellipsoid der Radius bzw. die 3 Achsen als Basis verwendet werden. Eine weitere und hier verwendete Methode ist das Verfahren, welches in Abbildung 50 dargestellt ist. Beide Berechnungen beruhen jedoch auf der Annahme, dass der Tropfen in Flugrichtung rotationssymmetrisch ist.



**Abbildung 50** – Prinzip der Berechnung des Tropenvolumens

Volumen einer Scheibe:

$$V_n = \pi r_n^2 \cdot d \quad (\text{Gl. 4.2})$$

d – Einheitsdicke von 1 Pixel

r – Radius der Scheibe / Breite des Streifens

Volumen des Rotationskörpers der Tropenhälfte:

$$V_{Tropfen} = \sum_{n=1}^L V_n = \sum_{n=1}^L \pi r_n^2 \cdot d \quad (\text{Gl. 4.3})$$

d – Einheitsdicke von 1 Pixel

L – Länge des Tropfens

r – Radius der Scheibe / Breite des Streifens

Für die Volumenberechnung des Rotationskörpers der jeweiligen Hälfte wird die Kontur in Streifen geschnitten. Diese Streifen verlaufen senkrecht zur Symmetriechse und besitzen die Dicke von jeweils einem Pixel. Aus diesen Streifen erfolgt anschließend die Berechnung von Scheiben gleicher Dicke. Dieser Vorgang wird nacheinander für alle Streifen der jeweiligen Hälfte durchgeführt. Danach werden die Volumina der einzelnen Scheiben aufsummiert. Das Resultat dieser Summierung entspricht dem Volumen des Tropfens. Für die andere Tropenhälfte wird dieser Vorgang analog wiederholt. Der Mittelwert aus beiden Volumina wird als das endgültige Volumen betrachtet.

Eine weitere Näherung könnte über die Berechnung einer Kugel oder eines Ellipsoiden erfolgen. Bei der Annahme einer Kugel würde die Breite der Kontur mit dem Durchmesser gleichgesetzt. Analog würden Breite und Höhe der Tropfenkontur zwei der drei benötigten Achsen liefern. Die dritte Achse ist unter Annahme von Rotationssymmetrie die Breite. Diese Methoden haben gegenüber der Aufteilung in Scheiben jedoch den Nachteil, dass die Ungenauigkeit bei der Formabweichung stets gegeben ist. Dieses Phänomen besteht auch bei der Streifenmethode, fällt jedoch verhältnismäßig nicht so stark ins Gewicht.

Voraussetzung für die Volumenberechnung sind die Kontur, deren Schwerpunkte und die Daten des „umfassenden Rechtecks“. Mit Hilfe des „umfassenden Rechtecks“ werden die Grenzen der Kontur und der Berechnung determiniert. Der Schwerpunkt dient der Festlegung der vertikal verlaufenden Symmetriearchse.

Das berechnete Volumen liegt in der Einheit Voxel (Pixel<sup>3</sup>) vor. Für die weitere Verwendung erfolgt die Umwandlung in Pikoliter mithilfe der in Abschnitt 4.1.2 angestellten Berechnungen des optischen Systems. Somit entspricht ein Voxel einem Würfel der Kantenlänge von 1,55 µm.

#### 4.4.1 Einfluss unterschiedlicher Tropfenformen

Die Berechnung des Tropfenvolumens nach dem Integrationsverfahren besitzt eine gewisse Toleranz gegenüber unterschiedlichen Tropfenformen. Bei extremen Verzerrungen der Tropfenform entstehen bei den berechneten Volumina jedoch starke Schwankungen. Möglicherweise ist die Annahme von rotationssymmetrischen Tropfen teilweise nicht zutreffend. Insbesondere zu Beginn der Flugphase fluktuiert die Form des Tropfens aufgrund der beim Abschuss auftretenden Kräfte stark und die Symmetrie ist dann nicht gegeben.

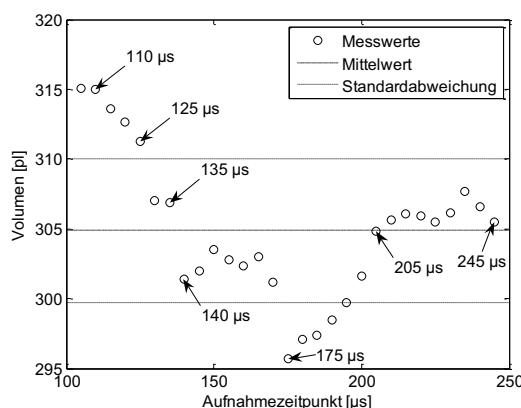
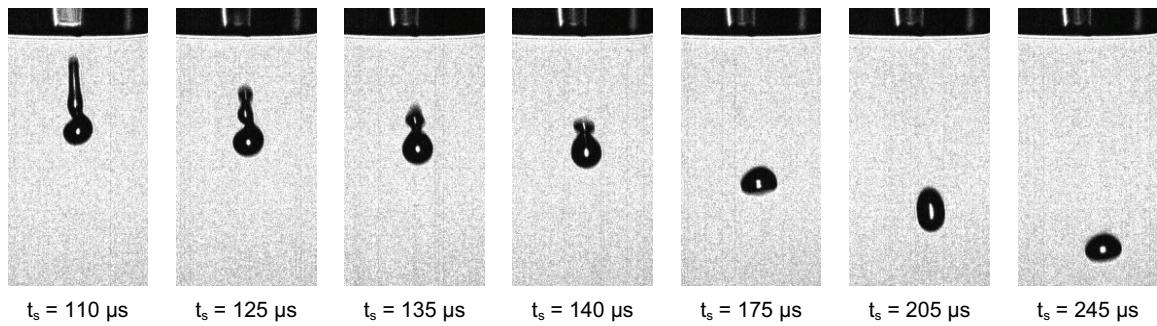


Abbildung 51 – Diagramm der Volumenschwankung unterschiedlicher Messzeitpunkten



**Abbildung 52 – Silhouetten gleicher Tropfen gleichen Volumens zu unterschiedlichen Flugabschnitten**

Eine Möglichkeit, diesen Störeffekt zu umgehen, ist den Tropfen erst aufzunehmen nach dem er eine bestimmte Strecke zurückgelegt hat. Die Tropfenform stabilisiert sich zunehmend und strebt die Form einer perfekten Kugel an. Der Nachteil dabei ist, dass die Wegstrecke die der Tropfen zurücklegen muss ca. 2 mm beträgt. Die Aufnahme des Tropfens an einer anderen Position bzw. zu einer anderen Zeit zieht Mehraufwand nach sich, da zum einen der Dosierkopf in der Höhe verfahren und zum anderen die Verzögerung der Stroboskop LED angepasst werden muss.

Eine zweite Methode besteht in der Mittelwertbildung aus Volumenwerten die während der gesamten Flugphase eines Tropfens gemessen wurden. Eine Veränderung der Nozzleposition vor der Kamera ist dabei nicht erforderlich. Dieses Verfahren wurde bei den hier durchgeföhrten Volumenmessungen eingesetzt. Mit Hilfe der Bewertung der Rundheit des Tropfens ist eine dritte Alternative, die Volumenmessung an einem definierten Punkt vorzunehmen. Dies wäre beispielsweise die Stroboskopverzögerung/Flugposition an welcher der Tropfen in der nachverfolgbaren Flugbahn die größte Rundheit besitzt. Dabei könnte sowohl die Streifenmethode als auch die Berechnung des Kugelvolumens eingesetzt werden.

#### 4.4.2 Vergrößerte Erscheinung der Tropfen

Die Messung des auf Bildverarbeitung basierenden Verfahrens liefert, bei einer Frequenz von 500 Hz und einer Leuchtdauer des Stroboskops von 5  $\mu$ s, ein um den Faktor 1,17 größeres Volumen als die Wiegung. Das Diagramm in Abbildung 53 enthält diese Messergebnisse und die dazugehörige Regressionsgeraden

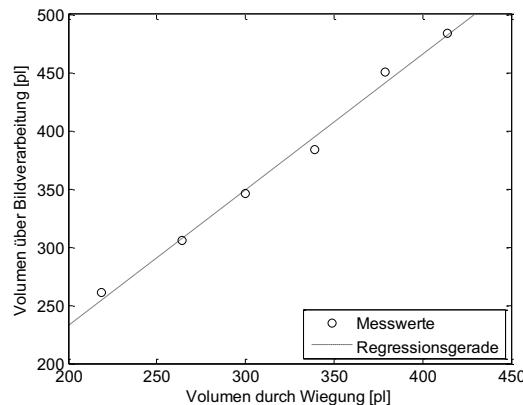


Abbildung 53 – Ergebnisse der Volumenmessung bei konstanter Frequenz

Dieses Verhalten ist eine Konsequenz des Visualisierungsprinzips. Die verwendete Kamera verfügt über keinen schnellen Shutter und keine Triggerung. Daher ist die Dauer des Stroboskopblitzes entscheidend für die Größe der Erscheinung der Tropfen. In Abbildung 54 ist schematisch dargestellt, wie sich das Kamerabild aus den sich überlagernden bewegten Tropfen zusammensetzt.

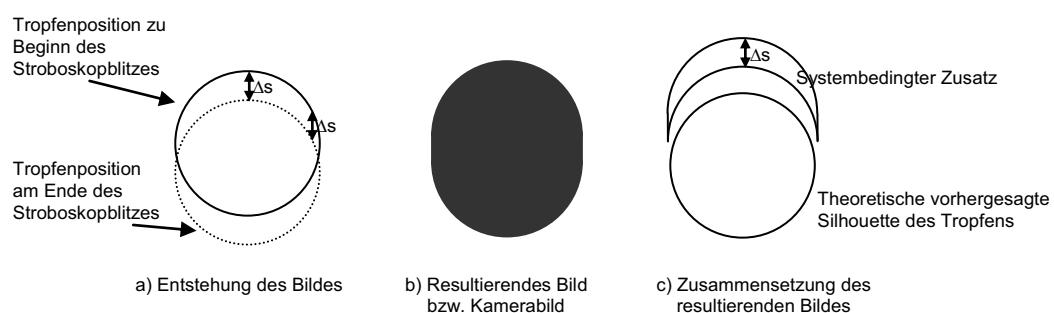


Abbildung 54 – Schema der Zusammensetzung des visualisierten Tropfens

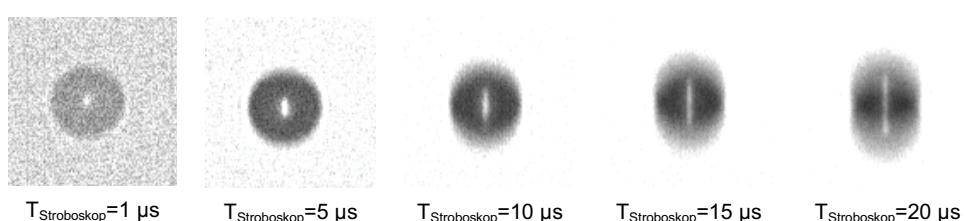


Abbildung 55 – Aufnahmen von Tropfen mit unterschiedlichen Längen des Stroboskopblitzes

Die nachfolgende Beispielrechnung zeigt ansatzweise wie sich das Volumen aus den angestellten Überlegungen und den Messwerten zusammensetzt.

Messwerte des Volumens:

Wiegung 300 pl

Bildverarbeitung 350 pl

Umrechnungsfaktor aus linearer Regression: 1,17

Aufteilung des visualisierten Tropfen Bildes:

300 pl Kernelement

50 pl Systematisch bedingter Anhang

Ansatz: Annahme eines runden Tropfens

Berechnung des Radius des Kernelements

$$r = \sqrt[3]{\frac{3V}{4\pi}} = \sqrt[3]{\frac{3 \cdot 300 \text{ pl}}{4\pi}} \rightarrow r = 41,5 \mu\text{m}$$

Berechnung der Höhe des entstandenen Zusatzes aus dem Radius

$$V_{cylinder} = \pi r^2 h \rightarrow h = \frac{V_{cyl}}{\pi r^2} = \frac{50 \text{ pl}}{\pi \cdot (41,5 \mu\text{m})^2} = 9,24$$

Die Berechnete Höhe entspricht ca. 9  $\mu\text{m}$ , welches die Distanz widerspiegelt, die sich der Tropfen während der Leuchtzeit des Stroboskops bewegt.

Trotz der Ergebnisse ist diese Rechnung nur eine grobe Schätzung. Mit der Einbeziehung der Tropfenbewegung müsste sich die gemessene Tropfengröße proportional zur Tropfengeschwindigkeit verhalten. Es konnte jedoch kein signifikanter Einfluss der Tropfengeschwindigkeit nachgewiesen werden. Eine mögliche Erklärung ist, dass ein Kompensationseffekt auftritt. Bei schneller fliegenden Tropfen führt demzufolge die Überlagerung der Bilder zu einem kontrastärmeren oberen Rand als dies bei langsamer fliegenden Tropfen der Fall ist. Dies hat zur Folge, dass die Tropfenerkennung den Verlauf des Randes nicht erkennt und die resultierende Tropfenkontur kleiner wird.

#### 4.4.3 Frequenzabhängigkeit des Korrekturfaktors

Erfolgt die Messung bei verschiedenen Frequenzen, so erhöht sich der systematische Fehler. Die Messwerte in Abbildung 56 verdeutlichen dies. Auch für diesen Effekt liegt die Ursache im Visualisierungsverfahren.

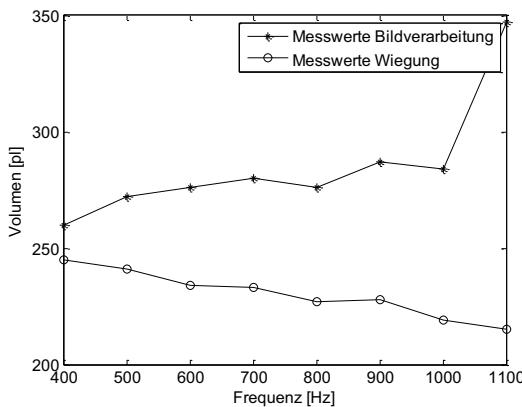


Abbildung 56 – Diagramm des Systematischen Fehlers in Abhängigkeit der Frequenz

Die Bildrate der verwendeten Kamera, Sony XC-ES 50, beträgt 30 Bilder pro Sekunde. Die Kamera wird nicht über das Stroboskopsignal getriggert. Die kleinstmögliche Shutterzeit liegt mit  $100 \mu\text{s}$  weit über der Leuchtdauer der Stroboskop LED. Die Anzahl der sich im Bild überlagernden Tropfen ist von der Dosierfrequenz abhängig [118].

Tropfenrate [Hz]	400	500	600	800	1000	1500	2000	3000	4000	5000
Überlagernde Tropfen	13	16	20	26	33	50	66	100	133	166

Tabelle 10 – Anzahl der sich überlagernden Tropfen im Bild in Abhängigkeit der Tropfenrate

Mit zunehmender Anzahl der sich überlagernden Tropfen in einem Bild gewinnt ein der im Folgenden beschriebene Effekt an Einfluss. Der Abstand der Tropfen in den erzeugten Tröpfchenstrahl kann periodisch variieren. Mit zunehmender Frequenz bewirkt dieser Effekt, dass der Tropfen weitaus größer erscheint als dies ohnehin schon der Fall ist. Das Auftreten dieses Phänomens ist jedoch nicht zwingend und nicht vorhersagbar. Eine Detektion mit den hier gezeigten Methoden ist nicht möglich.

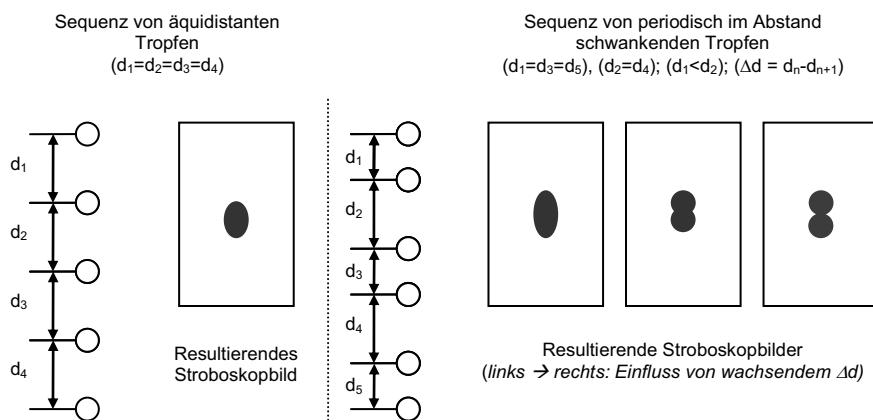


Abbildung 57 – Schema der Fehlerkennung durch hohe Tropfenraten

Die vorgenommenen Messungen (siehe Abbildung 56) zeigen, dass bei Frequenzen oberhalb von 800 Hz der systematische Fehler aufgrund dieses Effekts, stark zunimmt. Bedingt durch die Tatsache, dass die Schwankung in der Tropfendistanz mit den hier verwendeten Verfahren nicht detektiert werden kann, ist die Volumenmessung mit dem gezeigten Verfahren oberhalb dieser Frequenzen nicht empfehlenswert.

#### 4.4.4 Unsicherheit der Randerfassung

Neben den Unsicherheiten der Aufnahmetechnik hat auch das Verfahren aus der Bildverarbeitung einen Einfluss auf den Messfehler. Entscheidendes Gewicht übt die Randerfassung aus. Aufgrund dieser Randdaten werden die Scheiben aus denen sich das Tropfenvolumen zusammensetzt, berechnet. Die Tabelle 11 zeigt am Beispiel einer Kugelberechnung, in wie weit sich die Fehlerfassung beim Radius auf das Gesamtvolume auswirkt.

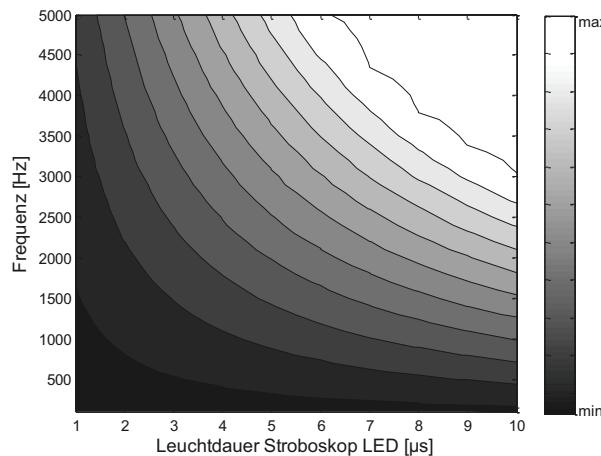
Tropfenvolumen	Durchmesser (gerundet)	Volumenunterschied bei Durchmesser – 1	Volumenunterschied bei Durchmesser + 1
100 pl	37 Pixel	7,9%	8,3%
150 pl	43 Pixel	6,8%	7,1%
200 pl	47 Pixel	6,2%	6,5%
<b>250 pl</b>	<b>50 Pixel</b>	<b>5,9%</b>	<b>6,1%</b>
<b>300 pl</b>	<b>54 Pixel</b>	<b>5,5%</b>	<b>5,7%</b>
<b>350 pl</b>	<b>56 Pixel</b>	<b>5,3%</b>	<b>5,5%</b>
400 pl	59 Pixel	5,0%	5,2%
450 pl	61 Pixel	4,8%	5,0%
500 pl	64 Pixel	4,6%	4,8%

**Tabelle 11** – Schätzung der Volumenabweichung bei Fehlerhafter Randerfassung

#### 4.4.5 Beleuchtung durch die Stroboskop LED

Ein weiterer Einflussfaktor ist das Umgebungslicht. Vor allem Schwankungen lassen sich schwer berücksichtigen. Um den Einwirkungen von äußeren Lichteinflüssen entgegenzuwirken, empfiehlt sich ein Gehäuse. Bei den hier durchgeföhrten Versuchen wurde die gesamte Anlage durch ein lichtundurchlässiges Gehäuse abgeschirmt.

Die notwendige Helligkeit wird vom Visualisierungssystem selbst erzeugt. Die Leuchtdauer und Frequenz der Stroboskop LED sind somit maßgeblich verantwortlich für die Helligkeit des Bildes. Die Helligkeit des Gesamtbildes ist in Abbildung 58 dargestellt. Die Sättigung ist im oberen Wertebereich beider Achsen, d. h. bei hohen Frequenzen und längeren Leuchtdauern, erreicht.



**Abbildung 58** – Beleuchtungsintensität in Abhängigkeit von Frequenz und Leuchtdauer der Stroboskop LED

Da die Helligkeit und die somit veränderten Kontrastverhältnisse im Bild Einfluss auf das Tropfenerkennungsverfahren haben, ist es empfehlenswert bei möglichst konstanter Beleuchtung zu messen. Sowohl bei hohen als auch bei geringen Intensitäten der Lichtquelle verringert sich das Verhältnis der Graustufenwerte zwischen dem des Hintergrundes und dem des Tropfens. Das Erkennungsverfahren scheitert in diesen Grenzbereichen trotz einer gewissen Robustheit bei der Randerfassung. Für die Messung mit möglichst geringem Fehlereinfluss ist jedoch die Normierung der Helligkeit notwendig. Daher empfiehlt es sich die Messungen bei konstanter Blenden- und Kameraeinstellung sowie gleichbleibenden Stroboskop Parametern durchzuführen.

## 4.5 Messungen zur Überprüfung

Um die Ergebnisse zu überprüfen und eine Allgemeingültigkeit sicherzustellen, sind die folgenden Testreihen ausgewählt worden. Für die Normierung der Messungen wurden die folgenden Bedingungen eingehalten.

- Tropfen optimal fokussiert
- Messung nach möglichst langer Flugphase
- Gehäuse geschlossen (Abschirmung vor Umgebungslicht)

Aufgrund der in Abschnitt 4.4 beschriebenen Abhängigkeit des systematischen Fehlers von Dosierfrequenz, Stroboskopfrequenz und Leuchtdauer werden diese Werte nicht variiert. Dies stellt jedoch keine Einschränkung für den regulären Betrieb dar.

Kamera	Bildrate der Kamera Minimale Shutterzeit Triggerung & Synchronisation	30 Bilder/s (Full Frame) 100 µs (nicht verwendet) keine
Ansteuersignal des Piezoelementes	Dosierfrequenz	500 Hz
Stroboskop	Stroboskopfrequenz Leuchtdauer der Stroboskop LED	500 Hz 5 µs
Optik	Umrechnungsfaktor Pixel : µm	1 : 1,55

**Tabelle 12** – Zusammenfassung der Parameter des Stroboskop Kamerasytems für die normierte Messung

Als Referenz für die Volumenmessung durch die vorgestellte Methode dient die gravimetrische Erfassung. Um den Anwendungsbereich exemplarisch abzudecken, wird die Dosierung mit den folgenden Substanzen durchgeführt.

Medium	Dichte	Viskosität
Wasser	1 g/cm <sup>3</sup>	1 mPa s
DMSO	1,10 g/cm <sup>3</sup>	1,99 mPa s
NMP	1,03 g/cm <sup>3</sup>	1,65 mPa s
Acetonitril	0,63 g/cm <sup>3</sup>	0,57 mPa s
Dichlormethan	1,33 g/cm <sup>3</sup>	0,58 mPa s
Methanol	0,76 g/cm <sup>3</sup>	0,56 mPa s

**Tabelle 13** – Übersicht der für Testzwecke verwendeten Flüssigkeiten und deren Eigenschaften

#### 4.5.1 Gravimetrische Messung als Referenz

Die Gleichförmigkeit der Tropfen im Strahl ist bei angepassten Dosierparametern stets gegeben. Zum einen kann aufgrund der Methode der Tropfenerzeugung und zum anderen aufgrund der Messergebnisse des verarbeiteten Kamerabildes diese Aussage gemacht werden. Um den Fehler durch Verdunstung zu minimieren, wird in ein bereits mit dem jeweiligen Lösungsmittel gefülltes Eppendorf-Tube dosiert. Die Dosierhöhe über dem Ziel wird im Bereich von 0,5 mm – 1,5 mm gewählt, so dass eine Verdunstung während des Tropfenfluges nahezu ausgeschlossen werden kann.

Durch die elektronische Steuerung ist sichergestellt, dass die gewünschte Anzahl an Impulsen erzeugt wird. Aufgrund der bisher gesammelten Erkenntnis kann bei angepassten Parametern davon ausgegangen werden, dass mit jedem Impuls die Tropfenablösung erfolgt. Ein Einzelnachweis wird jedoch nicht vorgenommen. Aufgrund dieser Gegebenheiten ist prinzipiell sichergestellt, dass sich die abgegebene Flüssigkeitsmenge quantitativ aus dem Produkt aus Tropfvolumen und Tropfenanzahl zusammensetzt.

Die folgenden Messreihen bestehen aus jeweils 15 Einzelmessungen, unter Verwendung der gleichen Nozzle bei gleichen Dosierparametern zeigt Tabelle 14 die gravimetrisch ermittelten Volumina von Wasser bei unterschiedlichen Tropfenzahlen. Um den systematischen Fehler zu ermitteln, werden die gemessenen Volumen aus optischer und gravimetrischer Methode ins Verhältnis gesetzt.

Anzahl Tropfen	5000	7.500	10.000	12.500	15.000
Anzahl Messungen	15	15	15	15	15
Mittelwert [mg bzw. $\mu\text{l}$ ]	0,72 mg	1,12 mg	1,48 mg	1,85 mg	2,24 mg
Std. Abweichung	0,0372	0,0373	0,0312	0,0398	0,0319
Std. Abweichung %	5,2%	3,3%	2,1%	2,2%	1,4%
Volumen optisch	200 $\mu\text{l}$				
Verhältnis Optisch/Gravimetrisch	1,40	1,33	1,35	1,35	1,34

**Tabelle 14** – Gravimetrische Messung verschiedener Tropfenmengen unter konstanten Bedingungen

Für Massen kleiner als 0,5 mg ist zu beachten, dass die Messbereichsgrenzen der Waage erreicht werden. Dieser Umstand wird in den nachfolgenden Messungen berücksichtigt und ggf. die Anzahl der Tropfen, und damit die resultierende Masse, erhöht.

#### 4.5.2 Einfluss der Verdunstung

Bei dem Umgang mit den sehr kleinen Mengen hat die Verdunstung einen großen Einfluss auf das Messergebnis. Um den Fehler zu minimieren, wird ein bereits vorgefülltes Messgefäß mit geringer Fläche zum Außenkontakt gewählt. Dabei wird stets in die bereits vorhandene Menge hineindosiert. Aufgrund der hohen Flüchtigkeit einzelner organischer Lösungsmittel kann die gravimetrische Methode jedoch nicht bei allen Flüssigkeiten angewendet werden. Das nachfolgende Diagramm zeigt die aufgenommenen Verdunstungskurven für das hier verwendete Messgefäß.

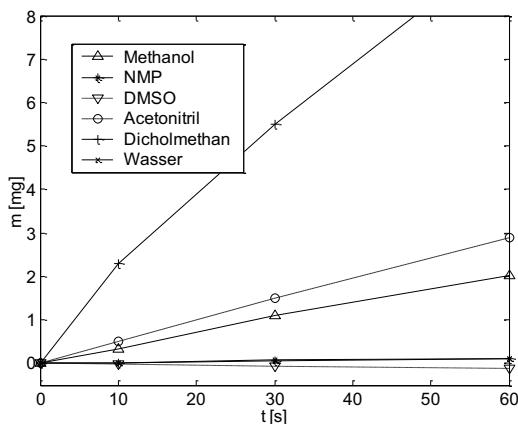


Abbildung 59 – Massenverlust durch Verdunstung aus einem Eppendorf-Tube unter Raumbedingungen

Während bei Wasser, NMP und DMSO die Änderung der Masse sich in einem Bereich von 2% bis 5% der dosierten Menge bewegt, liegen bei den anderen, sehr leicht flüchtigen, Lösungsmitteln die verdunsteten Volumen im Bereich der in diesem Zeitraum dosierbaren Mengen oder weit darüber. Es verdunsten dabei Mengen von 1 mg - 5 mg in 30 s. Dies entspricht bei einer erwarteten Menge von 1mg – 1,5 mg ca. 100%-500%. Bei DMSO kommt es aufgrund der hygroskopischen Eigenschaft dazu, dass die Masse, im akzeptablen Rahmen, um maximal 5% der erwarteten Menge von 1 mg - 1,5 mg zunimmt.

#### 4.5.3 Resultate unterschiedlicher Lösungsmittel

Bei den nchfolgend durchgeführten Untersuchungen wurden Messreihen mit den in Tabelle 13 aufgeführten Flüssigkeiten und verschiedenen Nozzlen durchgeführt. Die ausgewählten Nozzlen besitzen die Durchmesser 50 µm und 70 µm. Um den direkten Vergleich zwischen Nozzlen gleichen Durchmessers vornehmen zu können, sind zwei Nozzlen mit dem Durchmesser 50 µm ausgewählt worden.

Die Messungen bei Wasser, NMP und DMSO sind sowohl optisch als auch gravimetrisch erfolgt. Bei der optischen Messung wurde der Mittelwert über die jeweils letzten 32 Einzelbilder bzw. der zugehörigen Volumen vorgenommen. Für die Wägung setzt sich jedes dieser Resultate aus 15 Einzelmessungen zusammen. Um zusätzliche Sicherheit bei der Messung zu erhalten wurde die gravimetrische Bestimmung, je Nozzle und Flüssigkeit, mit unterschiedlichen Tropfenzahlen vorgenommen. Die Anzahl der Tropfen für die erste Messung wurde auf 10.000 festgelegt. Die Tropfenzahl der zweiten Messung, richtet sich nach dem ermittelten Tropfenvolumen aus der Ersten. Besteht das Risiko bei geringen Massen in die Messbereichsgrenzen der Waage zu gelangen wird die Tropfenzahl auf 15.000 erhöht. Ist dies nicht der Fall werden 5.000 Tropfen dosiert, dadurch wird der Messvorgang beschleunigt und der Verdunstung entgegengewirkt.

Die Dosierparameter wurden so abgestimmt, dass eine stabile Tropfenbildung gemäß den festgelegten Gütekriterien erfolgt. Als Dosierfrequenz wurden stets 500 Hz verwendet. In der nachfolgenden Übersicht befinden sich die Messwerte für Wasser, DMSO und NMP.

<b>Wasser</b>	Nozzle 771 Ø 70 µm			Nozzle 951 Ø 50 µm			Nozzle 965 Ø 50 µm			
Dosierparameter	U = 86V; T = 41 µs			U = 86 V; T = 41 µs			U = 81V; T = 54 µs			
Optische Messung	Einzelbilder	Mittelwert	Std. – Abw.	Einzelbilder	Mittelwert	Std. – Abw.	Einzelbilder	Mittelwert	Std. – Abw.	
	32	310 pl	0,37%	32	260 pl	0,47%	32	330pl	0,41%	
Gravimetrische Messung	Anzahl Tropfen	Mittelwert	Std. Abw.	Anzahl Tropfen	Mittelwert	Std. Abw.	Anzahl Tropfen	Mittelwert	Std. Abw.	
Messung 1:	5.000	1,10 mg	0,041 mg (3,7%)	10.000	1,48 mg	0,031 mg (2,11%)	5.000	1,27 mg	0,38 mg (2,98%)	
Messung 2:	10.000	2,38 mg	0,048 mg (2%)	15.000	2,34 mg	0,032 mg (1,43%)	10.000	2,51	0,40 mg (1,6%)	
Volumen über Dichte	Messung 1		Messung. 2		Messung 1		Messung. 2		Messung 1	
Gesamtvolumen:	1,10 µl		2,38 µl		1,48 µl		2,24 µl		1,27 µl	
Tropfenvolumen:	220 pl		238 pl		148 pl		149 pl		254 pl	
Volumenverhältnis (Gravimetrisch/Optisch)	1,41		1,30		1,35		1,34		1,30	

<b>DMSO</b>	Nozzle 771 Ø 70 µm			Nozzle 951 Ø 50 µm			Nozzle 965 Ø 50 µm			
Dosierparameter	U = 120V; T = 46 µs			U = 100V; T = 18 µs			U = 77V; T = 24 µs			
Optische Messung	Einzelbilder	Mittelwert	Std. – Abw.	Einzelbilder	Mittelwert	Std. – Abw.	Einzelbilder	Mittelwert	Std. – Abw.	
	32	150 pl	0,75%	32	80 pl	1,17%	32	40pl	1,59%	
Gravimetrische Messung	Anzahl Tropfen	Mittelwert	Std. Abw.	Anzahl Tropfen	Mittelwert	Std. Abw.	Anzahl Tropfen	Mittelwert	Std. Abw.	
Messung 1:	10.000	0,99 mg	0,036 mg (2,43%)	10.000	0,55 mg	0,034mg (6,8%)	10.000	0,26 mg	0,039 mg (15,03%)	
Messung 2:	15.000	1,46 mg	0,048 mg (2%)	15.000	0,82 mg	0,029 mg (4,16%)	15.000	0,39 mg	0,309 mg (10,05%)	
Volumen über Dichte	Messung 1		Messung. 2		Messung 1		Messung. 2		Messung 1	
Gesamtvolumen:	1,08 µl		1,61 µl		0,61 µl		0,90 µl		0,29 µl	
Tropfenvolumen:	108 pl		107 pl		61 pl		60 pl		29 pl	
Volumenverhältnis (Gravimetrisch/Optisch)	1,38		1,40		1,31		1,34		1,40	

**Tabelle 15** – Vergleichsmessungen Optisch und Gravimetrisch unterschiedlicher Lösungsmittel

<b>NMP</b>	Nozzle 771 Ø 70 µm			Nozzle 951 Ø 50 µm			Nozzle 965 Ø 50 µm			
Dosierparameter	U = 118; T = 43 µs			U = 93V; T = 28 µs			U = 77V; T = 24 µs			
Optische Messung	Einzelbilder	Mittelwert	Std. - Abw.	Einzelbilder	Mittelwert	Std. - Abw.	Einzelbilder	Mittelwert	Std. - Abw.	
	32	90 pl	1,05%	32	50 pl	1,67%	32	40pl	1,89%	
Gravimetrische Messung	Anzahl Tropfen	Mittelwert	Std. Abw.	Anzahl Tropfen	Mittelwert	Std. Abw.	Anzahl Tropfen	Mittelwert	Std. Abw.	
Messung 1:	10.000	0,65 mg	0,034 mg (5,30%)	10.000	0,38 mg	0,036mg (9,68%)	10.000	0,29 mg	0,026 mg (9,01%)	
Messung 2:	15.000	1,46 mg	0,034 mg (3,63%)	15.000	0,55 mg	0,030 mg (5,45%)	15.000	0,45 mg	0,309 mg (10,05%)	
Volumen über Dichte	Messung 1		Messung. 2		Messung 1		Messung. 2		Messung 1	
Gesamtvolumen:	0,66 µl		0,95 µl		0,38 µl		0,56 µl		0,29 µl	
Tropfenvolumen:	66 pl		63 pl		38 pl		37 pl		29 pl	
Volumenverhältnis (Gravimetrisch/Optisch)	1,37		1,41		1,30		1,35		1,36	

**Tabelle 15b** – Vergleichsmessungen Optisch und Gravimetrisch unterschiedlicher Lösungsmittel

Bei den folgenden ebenfalls sehr häufig verwendeten Lösungsmitteln, konnte aufgrund der schnellen Verdunstung aus dem Eppendorf-Tube das Volumen durch das Wägeverfahren nicht zuverlässig erfasst werden. Mit den ausgewählten Nozzlen ist jedoch eine Dosierung möglich.

<b>Acetonitril</b>	Nozzle 771 Ø 70 µm			Nozzle 951 Ø 50 µm			Nozzle 965 Ø 50 µm		
Dosierparameter	U = 107 V; T = 41 µs			U = 85V; T = 21 µs			U = 85V; T = 42 µs		
Optische Messung	Einzelbilder	Mittelwert	Std. - Abw.	Einzelbilder	Mittelwert	Std. - Abw.	Einzelbilder	Mittelwert	Std. - Abw.
	32	110 pl	1,15%	32	95 pl	1,17%	32	140pl	0,89%

<b>Dichlormethan</b>	Nozzle 771 Ø 70 µm			Nozzle 951 Ø 50 µm			Nozzle 965 Ø 50 µm		
Dosierparameter	U = 118; T = 43 µs			U = 93V; T = 28 µs			U = 85 V; T = 24 µs		
Optische Messung	Einzelbilder	Mittelwert	Std. - Abw.	Einzelbilder	Mittelwert	Std. - Abw.	Einzelbilder	Mittelwert	Std. - Abw.
	32	90 pl	1,10%	32	50 pl	1,89%	32	40pl	2,1%

<b>Methanol</b>	Nozzle 771 Ø 70 µm			Nozzle 951 Ø 50 µm			Nozzle 965 Ø 50 µm		
Dosierparameter	U = 118 V; T = 46 µs			U = 91V; T = 43 µs			U = 69V; T = 47 µs		
Optische Messung	Einzelbilder	Mittelwert	Std. - Abw.	Einzelbilder	Mittelwert	Std. - Abw.	Einzelbilder	Mittelwert	Std. - Abw.
	32	95 pl	2,5%	32	80 pl	1,57%	32	140pl	1,59%

**Tabelle 16** – Übersicht der optischen Messung leicht flüchtiger Lösungsmittel

Ein genereller Vergleich der Nozzlen gestaltet sich schwierig, da für aussagefähige Werte die Ansteuerung mit den gleichen Parametern erfolgen müsste. Für die Tropfenbildung gemäß der definierten Kriterien ist jedoch die Feinabstimmung notwendig. Selbst bei den Nozzlen des gleichen Durchmessers ergeben sich danach unterschiedliche Parameter. Die für einen Vergleich notwendige Übereinstimmung kann kaum erreicht werden, da keine grenzenlose Variation dieser Einstellungen ohne Konsequenzen für den Tropfenflug möglich ist.

Für die optische Methode bzw. auf Bildverarbeitung basierende das Tropfenvolumen zu messen, lässt die Aussage treffen, dass unterschiedliche Eigenschaften der Flüssigkeiten keinen Einfluss auf das Messergebnis haben.

#### 4.5.4 Statistik

##### Auswertung des optischen Verfahrens

Um den Einfluss von Messfehler gering zu halten, wird für das Volumen ein Mittelwert aus den letzten 32 Bildern ermittelt. Die Untersuchung auf Normalverteilung mit dem Test von Lilliefors, einer Abwandlung des Kolmogorov-Smirnov Tests bei geringen Anzahlen an Messpunkten, wird vorgenommen. Für ein Signifikanzniveau von 5% kann die Nullhypothese nach diesem Test beibehalten werden. Somit erfolgt die Bestimmung von Mittelwert und Standardabweichung. Bei stabiler Tropfenbildung liegt die Standardabweichung stets zwischen 0,6% und 1,5% des Tropfenvolumens [119].

##### Verhältnis der unterschiedlich bestimmten Volumen

Aus den vorgenommenen Vergleichsmessungen kann der Mittelwert des Verhältnisses zwischen den beiden, auf unterschiedliche Weise gemessenen, Volumina bestimmt werden. Zum einen aus der Wägung mit Hilfe der Dichte und zum anderen aus dem vorgestellten optischen Verfahren. Das optische Verfahren ist mit einem systematischen Fehler, erläutert in 4.4.2 bis 4.4.5, behaftet. Die Wägung gilt in diesem Fall als Referenz um die Abweichung zu bestimmen. Die Insgesamt 23 Messreihen unter konstanten Beleuchtungsbedingungen und konstanten Kameraeinstellungen und aufgenommen wurden liefern das folgende Ergebnis.

Anzahl Messreihen:	23
Mittelwert:	1,35
Standard Abweichung:	0,04 (2,93%)

Die Abweichungen des Korrekturfaktors von hier 1,35 und 1,17 aus den Messungen aus Abschnitt 4.4.2 lassen sich dadurch erklären, dass zwischen den Messungen ein neues Gehäuse konstruiert wurde. Dementsprechend erfolgte eine Anpassung der Kameraeinstellungen.

Dennoch haben diese Werte ausschließlich Gültigkeit für die Dosierfrequenz und Stroboskopfrequenz von 500 Hz bei einer Leuchtdauer des Stroboskops von 5  $\mu$ s. Für höhere Dosierfrequenzen ist zu erwarten und bereits in Abschnitt 4.4.3 experimentell bestätigt, dass sowohl Quotient aus dem optisch gemessenen und dem realen Volumen als auch dessen Streuung zunehmen. Dieser Effekt basiert auf dem Prinzip der Visualisierung der Tropfen.

#### 4.5.5 Fazit der gesamten Messunsicherheit

Die Messunsicherheit des Stroboskops, die Überlagerung mehrerer Tropfen auf einem Bild und die Bewegung der Tropfen bewirken eine Messunsicherheit von ca. 10%. Hinzu kommt die Unsicherheit der Randerfassung. Diese ist zum einen auf die Schwellwertbestimmung und zum anderen auf die Auflösung der CCD-Sensoren der Kamera (8-Bit) zurückzuführen. Das lineare Fehlerfortpflanzungsgesetz lässt sich nicht anwenden, da die Messungen und die Weiterverarbeitung der Messwerte nicht unabhängig voneinander sind.

Zusammenfassend entsteht aufgrund der Aufnahmetechnik ein systematischer Fehler, der durch die folgenden Kenngrößen maßgeblich bestimmt wird.

- Leuchtdauer der Stroboskop-LED
- Frequenz der Tropfen
- Frequenz des Stroboskops
- Bildrate der Kamera

Um den Fehler möglichst konstant zu halten, werden die Messungen hier bei stets der gleichen Dosierfrequenz (500 Hz) durchgeführt. Beim vorliegenden System entspricht die Stroboskopfrequenz der Tropfenrate, da diese Systeme gekoppelt sind. Ebenso wird die Leuchtdauer der Stroboskop LED ( $5 \mu\text{s}$ ) nicht variiert. Um weitere Einflüsse durch Umgebungslicht zu vermeiden, wurde ein Gehäuse konstruiert. Die verwendete Flüssigkeit spielt dabei keine Rolle. Die gesamte Messunsicherheit der aktuellen Konfiguration, unter Einhaltung der genannten und für die Messungen aufgestellten Bedingungen, wird daher auf ca. 10% – 15% geschätzt.

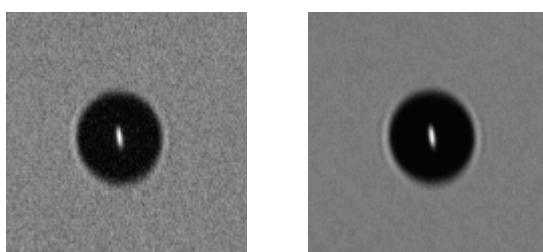
## 4.6 Verbesserung der Bildqualität

Spezielle Verfahren in der Bildverarbeitung ermöglichen es, bestehende Unschärfen herauszurechnen und das Bild zu schärfen. Da an der Aufnahmetechnik bzw. der Hardware keine Veränderungen erfolgen, beruhen diese Maßnahmen oft Bildverarbeitungsalgorithmen. Jedoch können auch diese den systematischen Fehler nicht reduzieren [120].

### 4.6.1 Verbesserung des Signal-Rausch Verhältnis

Ein gängiges Verfahren in der Signalverarbeitung ist es durch Mittelwertbildung das Signal-Rausch-Verhältnis zu verbessern. Das gleichverteilte Rauschen wird bei der Summierung kaum angehoben. Die Anhebung des Nutzsignals mit anschließender Mittelwertbildung bewirkt eine Verbesserung. Anwendbar ist dieses Verfahren jedoch nur, wenn das Signal keine Veränderungen erfährt. Dies ist für die Stroboskopaufnahmen bei konstanter Verzögerungszeit zwischen Stroboskop und Spannungsimpuls auf den Piezokristall gegeben.

Das Mittelwertbild kann über den gleichen Algorithmus zur Tropfenerkennung verarbeitet werden. Aufgrund des weniger verrauschten Randes bei der statistischen Auswertung mehrerer rauschreduzierter Bilder ist eine geringere Standardabweichung zu verzeichnen. Für die Sequenzanalyse ist dieses Verfahren jedoch nicht geeignet, da die Messung erst nach der Mittelung von 16 Einzelbildern erfolgen kann. Der dadurch erforderliche Zeitaufwand pro Messpunkt beträgt ca. 1 s und bewirkt damit eine nicht akzeptable Messdauer.



**Abbildung 60** – Einzelbild (links) und gemitteltes Bild aus 16 Einzelbildern (rechts)

#### 4.6.2 Rückfaltung

Dieses Verfahren basiert auf der Annahme, dass ein ursprünglich hochqualitatives Bild mit einer bekannten Funktion gefaltet wurde und das Ergebnis ein Bild schlechterer Qualität ist. In diesem Fall wird angenommen, dass die Qualität des aufgenommenen Bildes aufgrund einer Faltung, verursacht durch die Aufnahmebedingungen, verringert wurde. Die Umkehrung der Faltung, die Rückfaltung, würde somit ein qualitativ hochwertigeres Bild herstellen. Es besteht jedoch das Problem, dass das Aussehen des erwarteten Bildes nicht sicher definiert ist. Somit kann – mit dieser Unkenntnis – über die Güte der Rückfaltung keine Aussage getroffen werden. Des Weiteren ist die Point-Spread-Funktion, welche der Rückfaltung zu Grunde liegt unbestimmt. Es existieren jedoch Algorithmen für die „Blind Deconvolution“. Dabei wird die die Point-Spread-Funktion automatisch bestimmt. Die Bewertung der Güte jedoch kann auch bei einer mit dieser Methode durchgeführten Rückfaltung nicht vorgenommen werden. Aus dem Grund und wegen der zusätzliche Rechenzeit dieses Verfahrens, erfolgt hier keine weitere Anwendung [121].

## 4.7 Unberücksichtigte Aspekte

Mit der angewendeten Technik können einzelne Aspekte nicht näher untersucht werden. Hierzu gehören insbesondere das Zählen der Tropfen beim Dosievorgang und die Messung der Charakteristika des ersten Tropfens. In der Literatur wird dieser Umstand das „first drop problem“ genannt. Für die Dosierung einer höheren Anzahl spielt dieser Effekt keine Rolle, da selbst bei enormer Abweichung des ersten Tropfens keine statistische Signifikanz vorliegt. Bei Vorgängen hingegen, die nur die Abgabe eines einzelnen Tropfens benötigen, könnte diese Unbekannte problematisch sein. Es lassen sich mit der verwendeten Methode keine Aussagen über Existenz, Größe, Flugbahn oder Satelliten des ersten Tropfens treffen. Geeignete Methoden wären die Verwendung einer Hochgeschwindigkeitskamera oder der Testdosierung auf Markerpapier [109].

### Zählung der Tropfen

Dieses Verfahren dient der absoluten Dosierkontrolle. Dabei kommt es ausschließlich auf die Registrierung der Tropfen an. Diese Methode ist vorteilhaft, wenn diese eine permanente Überwachung der Nozzle gewährleisten kann. Möglich ist ein direkter Vergleich zwischen dem Ist und dem Sollwert der abgegebenen Menge an Tropfen. Bei der Kalibrierung ließen sich so Störungen erkennen. Beim Dosieren auf das Ziel würden auch ohne Nachkontrolle Dosierfehler detektiert werden können. In einem Fehlerfall könnte sofort eine Beseitigung bzw. Neukalibrierung erfolgen. Auf dem Markt sind diese Systeme auf Basis von Lichtschranken erhältlich [122].

### Kontinuierliche Erregung und Einschwingvorgänge

Ähnlich wie bei der Unkenntnis des ersten Tropfens können ggf. Einschwingvorgänge welche die ersten Tropfen betreffen nicht festgestellt werden. Eine unmittelbare Notwendigkeit bei der Dosierung von einer größeren Anzahl an Tropfen liegt nicht vor. Für Kalibriervorgänge und Zwecke der Identifikation des Systemverhaltens sind diese Daten jedoch von Bedeutung. Bei den hier durchgeföhrten Betrachtungen wird stets von kontinuierlicher Anregung ausgegangen. Die Messung des Einzeltropfens ist mit der verwendeten Messtechnik nicht möglich.

## 4.8 Verwendung von Hochgeschwindigkeitskameras

Der bestehende systematische Fehler, welcher aus der verwendeten Visualisierungstechnik resultiert, könnte durch den Einsatz einer digitalen Hochgeschwindigkeitskamera drastisch reduziert werden. Dabei wird insbesondere angestrebt, unverfälschte Informationen über die folgenden Punkte zu gewinnen [123].

- Aufnahme eines einzelnen Tropfens
- Exakte Volumenberechnung
- Aufnahme der Austritts- und Flugphase

Es sind zwei technische Aspekte einer Hochgeschwindigkeitskamera gegenüber einer Standardkamera besonders von Bedeutung. Zum einen der schnelle Shutter und zum anderen die Möglichkeit der Aufnahme von Bildsequenzen mit sehr hohen Abtastraten.

Damit die Aufnahme einer Hochgeschwindigkeitskamera nicht den Eindruck einer Aneinanderreihung von Standbildern vermittelt, ist eine minimale Abtastrate erforderlich. Ausgehend von einem 300 pl großen Tropfen ( $\varnothing 88 \mu\text{m}$ ), der sich mit einer Geschwindigkeit von 2 m/s durch den Bildausschnitt von 1190  $\mu\text{m}$  bewegt, sind die Abtastraten in Tabelle 17 dargestellt. Kamereras, die diesen Anforderungen gerecht werden, sind die Phantom v7.3 von Vision Research und die Shimadzu Hypervision.

Distanz zwischen Einzelbildern	Erforderliche Abtastfrequenz
1 Tropfenlänge (88 $\mu\text{m}$ )	$\approx 22,7 \text{ kHz}$
$\frac{1}{2}$ Tropfenlänge (44 $\mu\text{m}$ )	$\approx 46 \text{ kHz}$
$\frac{1}{4}$ Tropfenlänge (22 $\mu\text{m}$ )	$\approx 91 \text{ kHz}$
1/10 Tropfenlänge (8,8 $\mu\text{m}$ )	$\approx 227 \text{ kHz}$

**Tabelle 17** – Erforderliche Abtastraten (Bilder/s) für entsprechende Aufnahmequalität

DRS Ligthning	Phantom v7.3	Shimadzu Hypervision
1.280 x 28 / 16.000 fps	512 x 256 / 21.978 fps 512 x 128 / 40.000 fps	312 x 260 / 1.000.000 fps

**Tabelle 18** – Abtastraten ausgewählter Hochgeschwindigkeitskameras [124-126]

Aus Sicht der Messtechnik besteht der wesentliche Vorteil gegenüber der TV Kamera darin, dass ein einzelner Tropfen über Triggerung (LED Signal) und den schnellen Shutter visualisiert werden kann. In wie weit sich mit dieser Methode die zeitnahe Auswertung der gewonnenen Bilder durchführen lässt, hängt von den Möglichkeiten der verwendeten Kameras ab. Um die Datenmenge zu reduzieren wäre es denkbar das Aufzeichnen der Bilder nur mit jedem zehnten oder fünfzigsten Triggersignal durchzuführen um den Auswertealgorithmen die notwendige Zeit zu verschaffen. Ansonsten ist die Analyse der gewonnenen Bilddaten erst nach der Aufzeichnung möglich. Demgegenüber stehen jedoch immens hohe Anschaffungskosten.

## 5 Optimierungen durch Kopplung von Sensorik und Aktorik

In diese Kategorie werden die Verfahren eingeordnet, bei denen ein aktiver Zugriff auf die Aktoren des Gesamtsystems vorgenommen werden muss. Dazu zählen insbesondere die Dosierparameter, die Stroboskopeinstellungen und das Achssystem.

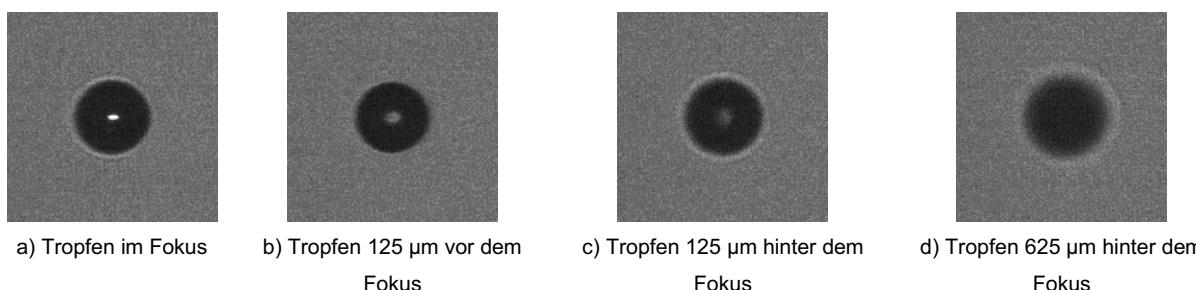
### 5.1 Fokussierung des Tropfens

Eine präzise Erfassung des Tropfenrandes ist nur möglich wenn sich der Tropfen im Fokus befindet. Das verwendete optische System besitzt je nach Einstellung, eine Schärfentiefe, von  $12 \mu\text{m} - 51 \mu\text{m}$ . Dieser Bereich liegt in den Dimensionen der Tropfendurchmesser. Bei der bisher manuell durchgeführten Positionierung des Tropfens im Fokus, variiert der Benutzer die Position des Dosierkopfes durch Verfahren der y-Achse. Die Bewertung der Fokussierung liegt dabei im Augenmaß des Benutzers. Die Orientierung erfolgt am „Glanzpunkt“, der Bündelung des Stroboskoplichts durch die Linsenwirkung des Tropfens. Je kleiner, schärfer abgegrenzt und heller dieser Punkt ist, desto besser ist der Tropfen aus Sicht des Benutzers fokussiert.

Mit der vorhandenen Technik lässt sich mit passiven Verfahren die Messung der Fokussierung vornehmen. Dabei erfolgt die Bestimmung des Grades der Fokussierung anhand des aufgenommenen Bildes. Diese so genannten passiven Autofokus-Verfahren sind:

- Gradientenanalyse der Graustufen
- Frequenzanalyse auf Basis der Fouriertransformation

Beide Verfahren können jedoch keine absolute Kennzahl liefern. Es ist daher erforderlich den Tropfen in der Fokalebene zu verschieben und jeweils ein Bild aufzunehmen. Über den Vergleich der ermittelten Kennzahlen beider Bilder lässt sich ermitteln, welches der beiden das schärfere ist. Zur Verschiebung wird die y-Achse angesteuert. In Abbildung 61 sind Ausschnitte verschiedener Fokussierungsstufen dargestellt [127;128].



**Abbildung 61** – Tropfen in verschiedenen Stufen der Fokussierung

### 5.1.1 Frequenzanalyse zur Bestimmung der Fokussierung

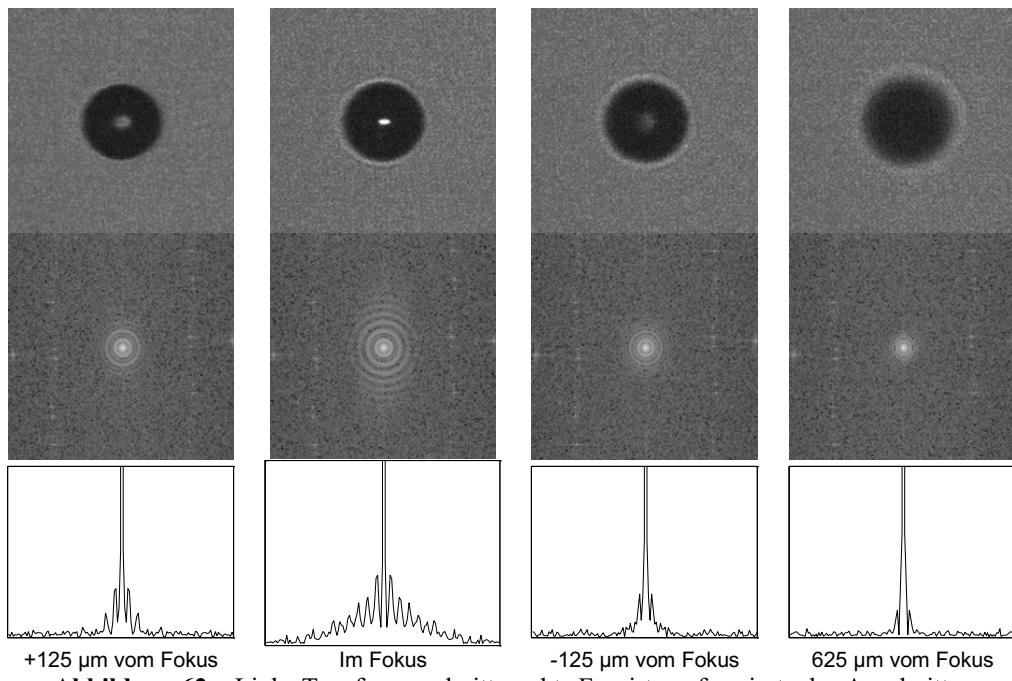
Mit den vorhandenen Gegebenheiten ist die Bestimmung der Fokussierung über die Frequenzanalyse die zweckmäßigste Methode. Dabei erfolgt die Zerlegung des Signals mithilfe der Fouriertransformation, in seine einzelnen Frequenzanteile. Die Bewertung der Fokussierung beruht auf der Gesetzmäßigkeit, dass die Anteile hoher Frequenzen bei scharfen, gegenüber unscharfen Bildern, deutlich größer sind. Die Bewertung der Schärfe beruht in diesem Fall auf dem Vergleich zwischen Betrachtungen des gleichen Motivs [129].

Auf technischer Ebene wird die diskrete Fouriertransformation ausschließlich auf den Bildausschnitt um den Tropfen angewendet. Voraussetzung ist die Erfassung des Tropfens vom Erkennungsalgorithmus. Der auszuwertende Bereich wird aus den folgenden Gründen auf den Tropfen und dessen Umgebung beschränkt:

- Ausschließlich Fokussierung auf den Tropfens
- Reduzierung der Rechenzeit

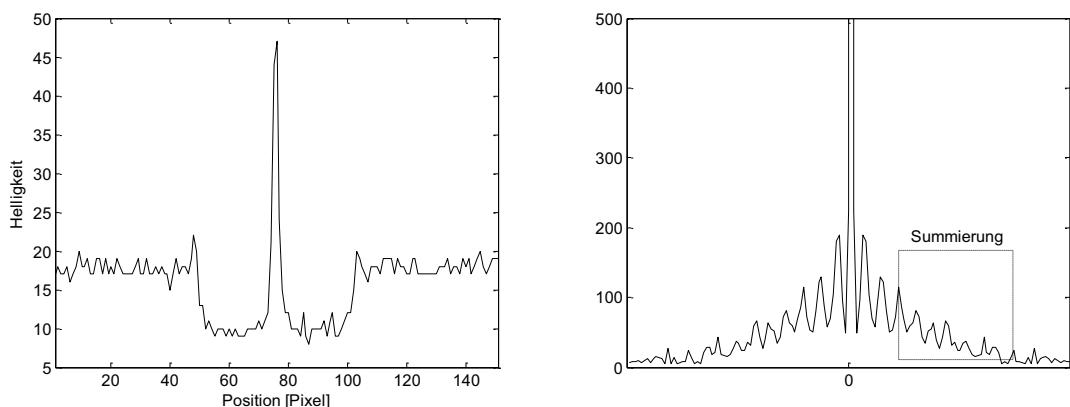
Wenn Bereiche der Nozzle in die Frequenzanalyse mit einbezogen werden, könnte die Fokussierung auf eine Ebene der Nozzle, anstelle des Tropfens, erfolgen. Ein weiterer Vorteil der Analyse eines kleineren Bereiches liegt in der Verringerung der Rechenzeit. Nachteilig bei diesem Verfahren ist jedoch, dass die Tropfenbildung zwingend erforderlich ist, damit die Messung bzw. später die Scharfstellung vorgenommen werden kann.

Die Resultate der Frequenzanalyse der Bilder aus Abbildung 61 sind in Abbildung 62 dargestellt. In der mittleren Zeile sind die Resultate der zweidimensionalen Fouriertransformation (als Leistungsspektrum) visualisiert. Die Ermittlung und die Auswertung der Anteile der hohen Frequenzen, eines solchen Spektrums ist prinzipiell möglich, erfordert jedoch einen nicht unerheblichen Aufwand. Aus diesem Grund wurde für die Implementierung in die Software eine vereinfachte Variante dieser Lösung favorisiert. Dabei wird für die Bestimmung des Spektrums eine einzelne Zeile verwendet. Diese Zeile ist ein horizontaler Schnitt durch die Mitte des Tropfens. Die Fouriertransformierte dieses Bereiches, gleichzusetzen mit der Extraktion der gleichen Zeile aus dem zweidimensionalen Spektrum, ist in der unteren Zeile von Abbildung 62 dargestellt und dient als Basis der weiteren Analyse.



**Abbildung 62** – Links Tropfenausschnitt, rechts Fourirtransformierte des Auschnittes

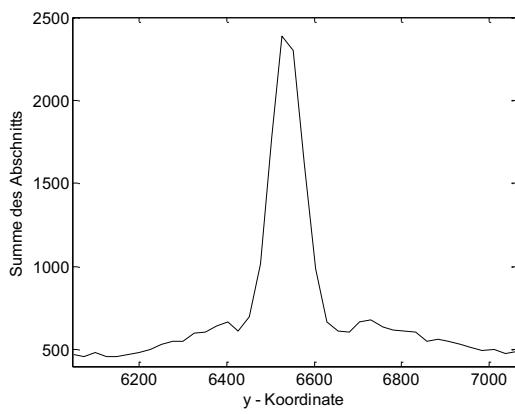
Zur Auswertung wird aus diesen Daten eine absolute Kennzahl ermittelt, welche sich aus der Summe der Datenpunkte in einem definierten Bereich zusammensetzt. Ihre Ermittlung erfolgt dynamisch. Dabei wird ausgehend vom Nullpunkt zunächst in positiver Richtung entlang der Abszisse das dritte lokale Maximum bestimmt. Die andere Grenze des Summierungsfensters befindet sich starr auf der Mitte zwischen dem Nullpunkt und dem Ende des Ausschnitts. Innerhalb dieser beiden Grenzen werden die Werte summiert. Das Resultat der Addition stellt die Basis für den Vergleich der unterschiedlichen Fokussierungen desselben Motivs dar. Die Vorteile dieser Vereinfachung liegen in der besseren Auswertbarkeit des Spektrums und dem geringen Rechenaufwand.



**Abbildung 63** – Helligkeitsverlauf der Tropfenzeile (li.) und dessen Spektrum mit Summierungsfenster (ri.)

### 5.1.2 Positionierung im Fokus

Die Ermittlung der Position, der maximalen Fokussierung, erfordert die Aufnahme einer Datenreihe. Der Bereich der Lage der Schärfentiefe ist bekannt und die Nozzle wird mithilfe des Achsensystems in den Bereich der Schärfentiefe gefahren. In diesem Bereich wird dann an definierten Positionen die Fokussierung gemessen. Das Resultat ist in Abbildung 64 dargestellt. Die einzelnen Schritte der Messreihe wurden hier auf 25  $\mu\text{m}$  verkürzt. Anhand der Speicherung und des Vergleichs der Kennzahl der Fokussierung an den einzelnen Positionen erfolgt die Bestimmung der Position des Maximums.



**Abbildung 64** – Diagramm des Maßes der Fokussierung verschiedener Positionen

Um in der Praxis die Schritte und somit den Zeitaufwand zu minimieren, wurde die angewendete Methodik in zwei Schritte unterteilt. In der ersten Etappe werden in Abständen von 100  $\mu\text{m}$  die Fokuswerte an 10 Punkten gemessen. Nach der Bestimmung der Position mit der größten Fokussierung wird an dieser Stelle der Bergsteigeralgorithmus angesetzt. Dieser nähert sich in Schritten von 25  $\mu\text{m}$  dem Maximum an. Die Anwendung des Bergsteigeralgorithmus von Beginn an empfiehlt sich nicht, da sich dieser sonst in den lokalen Maxima verfängt.

## 5.2 Analyse des Dosievorganges

Der gesamte Dosievorgang wird beschrieben über den Zeitraum vom Auslösen des Piezokristalls bis zum Auftreffen des Tropfens auf das Ziel. Mit der gegebenen Technik lässt sich die indirekte Beobachtung des Vorgangs über die Steuerung der Verzögerung des Stroboskopblitzes realisieren. Für die Visualisierung der korrekten chronologischen Abfolge wird die Stroboskopverzögerung kontinuierlich erhöht. Die Methoden zur Analyse einer Sequenz, dem Vorgang vom Eintritt des Tropfens in die Region der Tropfenerkennung bis zu deren Verlassen, werden in den folgenden Abschnitten beschrieben.

### 5.2.1 Bewertungskriterien des Tropfenabschusses

Für die automatische Analyse und die Übernahme von einzelnen Funktionen sind Kriterien notwendig, die Aussagen treffen, ob die Rahmenbedingungen der Dosierung bzw. der Tropfenflug in einem akzeptablen Rahmen liegen. Für Erkennung dieser Kriterien durch Algorithmen ist die Deklaration von definierbaren Grenzen notwendig. Im Wesentlichen sind diese Merkmale:

- Erkennbarkeit des Tropfens
- Präsenz von Satellitentropfen
- Anlagerung von Flüssigkeit an der Nozzle
- Flugbahn

#### Erkennbarkeit des Tropfens

Bei unabgestimmten Dosierparametern, z. B. Luftblasen im System oder sonstigen Einflüssen, ist der Tropfen nicht stetig im Bild präsent. Die Erscheinungen reichen von Variationen der Position und Form bis hin zum sporadischen Auftreten. Dabei entsteht der Eindruck, dass anstelle des Tropfenstrahls die austretende Flüssigkeit zerstäubt wird. Die optimale Abbildung des Tropfens ist frei von Unregelmäßigkeiten. Der robuste Algorithmus zur Tropfenfassung liefert, bei vorgenommener Fokussierung und stabiler Tropfenbildung gekoppelt mit statistischer Auswertung der letzten 32 Bilder, eine Standardabweichung von weniger als 2%. Die technische Detektion nutzt diesen Umstand. Die Kopplung des vorgestellten Bildverarbeitungsalgorithmus mit der statistischen Auswertung der letzten 32 Bilder liefert sobald die Standardabweichung bei Positionierung im Fokus größer 5% ist, ein Indiz auf unvollständige Tropfenbildung. Optional können die Positionsschwankungen auf diese Weise ebenfalls überprüft werden.

### Satellitentropfen

Die Existenz von Satellitentropfen behindert zum einen die Volumenmessung und zum anderen besteht bei abweichender Flugbahn beider Tropfen die Gefahr von Querkontamination. Daher ist die Präsenz von Satellitentropfen ungünstig. Eine zulässige Ausnahme besteht dann, wenn die Wiedervereinigung von Topfen und Satellit zu einem relativ frühen Zeitpunkt der Flugphase stattfinden. Detektiert werden Satelliten über die Zählung der Konturen des Algorithmus zur Tropfenerfassung. Gleichzeitig lassen sich über die Analyse des gesamtes Tropfenfluges der Zeitpunkt von Aufspaltung und ggf. Wiedervereinigung aufzeichnen.

### Anlagerungen

Die Anlagerung von Flüssigkeit oder Partikeln beeinflusst oder verhindert die Tropfenbildung. Die Ursache für angelagerte Flüssigkeit liegt in ungeeigneten Dosierparametern oder Luftblasen im Kapillarsystem. Partikel sammeln sich unter anderem durch Eintrocknung an. Die Detektion erfolgt über einen separaten Algorithmus, siehe Abschnitt 5.5.

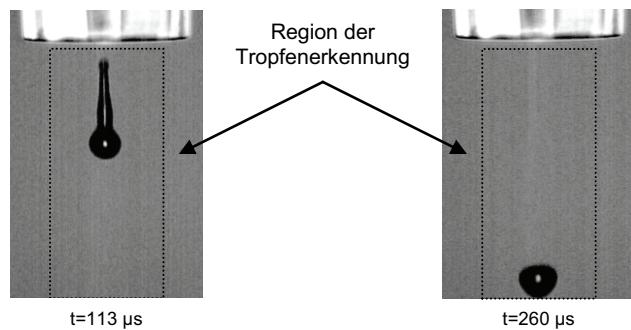
### Flugbahn

Die optimale Flugbahn ist lotrecht nach unten. Je nach Dosierziel sind Abweichungen in gewissen Grenzen akzeptabel. Während bei der Dosierung in Mikrotiterplatten Abweichungen im Bereich der Wellradien vertretbar sind, liegen die Toleranzen bei Lab-Chip-Systemen oder speziellen Slides im Bereich von ein paar dutzend Mikrometern. Die Aufzeichnung der kompletten Flugbahn in drei Dimensionen wird in Abschnitt 5.2.4 beschrieben.

### 5.2.2 Ermittlung von Anfangs- und Endzeitpunkt einer Sequenz

Von primärer Bedeutung für die Aufnahme einer Sequenz ist die Bestimmung des Anfangs- und des Endzeitpunktes. Aus technischer Sicht ist der Anfangszeitpunkt der Moment, in dem vollständige Synchronität zwischen Stroboskopblitz und dem Spannungsimpuls für das Piezoelement besteht. Analog dazu ist die technisch maximal mögliche Verzögerung die Annäherung an die Periodenlänge.

Die registrierbare Sequenz beginnt jedoch mit dem vollständigen Eintritt des Tropfens in die Region der Erkennung. Gleichermaßen ist der Endpunkt der Moment, in dem der Tropfen den Abschnitt der Bilderkennung verlässt bzw. aufgrund des Berührens der Randbegrenzung nicht mehr erkannt wird. In Abbildung 65 liegt die Sequenz zwischen den Stroboskopverzögerungen von 113 µs und 260 µs.



**Abbildung 65** – Schema des Anfangs- und Endpunktes für die Auswertung einer Sequenz

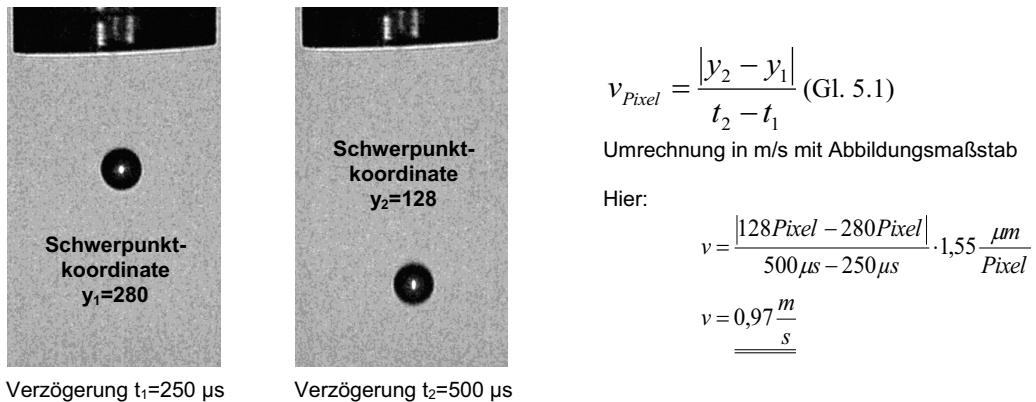
Die Kenntnis dieser Daten grenzt den Messbereich ein. Innerhalb dieses Bereiches können alle Daten statistisch erfasst werden. Dies wird möglich durch die Beibehaltung einer Stroboskopverzögerungszeit für eine bestimmte Anzahl an Bildern.

### 5.2.3 Messung der Tropfengeschwindigkeit

Die Berechnung der Geschwindigkeit des Tropfens ist über 2 Verfahren möglich.

1. Aufnahme von Tropfen zu verschiedenen Verzögerungszeiten des Stroboskops
2. Ermittlung des Abstandes bei 2 aufeinander folgenden Tropfen

In der ersten Variante wird während der Aufnahme die Verzögerungszeit des Stroboskops geändert. Mit der Kenntnis der Schwerpunktkoordinaten zu unterschiedlichen Zeitpunkten visualisierten Tropfen kann über Differenzbildung die Geschwindigkeit berechnet werden.



**Abbildung 66** – Prinzip der Ermittlung der Geschwindigkeit der Tropfen

Die zweite Variante basiert auf der Idee, dass es bei hohen Tropfensraten möglich ist zwei Tropfen aus aufeinander folgenden Perioden abzubilden. Die Berechnung der Geschwindigkeit erfolgt in diesem Fall aus Frequenz und den Differenzen der Schwerpunkte.

	1 m/s	1,5 m/s	2 m/s	2,5 m/s	3 m/s
100 Hz	10000 μm	15000 μm	20000 μm	25000 μm	30000 μm
500 Hz	2000 μm	3000 μm	4000 μm	5000 μm	6000 μm
1000 Hz	1000 μm	1500 μm	2000 μm	2500 μm	3000 μm
1500 Hz	667 μm	1000 μm	1333 μm	1667 μm	2000 μm
2000 Hz	500 μm	750 μm	1000 μm	1250 μm	1500 μm

**Tabelle 19** – Tropfenabstand bei verschiedenen Fluggeschwindigkeiten und Frequenzen

Mit den technischen Gegebenheiten kann ausschließlich bei hohen Frequenzen im unteren Geschwindigkeitsbereich diese Methode angewendet werden. Aufgrund der bereits bestehenden Möglichkeit, die Geschwindigkeit über die Aufnahme einer Sequenz zu bestimmen, wird im weiteren Verlauf die erste Variante favorisiert.

### 5.2.4 Bestimmung der Flugbahn

Eine Besonderheit bei der Erkennung ist die Bestimmung der Flugbahn des Tropfens. Eine zweidimensionale Rekonstruktion ist über eine Aufnahme von unterschiedlichen Stroboskopverzögerungen möglich. Mit einem speziellen Verfahren lässt sich die Flugbahn dreidimensional rekonstruieren

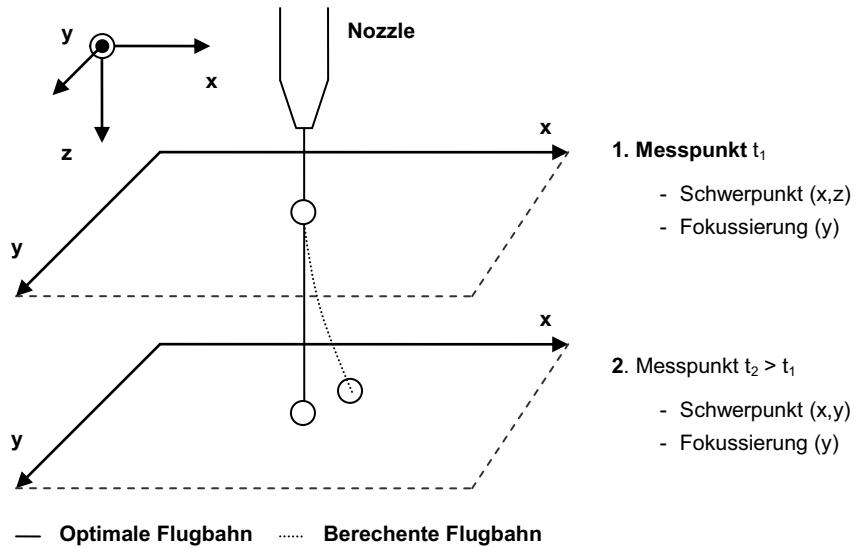


Abbildung 67 – Prinzip zur Aufzeichnung der Flugbahn des Tropfens in drei Dimensionen

Die erste Dimension ist die z-Richtung – die Hauptflugrichtung des Tropfens. Aufgrund der Natur der Aufnahme ist der Tropfen bei stetiger Stroboskopverzögerung an der gleichen Stelle im Bild zu erkennen. Durch die Kenntnis des Vorgangs (d. h.: Lotrechte Ausrichtung der Nozzle, Richtung des Impulses und Wirkung der Schwerkraft) ist determiniert, dass mit zunehmender Flugzeit, gleichzusetzen mit Erhöhung der Stroboskopverzögerung, die Visualisierung des Tropfens an einer Position weiter unterhalb im Bild erfolgt.

Für die Erkennung der Geradlinigkeit der Flugbahn und damit ggf. des Versatzes am Auftreffpunkt sind jedoch die x und y Koordinaten entscheidend. Die Abweichung der x-Koordinate kann direkt aus dem Vergleich der Schwerpunktkoordinaten des Tropfens gewonnen werden. Bereits geringfügige Abweichung von wenigen  $\mu\text{m}$  sind messbar. Die Berechnung des Versatzes in y-Richtung erfolgt über Vergleich der jeweiligen y - Koordinaten nach Bestimmung der Fokussierung. Hinsichtlich der Genauigkeit des Versatzes in y-Richtung müssen jedoch Abstriche gemacht werden. Aufgrund des Verfahrens zur Fokusbestimmung, können nur Abweichungen größer als 50  $\mu\text{m}$  von der Flugbahn erkannt werden.

### 5.2.5 Algorithmus zur Sequenzanalyse

Für den praktischen Aspekt, vor allem aus Gründen der Zeitersparnis ist es sinnvoll die Sequenzanalyse zweiteilig zu gestalten. Die erste Etappe soll dabei der schnellen Ermittlung der Verzögerungswerte des Stroboskops dienen bei denen sich die Tropfenzahl ändert. Im Wesentlichen sind dies die folgenden Punkte:

- Erkennung des Tropfens nach Verlassen der Nozzle
- Erkennung der Entstehung bzw. Vereinigung von Satellitentropfen
- Verlassen des ersten Tropfens des Erkennungsbereiches
- Bestimmung der Tropfenkoordinaten von Anfangs- und Endzeitpunkt

Diese Daten ermöglichen es zum einen bei der Präsenz eines Satellitentropfens, welcher sich nicht mit dem Tropfen vereinigt, zu detektieren. Damit wäre ein Ausschlusskriterium nicht erfüllt und die Analyse kann vorzeitig beendet werden. Zum anderen wird der Bereich, in dem die Hauptanalyse durchgeführt wird, beschränkt. Dies reduziert vor allem die Zeit der Analyse und gibt auch die Eckpunkte für die Ermittlung der Flugbahn wieder.

Im nächsten Schritt kann die Analyse der Flugbahn erfolgen. Aus der Bildebene werden die Schwerpunktkoordinaten von Start- und Endpunkt verwendet. Die zweite horizontale Koordinate wird mithilfe dieser Punkte über die Messung der jeweiligen Fokussierung gewonnen. Über diese Informationen kann gleichzeitig die Geschwindigkeit berechnet werden. Optional können neben Start- und Endpunkt auch weitere Punkte in die Analyse mit einbezogen werden. Prinzipiell ist damit die Analyse der Flugbahn abgeschlossen.

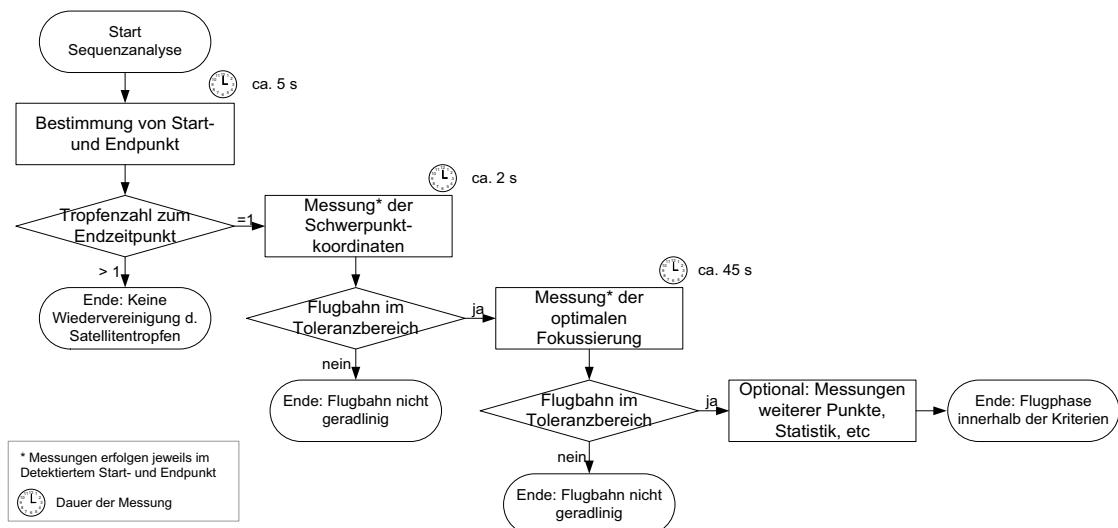


Abbildung 68 – Ablaufschema der Sequenzanalyse

### 5.3 Teilbereiche mit hohem Automatisierungspotenzial

Ein Teil der Aufgaben, insbesondere bei der Vorbereitung des eigentlichen Dosievorganges, beruht auf manueller Durchführung. Im Wesentlichen ist dies das Einstellen der Parameter, um einen Tropfenabschuss zu bewirken. Für dieses Vorhaben sind die Lösungen von Teilaufgaben, siehe Tabelle 12, notwendig.

Ermitteln des Versatzes	Automatische Positionierung der Nozzle vor der Kamera. Aufgrund von Fertigungstoleranzen steht die Nozzle nach dem Einbau nicht immer optimal im Bild wenn die Kameraposition angefahren wird
Fokussieren des Tropfens	Herstellen optimaler Messbedingungen und Basis für die Analyse der Flugbahn
Erkennung von Störeinflüssen an der Nozzle	Erkennung von angelagerter Flüssigkeit oder Partikeln an den Nozzeln
Finden geeigneter Parameter	Trotz der Verwendung baugleicher Nozzlen (auf den Durchmesser bezogen) sind unterschiedliche Werte bei den Parametern (Spannung und Pulsbreite) notwendig um einen Tropfenabschuss zu ermöglichen
Optimierung der Parameter	Optimierung der Parameter in Hinblick auf Toleranzbereich, Tropfengröße, Frequenz, Tropfengeschwindigkeit und Vermeidung der Bildung von Satellitentropfen

**Tabelle 20** - Teilaufgaben zur Erhöhung des Automatisierungsgrades

Die Umsetzung dieser Teilaufgaben verleiht dem Dosierer eine erhöhte Autonomie. Diese ermöglicht das Arbeiten im Verbund mit anderen Systemen. Ohne sie jedoch würde die Fehlerrate beträchtlich höher sein und im Falle der Kenntnisnahme durch das Bedienpersonal müsste dieses die Behebung vornehmen.

## 5.4 Automatisches Positionieren

Für Wartungszwecke und Anpassungen an die jeweilige Applikation können die Nozzles mit geringem Aufwand ausgewechselt werden. Eine auf Federn basierende Konstruktion ermöglicht dies. Zusätzlich unterliegt die Position der Nozzle Schwankungen aufgrund von Fertigungstoleranzen. Durch diesen Umstand entsteht für die optimale Position der einzelnen Nozzle ein Versatz von maximal 400 µm.

### 5.4.1 Folgen des unkorrigierten Versatzes

Bei der Dosierung mit ausschließlich einer Nozzle ist die relative Ausrichtung der Spots im Ziel nicht beeinträchtigt, im Gegensatz zu der absoluten Position. Die Verwendung mehrerer Nozzles mit unterschiedlichem und unkorrigiertem Versatz führt zu einem Trefferbild wie in Abbildung 69c. Diese Abweichungen machen das Dosierziel für weitere Auswertungen unbrauchbar.

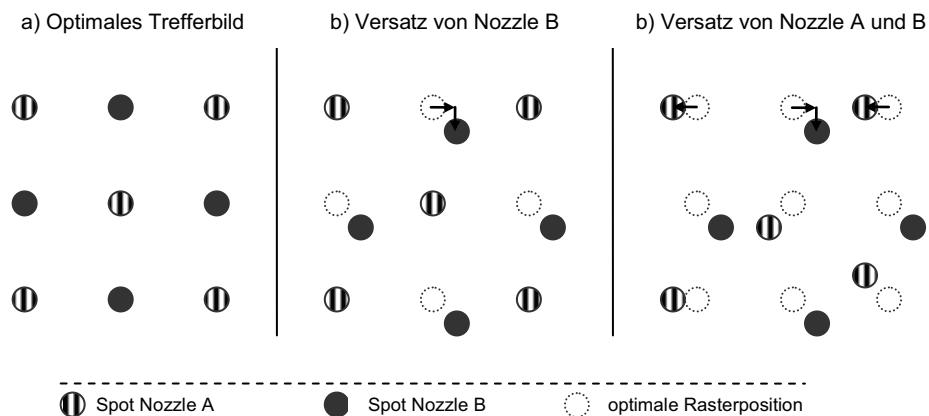
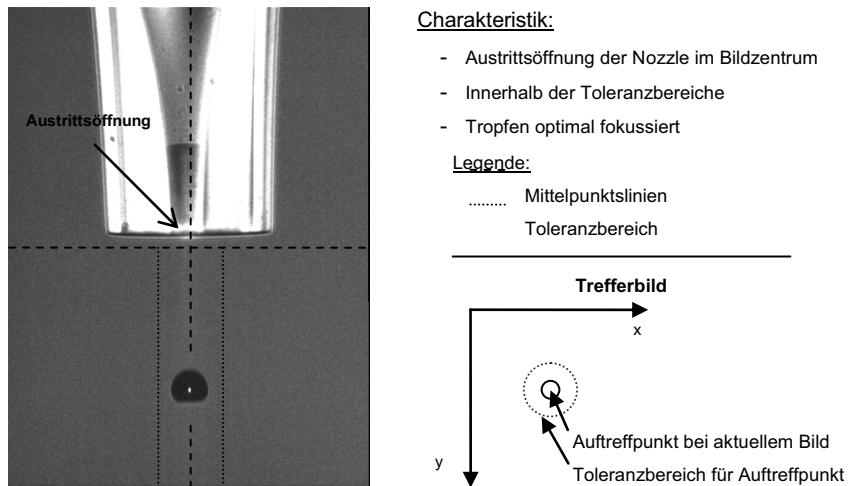


Abbildung 69 – Schematische Darstellung der Einfluss der Versatzes aufs Trefferbild

Für das Trefferbild sind die horizontalen Achsen maßgeblich. Die vertikale Ausrichtung bestimmt den Abstand der Nozzle zum Dosierziel. Die Korrektur des vertikalen Versatzes ist wichtig um Beschädigungen durch Aufsetzten zu vermeiden, da bei den meisten Zielen die Platzierung der Nozzle sehr dicht, ca. 500 µm, über dem Ziel erfolgt. Im ersten Fall führt das Ignorieren des Höhenversatzes zum Aufsetzten und somit zur Beschädigung der Nozzle auf dem Dosierziel. Im zweiten Fall entsteht das eher geringe Risiko, dass der Tropfen durch äußere Einflüsse auf dem verlängerten Flugweg abgelenkt wird. Die bisherige Vorgehensweise beruht auf der manuellen Korrektur dieses Versatzes. Im Folgenden wird eine Variante der automatischen Durchführung beschrieben.

### Definition der optimalen Position

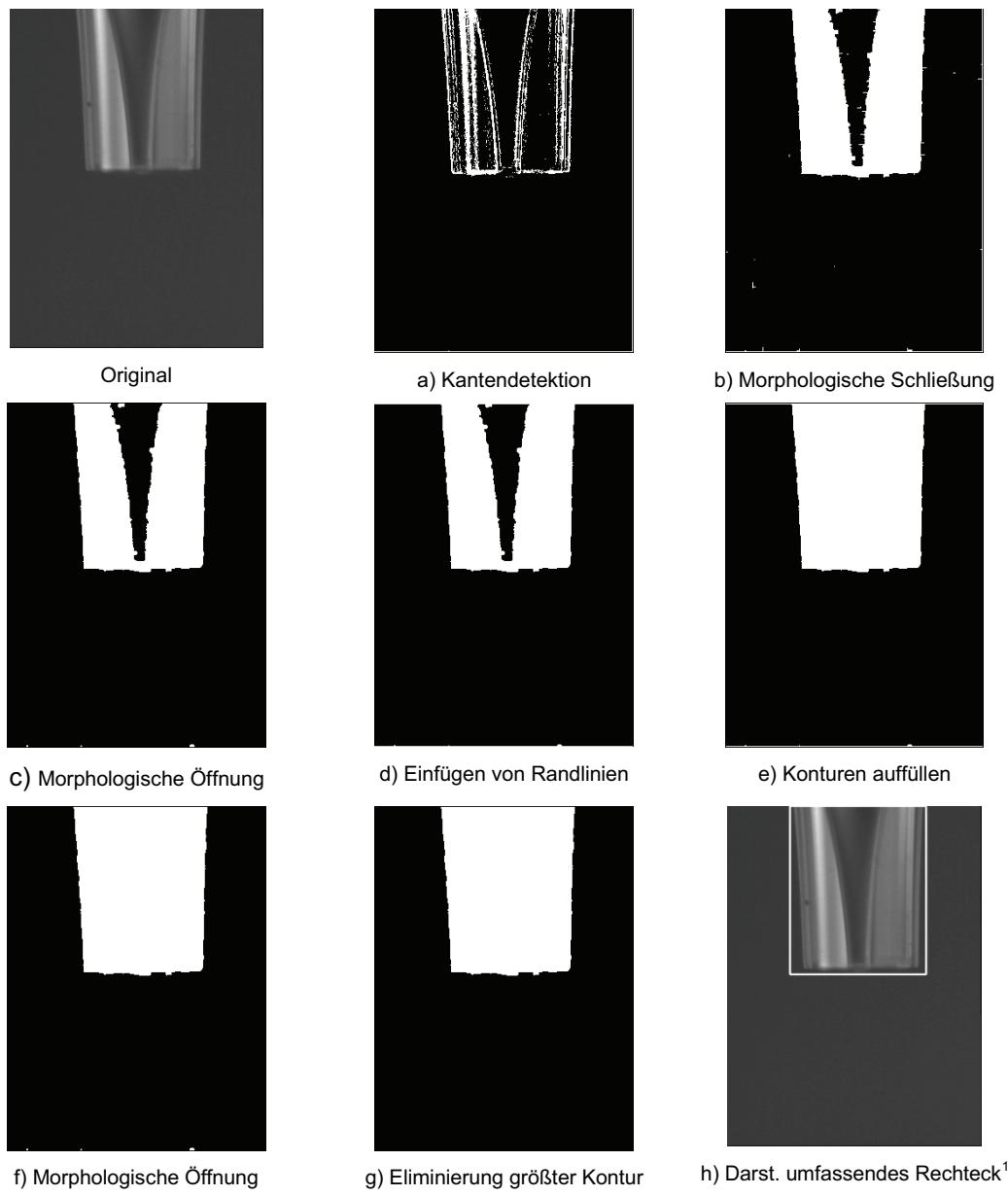
Um den Versatz bestimmen und korrigieren zu können, ist die Definition der optimalen Position, dargestellt in Abbildung 70, notwendig. Dabei befindet sich die Öffnung der Nozzle im Mittelpunkt des Bildes und die Fokussierung des Tropfens ist optimal. In dieser Einstellung kann der Weg des Tropfens ausreichend lange verfolgt und gleichzeitig die Nozzle auf Störeinflüsse hin beobachtet werden.



**Abbildung 70** – Optimal vor der Kamera positionierte und fokussiert Nozzle

### 5.4.2 Algorithmus zur Detektion der Nozzle

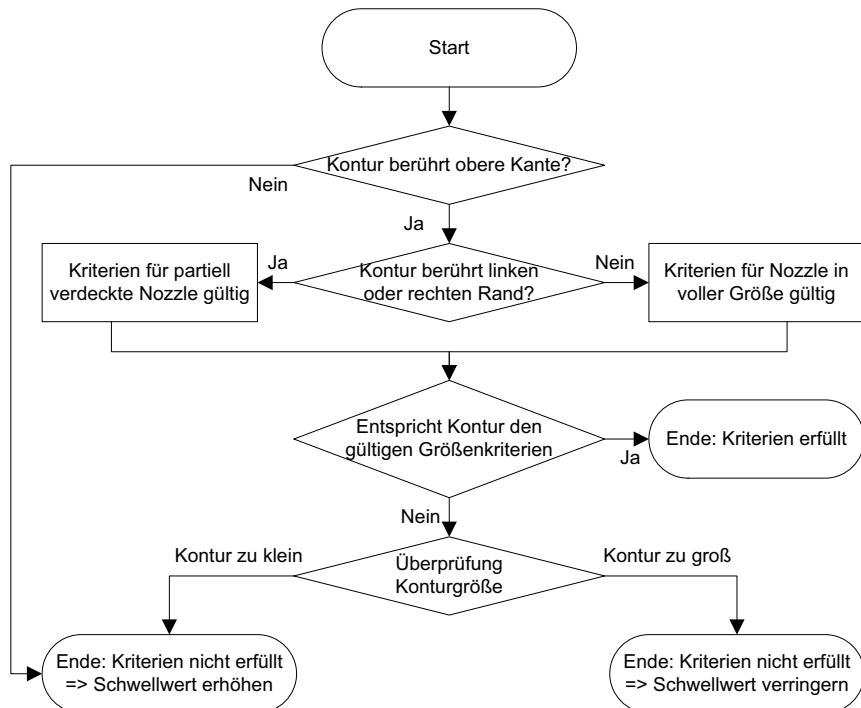
Das Ziel dieses Algorithmus ist es, aus dem Kamerabild die Position der Spitze der nicht optimal positionierten Nozzle zu finden. Voraussetzung ist, dass sich die Nozzle an einer Position befindet an der bereits ein Teil von ihr im Bild zu erkennen ist. Im ersten Schritt wird das Stroboskop mit einer langen Pulsdauer aktiviert um ein angemessen ausgeleuchtetes Bild zu erzeugen. Danach erfolgt die Verarbeitung des aufgenommenen Bildes über die in Abbildung 71 a-h dargestellten Schritte. Das Resultat besteht aus den Daten des umfassenden Rechtecks der letzten im Bild verbleibenden Kontur.



**Abbildung 71** – Bildverarbeitungsalgorithmus zur Erkennung der Nozzle

<sup>1</sup> Das Ergebnis ist ein umfassendes Rechteck, das das gesamte Bildfeld abdeckt.

Vor der Durchführung weiterer Schritte folgt eine Plausibilitätskontrolle des erkannten Rechtecks. Störeffekte verhindern die Erkennung, bewirken eine partielle Erfassung oder führen zu Fehlinterpretationen. Dadurch kann die Nozzle stark in ihren Dimensionen verzerrt erscheinen. Mit dieser Überprüfung wird sichergestellt, dass es sich bei dem erkannten Objekt tatsächlich um die Nozzle handelt. Aufgrund der Kenntnis und Erwartung des Aussehens der Nozzle lassen sich Kriterien definieren. Ein Schema des Ablaufs der Überprüfung dieser Kriterien, ist in Abbildung 72 – dargestellt.

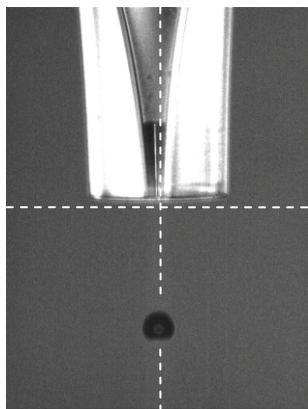


**Abbildung 72** – Kriterien zur Überprüfen ob gefundene Kontur die Nozzle ist

Nach dem erfolgreichen Passieren der Plausibilitätskontrollen werden die Daten des umfassenden Rechtecks für die Positionierung verwendet. Als Austrittszentrum der Nozzle wird der Mittelpunkt der unteren Begrenzungslinie angesehen. Anhand der Differenz zwischen diesem Punkt und dem Bildmittelpunkt wird der Verfahrweg der x und z-Achse berechnet.

### 5.4.3 Positionierung in der Bildebene

Um die Nozzle vor der Kamera zu platzieren wird zunächst eine feste Position mit den Koordinaten des Erwartungswertes für die gewählte Nozzle angefahren. An dieser Position ist zumindest ein Teil der Nozzle im Bild sichtbar. Bei der manuellen Vorgehensweise verschiebt der Benutzer, durch Bedienen der Software, schrittweise den Dosierkopf bis sich die Nozzle an der gewünschten Stelle befindet.



Charakteristik:

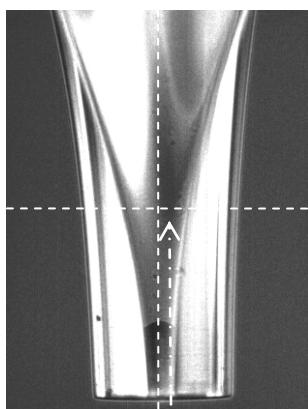
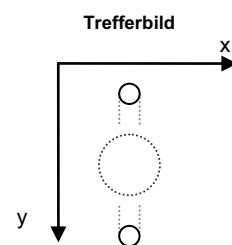
- Austrittsöffnung der Nozzle im Bildzentrum
- unbekannter Versatz in y Richtung da Tropfen nicht fokussiert

Legende:

- - - Mittelpunktslinien
- · > Korrekturvektor

Anmerkung:

Es kann nicht erkannt werden, in welcher Richtung und welchen Betrag der Versatz in y Richtung besitzt. Korrektur über Fokussierung



Charakteristik:

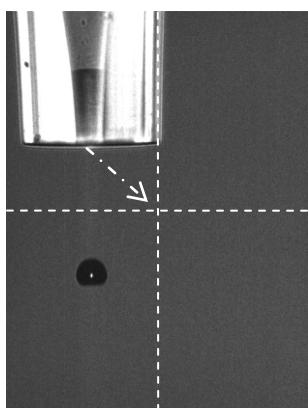
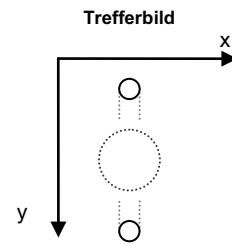
- Austrittsöffnung der Nozzle im nicht Bildzentrum
- unbekannter Versatz in y Richtung da Fokussierung d. Tropfens nicht möglich

Legende:

- - - Mittelpunktslinien
- · > Korrekturvektor

Anmerkung:

Aufgrund von fehlenden Fokusdaten ist der y-Versatz unbestimmt. Nozzle zu tief, Gefahr der Beschädigung!

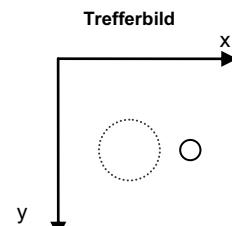


Charakteristik:

- Austrittsöffnung der Nozzle nicht im Bildzentrum
- Horizontaler und vertikaler Versatz nicht im Toleranzbereich, Fokussierung im Toleranzbereich

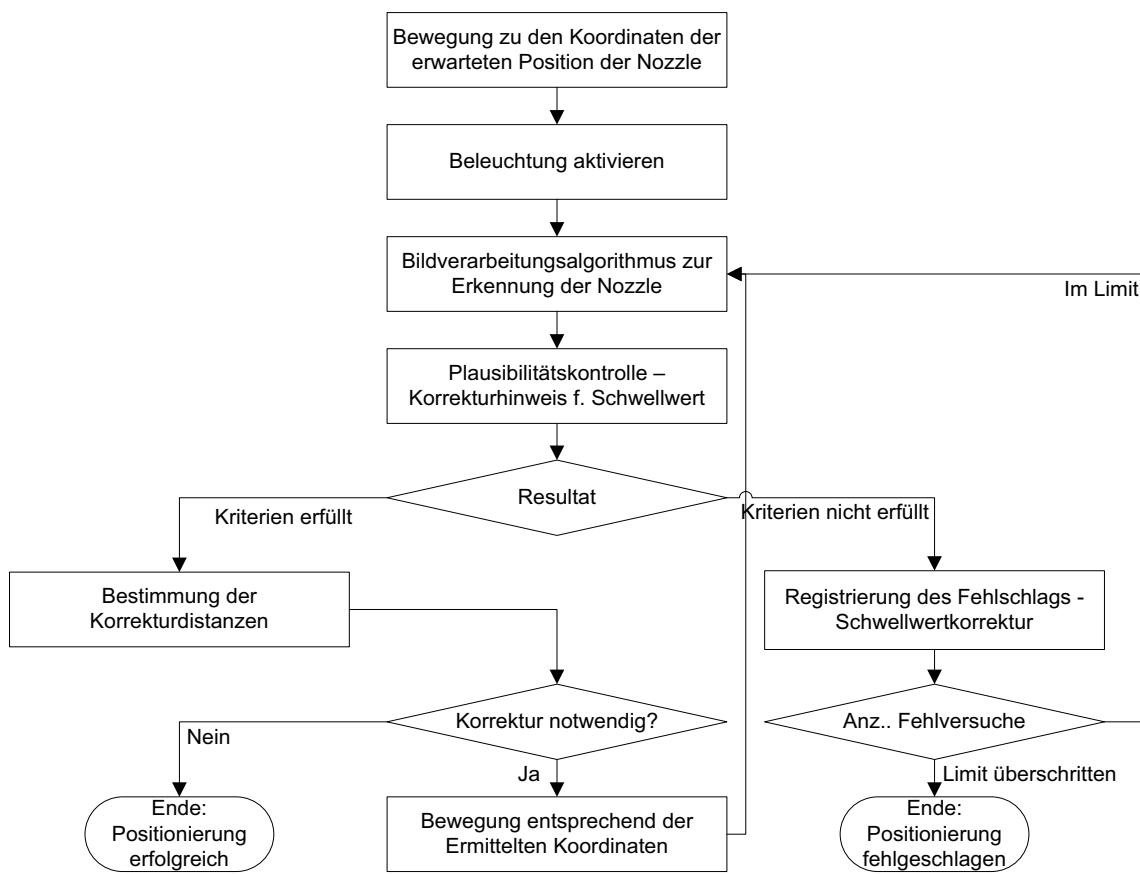
Legende:

- - - Mittelpunktslinien
- · > Korrekturvektor



**Abbildung 73 – Beispiele für korrekturbedürftige Positionen der Nozzle vor der Kamera**

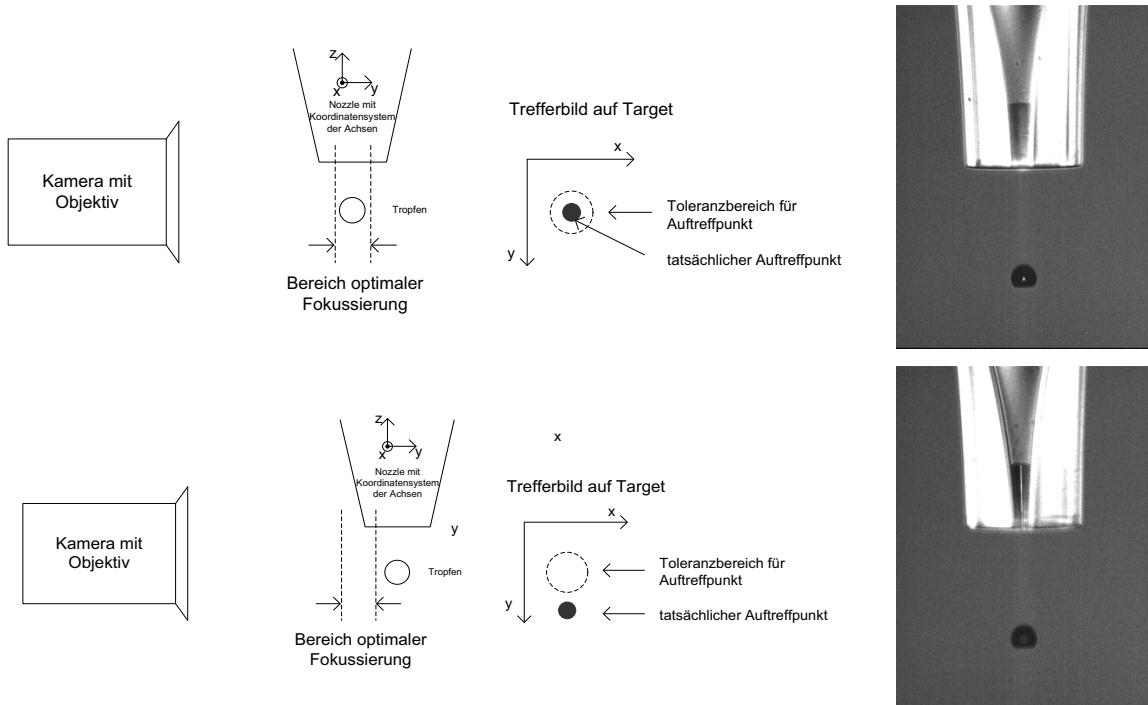
Für die Automatisierung müssen die Verfahrwege an die entsprechenden Achsen weitergegeben werden. Nach der Erkennung der Nozzle im Kamerabild und der Anwendung des in Abbildung 71 dargestellten Algorithmus, liefert dieser die Koordinaten der Nozzlespitze zurück. Die Berechnung des Verschiebungsvektors erfolgt über diese Koordinaten und denen der gewünschten Position der Nozzlespitze. Anhand des errechneten Vektors werden die Achsen angesteuert und die Nozzle verschoben. Nach Abschluss der Bewegung der Achsen erfolgt eine weitere Überprüfung. Sobald die berechneten Koordinaten mit denen der aktuellen Position übereinstimmen, bzw. die Abweichung geringer als 15 Pixel ist, gilt der Positionierungsvorgang erfolgreich abgeschlossen. Andernfalls folgt eine weitere Korrektur. Zur Vermeidung von Beschädigungen der Nozzle werden die Verfahrwege jeder Achse auf 1000 µm begrenzt. Für die weitere Verwendung werden der ermittelte Versatz bzw. die Koordinaten der optimalen Position gespeichert.



**Abbildung 74** – Algorithmus zur Korrektur des x und z Versatzes

#### 5.4.4 Positionierung senkrecht zur Bildebene

Nach dem der Versatz in x-Richtung und die Höhe der Nozzle reguliert worden sind, steht die Korrektur des Versatzes in y-Richtung an. Dieser Versatz ist gleichzusetzen mit der Fokussierung des Tropfens. Dadurch, dass die Kamera einen festen sehr eng begrenzten Fokus hat, kann die Bestimmung der Fokussierung als Normierung für den Versatz in y-Richtung verwendet werden. Die Positionierung erfolgt gemäß der Vorgehensweise der optimalen Fokussierung, siehe Abschnitt 5.1.2.



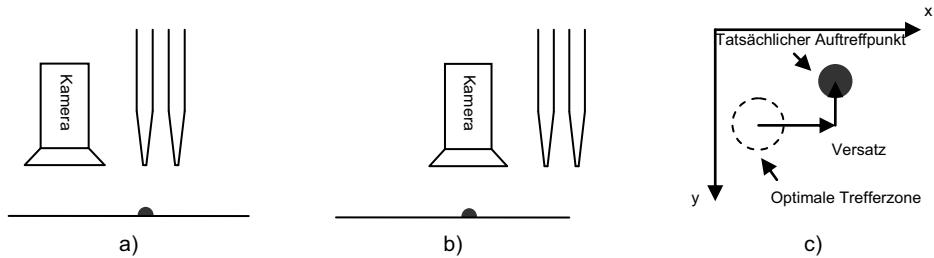
**Abbildung 75** – Schematische Darstellung des Zusammenhangs zwischen y-Versatz und Fokussierung

### 5.4.5 Alternativen

Die technische Umsetzung dieser Positionierungen kann über die nachfolgen aufgeführten Methoden ebenfalls erfolgen. Diese basieren jedoch auf zusätzlicher Hardware.

#### Erkennung des Auftreffpunktes

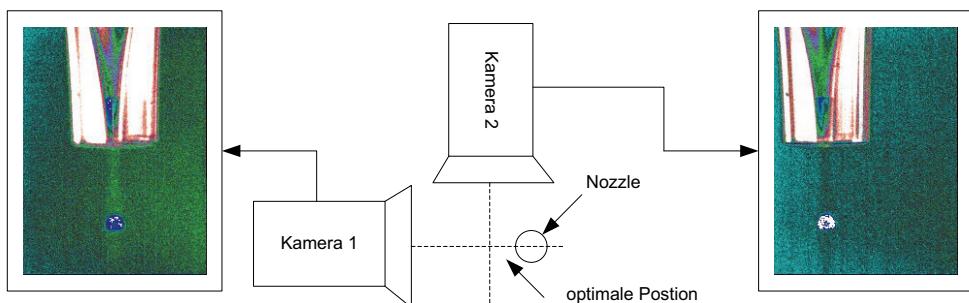
Die Verwendung einer zweiten Kamera, die zur Kontrolle von oben auf die Dosierziele gerichtet ist, stellt eine Alternative für die horizontale Ausrichtung dar. Neben der Kamera ist ein beschichteter Slide erforderlich, bei dem der Auftreffpunkt der Flüssigkeit detektiert werden kann. Für diesen Zweck wird der Slide mit einem speziellen Papier beklebt, welches sich bei Kontakt mit Flüssigkeiten deutlich punktuell verfärbt. Die Ermittlung des Versatzes erfolgt durch den Vergleich zwischen der aufgenommenen und der erwarteten Position des Auftreffpunktes mittels Bildverarbeitung.



**Abbildung 76** – Automatische Positionierung mit Hilfe der Kamera zur Dosierkontrolle

#### Rechtwinklige Anordnung von zwei Kameras

Die Aufnahmen mit zwei Kameras, ähnlich der der Anordnung in Abbildung 77, liefert in 3 Dimensionen den Versatz der Nozzle. Als Verfahren zur Erkennung der Nozzle im jeweiligen Kamerabild können die Algorithmen aus Abschnitt 5.4 angewendet werden. Vorteile bestehen in einer höheren Auflösung gegenüber der Bestimmung des Tiefenversatzes durch die Messung der Fokussierung. Dabei stehen dem Verfahren der Fokusmessung mit einer Genauigkeit von  $50 \mu\text{m}$  die hier erreichbaren  $10 \mu\text{m}$  gegenüber.



**Abbildung 77** – Prinzip der Ermittlung des Versatzes der Nozzle mit 2 Kameras (Draufsicht)

## 5.5 Anlagerungen an der Nozzle

Dieser Punkt behandelt die Anlagerung von Flüssigkeit oder Partikeln an der Nozzle. Diese beeinträchtigen oder verhindern den Tropfenflug trotz optimaler Dosierparameter. Die Ursachen sind im Allgemeinen zurückzuführen auf:

- Gasblasen im Schlauch- bzw. Kapillarsystem
- Ungünstige Dosierparameter
- Eintrocknung von Suspensionen

Diese Faktoren sind Effekte die bei einem ordnungsgemäß eingerichteten und betriebenen Gerät während des Betriebes auftreten können. Das Ausbleiben der Tropfenbildung aufgrund von Beschädigungen oder unsachgemäßer Inbetriebnahme bleiben hier unberücksichtigt.

### Gasblasen im Kapillarsystem

Nach längeren Standzeiten können sich im Schlauch- und Kapillarsystem Gasblasen bilden. Diese bewirken eine Unterbrechung des Kraftschlusses innerhalb der Systemflüssigkeit. Die Ursache liegt in der vergleichsweise hohen Kompressibilität von Gasen gegenüber Flüssigkeiten. Dadurch werden der Dosievorgang und das Nachfließen der Flüssigkeit aus dem Vorratsbehälter be- bzw. verhindert.

### Anlagerungen von Flüssigkeit an der Nozzle

Dieser Zustand existiert in diversen Erscheinungsformen. Auszugsweise sind verschiedene Formen der Anlagerung in Abbildung 78 dargestellt. Die Ursachen sind in der Regel:

- Luftblasen im System
- Betrieb mit unabgestimmten Parametern



**Abbildung 78** – Flüssigkeitsanlagerung an der Nozzle

Die hier im Vordergrund stehende Ursache ist das Ansteuern des Piezokristalls mit ungünstigen Parametern. Diese haben während des Dosievorganges die Anlagerung von Feuchtigkeit an der Nozzle zur Folge. Dies wirkt sich in der Beeinträchtigung des Tropfenabschusses aus. Es entstehen Sattelitentropfen, Die Flugbahnen weichen von der Ideallinie ab oder der Dosievorgang kommt zum Erliegen.

### 5.5.1 Gegenmaßnahmen

Mit den systemeigenen Komponenten und deren gezielter Ansteuerung lassen sich diese Unregelmäßigkeiten beheben. Im Wesentlichen stehen dafür Wasch- und Spülvorgänge zur Verfügung. Die automatische Durchführung gehört zum Funktionsumfang der üblichen Dosiersysteme.

#### Waschen

Als Waschvorgang wird das Eintauchen der Nozzle in die Waschstation bezeichnet. Dabei wird die Nozzle mit der Waschlösung umspült. Beim Herausziehen der Nozzle bleibt keine Flüssigkeit an der Nozzle hängen. Die geschieht aufgrund der stärkeren Kohäsionskraft innerhalb der Waschlösung gegenüber der Adhäsionskraft zwischen Nozzle und Waschlösung,. Anwendung findet das Waschen bei Anlagerung von Flüssigkeit, welche den Betrieb mit nicht abgestimmten Dosierparametern verursacht wird. Dies hat den Vorteil, dass die bereits aspirierte Flüssigkeit nicht beeinflusst wird.

#### Spülen

Für die Beseitigung von Luftblasen im System eignen sich lange Spülprozesse. Die Pumpen fördern dabei Systemflüssigkeit aus dem Vorratsbehälter über die Nozzle in die Waschstation. Mithilfe des Volumenstroms werden die Luftblasen aus dem Kapillarsystem in die Waschstation transportiert. Bereits aspirierte Flüssigkeiten gehen bei diesem Vorgang verloren.

Das Spülen der Kreisläufe ist ein fester Bestandteil der Wartung und Inbetriebnahme. Weiterhin erfolgt auf diese Weise die Beseitigung von Verschmutzungen innerhalb der Nozzle. Bei der Wartung sind daher Mindestspülzeiten bzw. Mindestspülmengen notwendig um sicher zu stellen, dass der gesamte Inhalt der Kapillaren erneuert wird. Bei Spülenvorgängen im laufenden Betrieb ist eine geringere Menge ausreichend, da sich die Bildung von Luftblasen durch unabgestimmte Parameter nur im Bereich des Ausgangs der Nozzle vollzieht.

### 5.5.2 Automatische Erkennung

Grundlage der automatischen Beseitigung von Luftblasen oder angelagerter Flüssigkeit ist die eigenständige Erkennung durch das System. Die Umsetzung mithilfe der vorhandenen Hardware wird auch hier angestrebt. Die Durchführung der Erkennung soll dabei sowohl ein Bestandteil der Routinekontrollen im laufenden Dosievorgang als auch eine Subroutine beim Finden der optimalen Dosierparameter sein.

#### Detektion von Luftblasen

Die Detektion von Luftblasen in der Nozzle kann mit der zur Verfügung stehenden Technik nicht vorgenommen werden. Anhand des Systemverhaltens kann jedoch auf das Vorhandensein von Luftblasen geschlussfolgert werden. Das wesentliche Indiz ist das Ausbleiben der Tropfenbildung obwohl mit der gleichen Konfiguration bereits erfolgreich dosiert worden ist.

#### Detektion von Anlagerung

Die Ausgangsinformation zur Erkennung von Anlagerungen ist das Bild der jeweiligen Nozzle, aufgenommen an der optimalen Kameraposition. Für die Erkennung bieten sich ebenfalls Verfahren aus der Bildverarbeitung an. Aufgrund der unterschiedlichen Erscheinungsformen ist die robuste Detektion mit erhöhtem Aufwand verbunden. Im Wesentlichen bieten sich die folgenden Verfahren an:

- Mustererkennung mit Hilfe von Schablone und Korrelation
- Mustererkennung über Klassifizierer
- Erkennung über signifikante Linien

Das gemeinsame Ziel dieser Verfahren ist die Unterscheidung zwischen einer Nozzle im operationsfähigen und nicht operationsfähigen Zustand. Als operationsfähig wird dabei die Nozzle ohne Benetzung und Anlagerungen definiert. Sobald die definierten Merkmale des Bildes nicht mit denen einer betriebsfähigen Nozzle übereinstimmen, gilt die Nozzle als nicht operationsfähig [130].

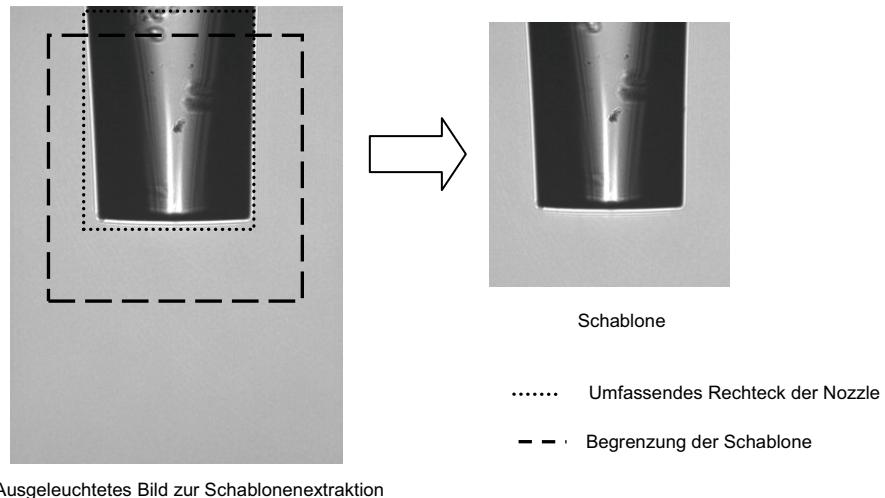
Bei der nachfolgenden Realisierung ist ein Verfahren mit Aufnahme einer Schablone beschrieben. Dieses sehr zuverlässige Verfahren benötigt jedoch einmalig eine Interaktion mit dem Benutzer. Eine alternative Methode, welche völlig autonom arbeiten kann, besteht in der Erkennung signifikanter Linie mit Hilfe der Hough-Transformation. Eine Realisierung die ebenso zuverlässig funktioniert stellt eine Herausforderung dar.

### 5.5.3 Technische Umsetzung

Dieses Verfahren basiert auf dem direkten Vergleich zwischen einer aufgenommenen Vorlage und dem aktuellen Bild der Nozzle. Als Vorlage wird dabei ein Bild der jeweiligen Nozzle im operationsfähigen Zustand, d.h. ohne Anlagerungen, bezeichnet.

#### Aufnahme der Schablone

Basierend auf dem Algorithmus zur Erkennung der Nozzle erfolgt die Extraktion der Schablone. In Abbildung 79 ist die Form und Größe des Schablonenausschnittes dargestellt.



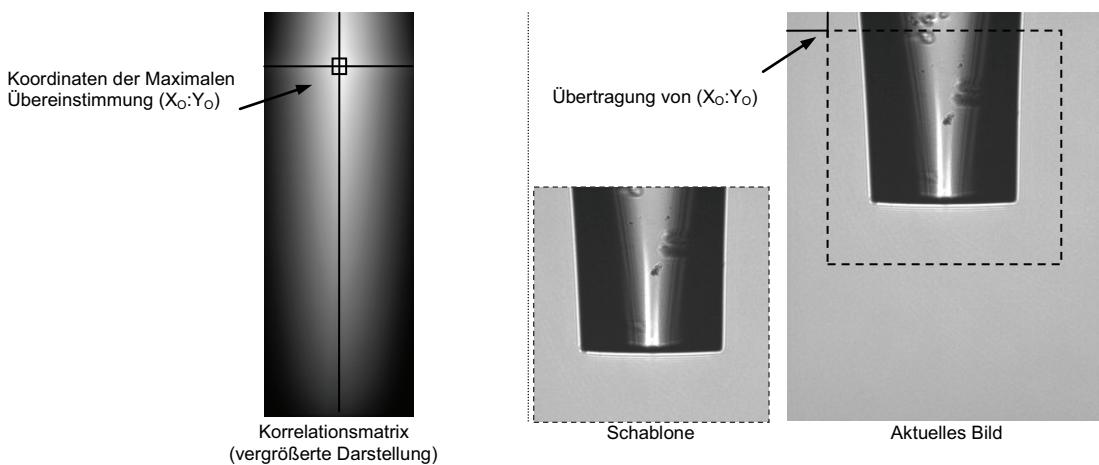
**Abbildung 79** – Extraktion der Schablone der operationsfähigen Nozzle

Insbesondere an den Stellen an denen die Anlagerung der Flüssigkeit erwartet wird, ist der Bereich der Schablone gegenüber dem umfassenden Rechteck vergrößert. Insbesondere sind dies die Seiten und der Ausgang der Nozzle. Der Bereich am oberen Ende hingegen ist abgeschnitten. Das Verkürzen der Schablone ist aufgrund von leichten Positionierungsgenauigkeiten notwendig. Begründet ist dies darin, dass bei der erneuten Einnahme der Aufnahmeposition die Nozzle sich im ungünstigen Fall an einer Position oberhalb, ihrer Position während der Aufnahme, im Bild befindet. Infolgedessen wäre die Nozzle der Schablone größer als die Nozzle im aktuellen Bild. Das Fehlerrisiko der nachfolgenden Schritte steigt dadurch enorm.

Den kritischen Punkt bei diesem Verfahren stellt die Aufnahme der Schablone dar. Eine mit Fehlern behaftete Schablone hat eine permanente Falschauswertung des betreffenden Bildes zur Folge. Daher ist dieser Schritt ein Unsicherheitsfaktor. Abhilfe würden Verfahren schaffen, bei denen die Merkmalserkennung alleinig auf der Bildinformation beruht.

### Aufnahme des neuen Motiv und Korrelation mit der Schablone

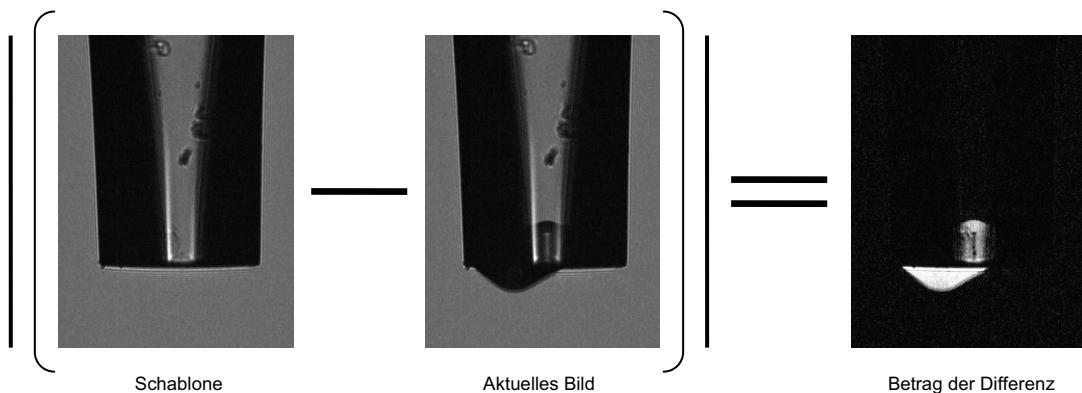
Der erste Schritt ist die Wiedererkennung der Schablone im aktuell aufgenommenen Bild. Der verwendete Korrelationsalgorithmus basiert auf einfachen Routinen ohne Berücksichtigung von Skalierung oder Rotationsverschiebung. In der resultierenden Matrix, siehe Abbildung 80, repräsentiert der höchste Zahlenwert die beste Übereinstimmung. Durch Lokalisierung dieses Maximums in der Matrix ergeben sich die Koordinaten der denen die Schablone der Nozzle und Nozzle im aktuelles Bild am meisten übereinstimmen. Ein Bild der Größe der Schablone wird im Anschluss daran ausgeschnitten [131].



**Abbildung 80** – Matrix der Korrelation

### Erstellung des Differenzbildes

An dieser Stelle erfolgt die Auswertung der Unterschiede zwischen Schablone und dem Ausschnitt. Dazu wird aus beiden Matrizen der Betrag aus deren Differenz gebildet. Das Resultat dieser Operation, das Differenzbild, bildet die Grundlage der für die weitere Verarbeitung.



**Abbildung 81** – Prinzip der Berechnung des Differenzbildes

### Verarbeitung des Differenzbildes

Die Einleitung dieses Schrittes besteht in der Umwandlung in ein Binärbild. Dabei wird mit Hilfe des Verfahrens von Otsu der Schwellwert bestimmt. Vor dem Initiieren weiterer Schritte ist die Beseitigung einer systematisch auftretenden Unregelmäßigkeit erforderlich. In der Nozzle bildet sich während des Tropfenabschusses kurzzeitig ein Freiraum. Dieser ist auf dem Bild, welches während der Dosierung gemacht, wird im Gegensatz zur Schablone vorhanden. Die ungefähre Position und Größe ist bekannt, so dass dieser Bereich durch Überblendung mit einem schwarzen Rechteck, aus dem Binärbild entfernt werden kann [132].



**Abbildung 82** – Prinzip der Erkennung angelagerter Flüssigkeit aus dem Differenzbild

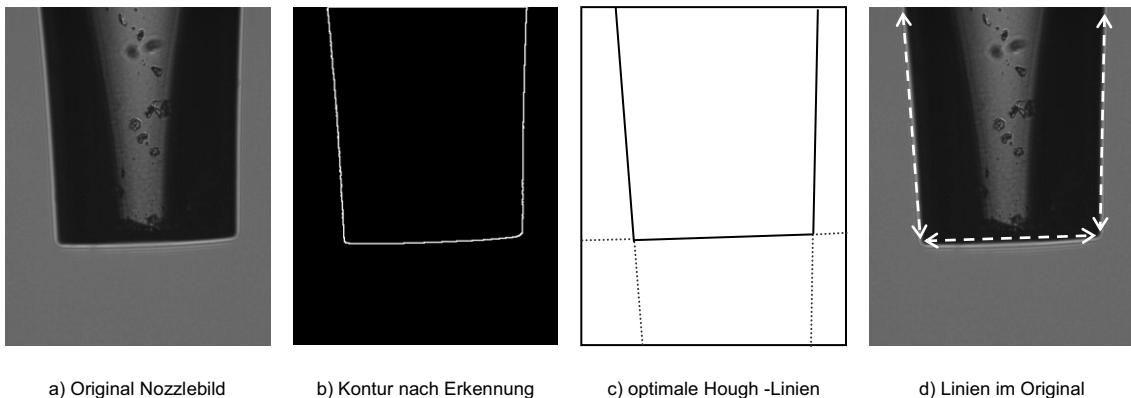
Die verbleibenden Konturen werden für die Entfernung kleiner Unregelmäßigkeiten morphologisch geöffnet. Es folgt die Untersuchung der enthaltenen Konturen auf ihre Größe, ggf. werden bei zu kleinen Dimensionen die Konturen gelöscht. Im Anschluss werden die verbleibenden Konturen gezählt. Das Kriterium für angelagerte Flüssigkeit ist erfüllt, wenn das Resultat dieser Zählung größer als Null ist. Zur Visualisierung werden die Ränder der als Feuchtigkeit geltenden Konturen in das Originalbild projiziert.

#### **5.5.4 Alternative Erkennungsmethode mit Hilfe der Hough-Transformation**

Die Schwachstelle des vorgestellten, auf Schablonen basierenden, Verfahrens ist die Deklaration der gültigen Schablone durch den Benutzer. Das nachfolgend vorgestellte Verfahren beherbergt das Potential ohne Interaktion des Benutzers auszukommen.

### Konzept

Die Grundlegende Idee für diese Art ist die geometrische Form einer operationsfähigen Nozzle. Sobald sich Flüssigkeit oder Partikel anlagern, tritt eine signifikante Änderung der Form auf. Im Wesentlichen ist eine operationsfähige Nozzle, dargestellt in Abbildung 83, durch 3 charakteristische Linien begrenzt.



a) Original Nozzlebild      b) Kontur nach Erkennung      c) optimale Hough -Linien      d) Linien im Original

**Abbildung 83** – Extraktion der signifikanten Linien aus der Kontur einer operationsfähigen Nozzle

Die Basis für die Linienextraktion ist die Kontur der Nozzle, welche bereits mit der Methode aus Abschnitt 5.4.2 ermittelt worden ist. Bei Anwendung der Hough-Transformation auf diese Umrisse liefert diese die Daten der signifikanten Linien zurück.

### Hough-Transformation

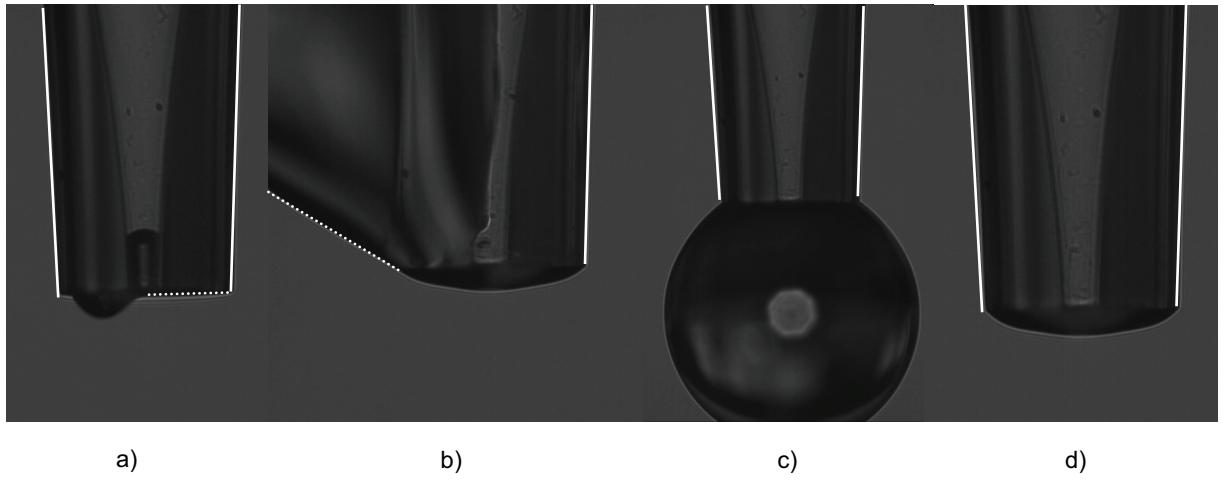
Mit Hilfe der Hough-Transformation lassen sich parametrierbare geometrische Figuren, wie beispielsweise Geraden und Ellipsen, in einem Bild ermitteln. Die gefundenen Figuren werden dann in Form von Parametern zurückgeliefert. Bei Kreisen und Ellipsen sind dies Radien und Mittel- bzw. Brennpunkte. Bei Linien sind es Vektoren. Die verwendete Bibliothek zur Bildverarbeitung – OpenCV – bietet bei der Hough-Transformation eine spezielle Form an, welche anstelle von Geraden, nach einen speziellen Algorithmus, Linien mit Anfangs und Endpunkt zurückliefert [133].

### Ideales Ergebnis

Aufgrund der Vorstellung, wie die signifikanten Linien bei einer Nozzle ohne Feuchtigkeit verlaufen sollen, lassen sich Kennwerte und Toleranzen festlegen. Für diesen Idealfall sind dies drei Linien mit entsprechenden Anfangs- und Endpunkten. Diese Punkte ermöglichen weiterhin die Erkennung der Ausrichtung der Linie. Im konkreten Fall ist eine operationsfähige Nozzle gekennzeichnet durch:

- Eine horizontale Linie: Länge von  $300 \mu\text{m} - 500 \mu\text{m}$ ; Winkel von  $-5^\circ$  bis  $5^\circ$
- Erste vertikale Linie: Länge von  $500 \mu\text{m} - 700 \mu\text{m}$ ; Winkel von  $80^\circ$  bis  $90^\circ$
- Zweite vertikale Linie: Länge von  $500 \mu\text{m} - 700 \mu\text{m}$ ; Winkel von  $90^\circ$  bis  $110^\circ$

Das Ausbleiben einer dieser Linien oder der Verlauf außerhalb der Toleranzgrenzen ist demnach ein Indiz auf Anlagerungen



**Abbildung 84** – Signifikante Linien der Hough-Transformation bei der Erkennung von Flüssigkeitsanlagerung

Anmerkung zu Abbildung 84:

In Abbildung 84 a) wurde die Begrenzungen detektiert, jedoch fällt die zu kleine Linie der unteren Nozzlebegrenzung aus dem Raster. Auf dem Bild b) ist nur eine Randlinie detektiert, die den Kriterien entspricht. Die zweite signifikante Linie (gepunktet) entspricht der unteren Begrenzung, jedoch besitzt sie nicht die erwartete Ausrichtung. In den Bildern c) und d) fehlte jeweils die untere Nozzlebegrenzung, da diese durch die Krümmung vom Hough-Algorithmus nicht als gerade erkannt wurde.

### Kritische Aspekte

Die größte Unsicherheit besteht bei der Parametrisierung der Funktionen der Hough-Transformation. Die wesentlichen Parameter sind der Schwellwert für die Linie im Akkumulator, die Mindestlänge und der Spaltenabstand. Bei zu kleinen Werten enthält das Ergebnis eine Vielzahl von Linien, welche jedoch nicht die oben genannten Kriterien erfüllen. Weiterhin kommt es vor, dass bei trotz Flüssigkeitsanlagerung die Lösungsmenge nicht leer ist. Im umgekehrten Fall weisen die Parameter zu hohe Werte auf. Dadurch entfallen im Voraus zu viele Linien und die Lösungsmenge ist trotz einer operationsfähigen Nozzle zu klein.

Im Allgemeinen sind die Ergebnisse eine Vielzahl kleinerer Linien, auf welche die oben genannten Kriterien nicht zutreffen. Weiterhin werden diese Ergebnisse vom verwendeten Hough-Algorithmus auch geliefert, wenn sich Flüssigkeit an die Nozzle angelagert hat. Diese Phänomene erschweren die Auswertung enorm. Es liegt jedoch im Bereich des Möglichen durch umfangreiche Modifikation der Funktionen der Hough-Transformation, die gewünschten Ergebnisse zu erhalten. Für die hier angestrebten Lösungen übersteigt das jedoch den Rahmen. Da ein funktionierendes Verfahren zu Anlagerungserkennung existiert wird das Verfahren, basierend auf der Hough-Transformation, nicht weiter verfolgt.

## 5.6 Suchalgorithmus zum Finden der Dosierparameter

In der praktischen Anwendung ist es daher erforderlich vor der Verwendung einer Flüssigkeit in einem manuellen Prozess die Dosierparameter zu finden. Um das System autonom arbeiten zu lassen oder in übergeordnete automatische Abläufe zu integrieren, ist die Automatisierung dieses Vorgangs erforderlich. Im Folgenden werden Methoden vorgestellt, welche dies ermöglichen.

Nach der theoretischen Vor betrachtung ist die erfolgreiche Dosierung von der verwendeten Flüssigkeit, dem Ansteuersignal und der Nozzlegeometrie abhängig. Die beeinflussbaren Parameter des Ansteuersignals setzen sich zusammen aus Spannung, Pulsbreite und Frequenz. Aufgrund des Zusammenhangs zwischen systematischem Fehler und Frequenz, siehe Abschnitt 4.4.3, kann die Frequenz nicht beliebig gewählt werden. Sie sollte sich in einem Bereich zwischen 400 Hz und 800 Hz befinden.

### 5.6.1 Prinzipieller Ablauf

Die technisch am einfachsten zu realisierende Variante ist die systematische Testung von verschiedenen Parametersätzen. Bei der Variation von allen drei Parametern (Spannung, Impulsbreite, Frequenz) ergeben sich zu viele Möglichkeiten um diese in einem akzeptablen Zeitrahmen zu testen. Für den Suchlauf wird daher die Frequenz, vorzugsweise bei 500 Hz, konstant gehalten. Die weiteren Testpunkte bestehen daher aus Werten von Spannung und Impulsbreite. Anhand von Erfahrungswerten lässt sich der Suchbereich weiter einschränken. Typische Bereiche sind:

- Spannung: 60 V – 130 V
- Impulsbreite: 30 µs – 60 µs

Über die Vergrößerung der Schrittweite zwischen den Parametern kann ebenfalls die Anzahl der Versuche reduziert werden. Vor dem eigentlichen Testdurchlauf wird die Schablone der Nozzle aufgenommen und die entsprechende Flüssigkeit aspiriert. Es folgt die Positionierung der Nozzle vor der Kamera. Jetzt werden systematisch alle Parametersätze nach dem Ablauf, dargestellt in Abbildung 85, getestet.

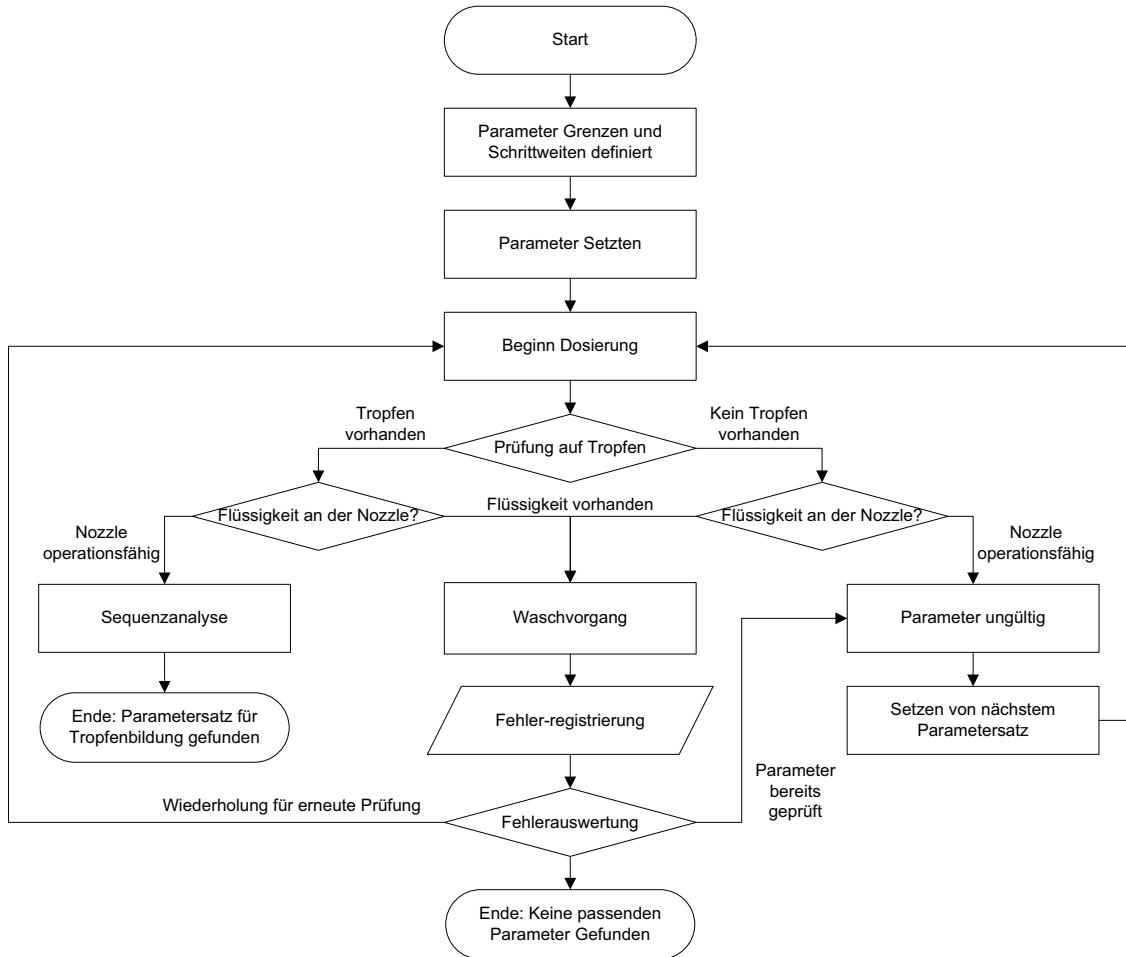


Abbildung 85 – Ablaufschema der automatischen Parametersuche

Die Überprüfungen der Nozzle auf angelagerte Flüssigkeit ist zweistufig gestaltet. Es wird sowohl während als auch nach dem Dosievorgang auf Flüssigkeitsanlagerungen hin kontrolliert. Diese Vorgehensweise basiert auf der Beobachtung, dass sich Flüssigkeit, die sich während des Dosievorganges an der Nozzle bildet, wieder zurückzieht. Somit erfolgt das Filtern der Parameter. Einige Parameter bewirken zwar die Tropfenbildung mit Flüssigkeitsansammlung an der Nozzle. Diese werden jedoch über die Flüssigkeitsdetektion während des Dosierprozesses erkannt und verworfen, da das Risiko der Vergrößerung des Störeffektes besteht und u. U. die Tropfenbildung zu einem späteren Zeitpunkt zum Erliegen kommt.

Bei einer positiven Detektion von angelagerter Flüssigkeit nach Beenden der Tropfenabgabe erfolgt die automatische Einleitung eines Waschvorganges. Im Anschluss wird der Dosierversuch wiederholt um auszuschließen, dass die Parameter wegen der angelagerten Flüssigkeit keine Tropfenbildung bewirken konnten. Für jeden Parametersatz wird jedoch maximal nur eine Wiederholung bei Flüssigkeitsanlagerung durchgeführt.

Das Ende des gesamten Suchlaufs ist erreicht sobald ein Parametersatz gefunden worden ist bei dem die Tropfenbildung ohne die Anlagerung von Flüssigkeit erreicht wird. Im ungünstigsten Fall ist das Ende nach der erfolglosen Testung aller Kombinationen erreicht.

Alternativ ist der Abbruch nach erfolgreichem Finden von Parameter nicht erforderliche. Eine Variante ist die Testung aller Parametersätze im definierten Bereich. Das Ergebnis besteht dann aus einer Übersicht, ähnlich der in Abbildung 86, welche die Parametersätze und das Ergebnis der Tropfenbildung enthält.

	60 V	80 V	100 V	120 V
35 µs	0	0	0	0
38 µs	0	0	1	1
41 µs	0	1	1	1
44 µs	0	0	1	1

0 – Keine Tropfenbildung  
1 - Tropfenbildung

**Abbildung 86** – Ergebnis nach einfachem Suchlauf

Diese Resultate sind jedoch noch nicht ausreichend für eine konkrete Aussage über die Verwendbarkeit der Dosierparameter. Dieses Ergebnis sagt nur aus, dass die Tropfenbildung ohne Anlagerung von Feuchtigkeit erfolgreich war. Die weiteren Analysen, wie die Positionierung im Fokus, die Messung des Volumens und die Analyse des Flugverhaltens, müssen noch vorgenommen werden um die Dosierparameter für gültig zu befinden.

### 5.6.2 Reduzierung der Versuche

Der Einfluss der Änderung eines Parameters in der jeweils kleinsten Schrittweite reicht bereits aus, um die Schwelle zwischen akzeptabler Tropfenbildung und unerwünschten Effekten zu überschreiten. Die Testung der Bereiche der Dosierparameter in der kleinsten Schrittweite würde eine hohe Anzahl an Testpunkten bedeuten. Zum Beispiel liegen typische Dosierparameter zwischen 70 V und 130 V sowie 30 µs und 60 µs. So ergeben sich bei der Testung der kleinsten Schrittweite 180 Messpunkte. Es ist mit dem hier vorgestellten Verfahren nicht möglich diese in einem angemessenen Zeitrahmen zu untersuchen. Daher ist es empfehlenswert eine Vorselektion mit größeren Schrittweiten der einzelnen Parameter durchzuführen.

Die Datenpunkte dieser Auswahl werden anschließend in einem feineren Raster genauer untersucht. Optional können die Parametersätze komplett vermessen werden. Die Auswertung der Vorselektion (Screening) mit der Festlegung des feineren Suchrasters ist in Abbildung 87 dargestellt. Auf die Messpunkte des feineren Suchrasters werden die kompletten Algorithmen der Sequenzanalyse angewendet. Das Endergebnis, ein Satz gültigen Parameter, enthält ausgewählte Eigenschaften sowie einen Vermerk über die Erfüllung der Dosierkriterien.

					Feinsuche				Erweitertes Ergebnis	
					105 V	115 V	125 V	135 V		
					38 µs	0	0	0	0	
30 µs	0	0	0	0	42 µs	0	1 S F	1 S F	1 S	
40 µs	0	0	1	1	46 µs	0	1	1	1 S	
50 µs	0	1	1	1	50 µs	1 F	1	1	1 S	V = 360 pl v = 2,5 m/s (verwendbar)
					54 µs	1 F	1 F	1	0	S - Satellitentropfen F - Flüssigkeitsanlagerung

0 – Keine Tropfenbildung  
1 – Tropfenbildung

Abbildung 87 – Schema der Ergebnisse der erweiterten automatischen Suche

Der wesentliche Nachteil dieser Methode ist die Zeitspanne. Jeder Datenpunkt wird nach einer kompletten Sequenzanalyse, siehe Abschnitt 5.2 unterzogen. Die komplette Bewertung der Güte des Tropfenschusses nimmt pro Datensatz bis zu 40 s in Anspruch.

## 5.7 Kalibrierung über die Systemkenntnis

Im Gegensatz zu den Suchverfahren sollen die folgenden Ansätze eine gezielte Beeinflussung der Tropfenbildung bewirken. Das Hauptanliegen dieser Manipulation besteht zum einen darin die Tropfenbildung in eine Form zu bringen, die den Bewertungskriterien entspricht und zum anderen gegenüber dem Suchverfahren Zeit einzusparen. Zusätzlich sollte die Möglichkeit bestehen die Tropfengröße und Geschwindigkeit innerhalb gewisser Grenzen zu beeinflussen. Voraussetzung ist die Kenntnis des Einflusses der Dosierparameter auf den Vorgang der Tropfenbildung. Aus den theoretischen Vorberichtigungen sind die prinzipiellen Zusammenhänge bekannt. Die Überprüfung, in wie weit diese für das bestehende System zutreffend sind, kann jedoch nur experimentell überprüft werden.

Während der Untersuchungen hat sich die Erstellung kompletter Messreihen als problematisch herausgestellt. Das wesentliche Problem besteht darin, dass die Veränderung eines Parameters oftmals Änderungen des anderen Parameters erfordert damit die Tropfenbildung von ähnlicher Qualität bestehen bleibt. Beispielsweise führt die Erhöhung der Spannung zum Auftreten von Satellitentropfen, welche jedoch durch das Verringern der Impulsbreite wieder korrigiert werden müssen. Somit repräsentieren aber die Messreihen nicht mehr den Nachweis für den Einfluss eines einzelnen Parameters.

### 5.7.1 Messungen der Einflüsse der Dosierparameter

Die zu Beginn der Arbeit durchgeführten theoretischen Betrachtungen, siehe Abschnitt 2.6 stellen eine Grundlage für die gezielte Tropfenmanipulation dar. Mit diesem System aufgenommene Messreihen der beeinflussbaren Parameter werden im Folgenden exemplarisch untersucht.

#### Frequenz

Eine Messreihe aufgenommen bei kontinuierlicher Steigerung der Frequenz, ist dargestellt in Abbildung 88. Deutlich erkennbar ist die Verringerung der Tropfengröße bei zunehmender Frequenz. Die Messung ist jedoch auf einen Frequenzbereich, in dem die Tropfenbildung gemäß den definierten Kriterien erfolgt, eingeschränkt. Bei einer weiteren Steigerung ist die Nachjustierung der Parameter von Pulsbreite und Spannung erforderlich. Erfolgt diese nicht, kann dies sonst zur Bildung von Satellitentropfen, Anlagerung von Flüssigkeit oder der Einstellung der Tropfenbildung führen. Somit ist der reale Einfluss im gesamten Frequenzbereich auf das verwendete System nicht vollständig ermittelbar.

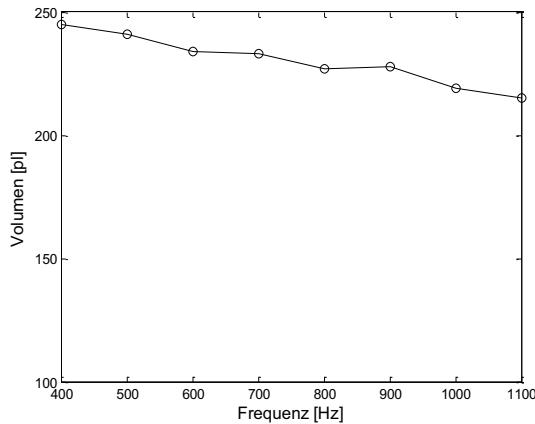


Abbildung 88 – Gemessene Abhängigkeit zwischen Frequenz und Volumen( $U=110\text{ V}$ ,  $T=44\text{ }\mu\text{s}$ )

Die Zusammenhänge von Frequenz und Resonanzeffekten werden nicht untersucht. Die Frequenz bietet an sich viel Potential bei der Manipulation von Tropfengröße und Durchfluss. Aufgrund des direkten Zusammenhangs, welcher zwischen Frequenz und Messfehler besteht, werden keine weiteren Untersuchungen in diese Richtung unternommen.

### Spannung

Dieser Kennwert symbolisiert den Energieeintrag in das System. Die theoretischen Vor betrachtungen stimmen hier mit den Messwerten, dargestellt in Abbildung 89, überein. Der erhöhte Impuls bewirkt sowohl eine Vergrößerung des Tropfenvolumens als auch der Tropfengeschwindigkeit. Das mit zunehmender Spannung wachsende Tropfenvolumen tendiert jedoch dazu in Satellitentropfen zu zerfallen. Daher kann im Rahmen der Kriterien der Tropfenbildung die Spannung auch nicht grenzenlos variiert werden.

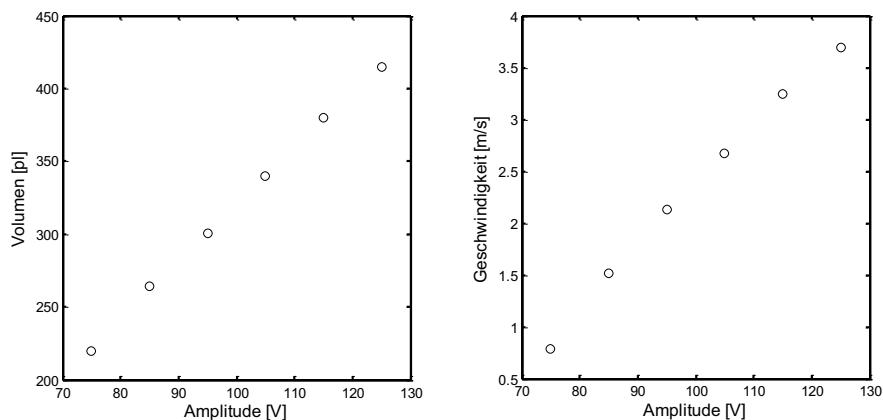


Abbildung 89 – Diagramme des Einflusses der Impulsamplitude auf das Tropfenvolumen und die Tropfengeschwindigkeit

### Impulsbreite

Aus den in den theoretischen Vorbetrachtungen angeführten Überlegungen (vgl. Abschnitt 2.6.3) ist erkennbar, dass insbesondere der Einfluss der Impulsbreite abhängig von der Frequenz, der Flüssigkeit und der Dosierkammergeometrie ist. Neben dem ungeklärten Einfluss von Resonanzen ist die Pulsbreite ein wichtiger Punkt beim Timing des Tropfenabriß. Dieser Aspekt wird hier jedoch nicht ausgewertet. Im Zuge der Automatisierung besteht bei diesem Parameter die Schwierigkeit, zu erkennen an welcher Position im approximierten Verlauf sich der aktuelle Wert befindet. Für die Standortbestimmung sind mehrere Messpunkte erforderlich. Dabei besteht jedoch die Schwierigkeit darin, dass die Tropfenbildung bei diesen Messungen nicht gewährleistet bzw. belastet mit Satellitentropfen oder Flüssigkeitsanlagerung ist.

### **5.7.2 Unberücksichtige Aspekte**

#### Unbestimme Nozzle

In der Theorie wird nicht berücksichtigt, dass Nozzles der gleichen Bauweise, trotz Befüllung mit der gleichen Flüssigkeit, unterschiedliche Dosierparameter benötigen um einen Tropfen gemäß der Kriterien zu erzeugen. Im Umkehrschluss ist dies gleichbedeutend mit dem Phänomen, dass baugleiche Nozzles bei gleicher Parametrierung Tropfen mit unterschiedlichen Eigenschaften erzeugen. Ein Indiz für dieses Verhalten liegt vermutlich in kleinen Abweichungen, die bei der Fertigung der Nozzles entstehen. Daraus resultieren u. U. unterschiedliche Resonanz-eigenschaften, Wirkungsgrade des Piezokristall oder Distanzen bis zum Ausgang der Nozzle. Dieses Verhalten ist unter Umständen nicht übertragbar auf andere Fertigungsverfahren. In der Praxis bedeutet dieses Verhalten jedoch, dass individuell die Dosierparameter für die jeweilige Flüssigkeit bei jeder Nozzle neu bestimmt werden müssen.

#### Modifikation des Ansteuersignals

Die Möglichkeiten die Tropfenbildung zu beeinflussen sind mit der vorhandenen Hardware begrenzt. Es können ausschließlich die wesentlichen Parameter des Rechtecksignals zur Ansteuerung verändert werden. Weitere Möglichkeiten bestehen in der Verwendung von speziellen Impulssequenzen. Diese können jedoch mit dem hier zur Verfügung stehenden Dosierroboter nicht erzeugt werden. Des Weiteren sind für die Berechnung der Parameter dieser Impulsfolgen Verfahren erforderlich, die aufgrund des Umfangs und der Komplexität nicht näher beleuchtet werden [134].

### 5.7.3 Ansätze in der praktischen Umsetzung

Das eigentliche Ziel einer automatischen Kalibrierung in der Praxis ist die Realisierung des Vorganges an sich. Sekundäre Ziele sind dabei eine zuverlässige Vorgehensweise, die auf möglichst wenigen Schritten beruht und damit eine Substanz- und Zeitersparnis darstellt. Die vorangegangen Messungen des Systemverhaltes liefern jedoch nicht ausreichend verwertbare Informationen über das Verhalten bei der Tropfenbildung um einen Automatismus zu entwickeln. Aufgrund der unbekannten Komponenten, wie verwendeter Nozzle und den Eigenschaften der zu dosierenden Flüssigkeit müsste das Verhalten individuell ermittelt werden. Dies ist jedoch nur über viele Messungen und anschließender Analyse möglich. Dies zu automatisieren ist jedoch nicht im Sinne einer praktischen Lösung bzw. bedeutet in Endeffekt einen ähnlichen zeitlichen Aufwand wie beim vorgestellten Suchalgorithmus. Als Vorraussetzung um diese Kalibrierung vorzunehmen ist ein Parametersatz, der das Generieren eines Tröpfchenstrahls ohne Flüssigkeitsanlagerung bewirkt. Dieser kann über eine Suche wie in Abschnitt 5.6 gefunden werden.

Das Verfahren, welches bei der manuellen Kalibrierung verwendet wird, besteht neben dem Probieren, aus einigen Abläufen, die auf Algorithmen übertragen werden könnten. Dabei bestehen in der Kalibrierung zwei verschiedenen Zielstellungen. Zum einen soll der Tropfenbildungsvorgang innerhalb der definierten Kriterien ablaufen werden und zum anderen sollen Eigenschaften wie Tropfenvolumen, Tropfengeschwindigkeit oder Volumenfluss in gewünschte Bereiche gebracht werden.

#### Beseitigen von Satellitentropfen

Das Ziel dieses Verfahrens ist es, Satellitentropfen durch Parametervariation zu beseitigen. Als Parameter zur Einflussnahme stehen Spannung und Impulsbreite zur Verfügung. Eine Beseitigungsstrategie besteht in der Reduzierung der Spannung. Wenn möglich sollte dabei die Schwelle der Tropfenbildung nicht unterschritten werden. Die Folge des Unterschreitens wäre höchstwahrscheinlich die Anlagerung von Flüssigkeit. Analog dazu kann auch die Pulsbreite bei konstanter Spannung variiert werden. Ein Indiz ob die Änderung einen positiven Einfluss ausübt oder nicht ist der Vergleich der Abstände von Tropfen und Satellit. Eine Verringerung des Abstandes wäre somit gleichbedeutend mit der Variation des richtigen Parameters. Für die Erkennung durch den Tropfendetektionsalgorithmus ist die Einstellung einer Stroboskopverzögerung, bei der beide Tropfen zu erkennen sind, notwendig. Dieser Wert kann jedoch problemlos über eine leichte Modifikation des Algorithmus zur Sequenzanalyse gefunden werden.

### Erhöhen des Durchflusses

Eine effektive Erhöhung kann zum einen über die Steuerung der Tropfenrate und zum anderen über die Vergrößerung des Tropfenvolumens erreicht werden. Dadurch, dass die Tropfengröße von allen einstellbaren Dosierparametern abhängig ist, bieten sich hier Frequenz und Spannung an. Da die Frequenz im direkten Zusammenhang zum Messfehler steht, empfiehlt sich deren Variation nicht, da eine quantitative Erfassung des Tropfenvolumens dann nicht mehr möglich ist. Falls dieses Manko durch ein hoch auflösendes Messverfahren eliminiert wird, ist die Steigerung der Frequenz das geeignetste Verfahren um den Durchfluss zu erhöhen. Aufgrund der Tatsache, dass die Tropfengröße mit steigender Frequenz abnimmt, entsteht an einem gewissen Punkt voraussichtlich ein Maximum bei dem Tropfenraten und Tropfengröße den höchsten Durchfluss bewirken.

### Beeinflussen der Geschwindigkeit

Anhand der Erkenntnisse aus der Theorie und Praxis eignen sich die Spannung und die Pulsbreite für eine Beeinflussung der Geschwindigkeit. An dieser Stelle ist jedoch zu beachten, dass sich der Einfluss durch die entsprechende Änderung der Parameter nicht ausschließlich auf die Geschwindigkeit sondern auch auf die weiteren Tropfeneigenschaften auswirkt. In wie weit unterschiedliche Geschwindigkeiten für den Dosierprozess relevant sind, ist ungewiss.

## 6 Zusammenfassung und Ausblick

In den vorangegangen Kapiteln wurden die Besonderheiten der Dosierer auf Basis der Piezotechnologie beschrieben. Die Analyse der Abläufe im Betrieb bietet Raum für Optimierungen. Die Annäherung erfolgte dabei mit praktischem Bezug und dem Hintergrund, den Dosierroboter in automatische Abläufe zu integrieren. An dieser Stelle werden die wichtigsten Aspekte zusammengefasst und auf die technische Realisierung eingegangen. In einem Ausblick werden weitere Möglichkeiten zur Optimierung und Anpassung der Systeme an die vorgestellten Verfahren gezeigt.

### 6.1 Zusammenfassung

Die vorgestellten Methoden basieren im Wesentlichen auf der Entwicklung von speziellen Algorithmen, welche bestehende Hardware nutzen und deren Funktionsumfang erweitern. Diese Verfahren können sowohl bei der Konzeption von Dosierrobotern Berücksichtigung finden als auch in bestehende Systeme integriert werden. Im Wesentlichen umfassen diese Neuerungen die Automatisierung von:

- Messung des Tropfenvolumens
- Bewertung der Tropfenbildung
- Erkennung von angelagerter Flüssigkeit
- Finden der Dosierparameter

Durch die modulare Gestaltung dieser Algorithmen ist, mit wenigen spezifischen Anpassungen, die Integration in unterschiedliche Dosiersysteme ähnlicher Bauart und Funktionsweise möglich. In speziellen Fällen, bei denen Bedarf an Steigerungen der erreichten Kennwerte besteht, könnten die vorgeschlagenen Alternativen Anwendung finden. Insbesondere im Bereich der Volumenmessung liegt Potenzial in etablierten Verfahren aus der Partikelmesstechnik.

Die Steigerung des Automatisierungsgrades konnte durch das gezielte Zusammenwirken der vorgestellten Algorithmen mit den Komponenten des Dosiersystems demonstriert werden. Damit wird die Einsetzbarkeit dieser Art von Dosierern in automatisierten Umgebungen und Abläufen ermöglicht. Eine vollkommene Automatisierung wurde noch nicht erreicht. Einzelne Teilbereiche, wie die Verifikationen der Schablone der Nozzle, erfordern noch die Anwesenheit eines Benutzers. In der folgenden Übersicht werden die Schwerpunkte der Arbeiten, deren technische Umsetzung und ein Blick auf die Alternativen dargestellt.

<b>Messung des Tropfenvolumens</b>		
Bisheriger Stand	Entwickelte Optimierung	Steigerungsmöglichkeit
Volumenmessung über aufwändige Wiegung oder Fluoreszenzmessung	Nutzung des bestehenden Visualisierungssystems  Tropfenerkennung via Bildverarbeitung Berechnung des Tropfenvolumens  Genauigkeit: $\pm 8\%$	Verwendung einer Hochgeschwindigkeitskamera  Verfahren aus der Partikelmesstechnik: <ul style="list-style-type: none"><li>• ILIDS</li><li>• Ortsfiltertechnik</li></ul> <b>Vorteil:</b> Sehr hohe Genauigkeiten <b>Nachteil:</b> Aufwändige Messtechnik
<b>Bewertung der Tropfenbildung</b>		
Manuelle Kontrolle; Entscheidung anhand der Erfahrung des Benutzers	Kombination von Visualisierungssystem und dessen Ansteuerung  Softwaregesteuerte Aufzeichnung und Analyse mehrerer Datenpunkte  Vollständige Automatisierung durch Algorithmen	Aufnahme mit Hochgeschwindigkeitskamera  Gleiche Algorithmen zur Auswertung nutzbar  <b>Vorteil:</b> Reale Abbildung des Vorgangs <b>Nachteil:</b> Aufwändige Messtechnik.
<b>Ermittlung des Versatzes - Erkennung der dreidimensionalen Flugbahn</b>		
Manuell, jedoch teilweise mit zusätzlichen Kameras	Algorithmus zu Erkennung der Nozzle bzw. des Tropfens in der Bildebene  Erkennung der Fokussierung und damit der dritten Raumkoordinate	Integration einer zusätzlichen Kamera  Gleiche Algorithmen zur Auswertung nutzbar  <b>Vorteil:</b> Hohe Genauigkeit, Zeitersparnis
<b>Erkennung von Anlagerungen</b>		
Manuell, keine Einbindung in laufende Prozesse	Nutzung des Visualisierungssystems  Bildverarbeitungsroutinen zur Feuchtigkeitserkennung auf Basis einer Schablone (Bestätigung erforderlich)  Automatisches Einleiten von Wasch- u. Spülvorgängen	Komplettierung des Algorithmus aus Abschnitt 5.5.4 für eine Unabhängigkeit vom Benutzer.  <b>Vorteil:</b> Höherer Automatisierungsgrad  <b>Problemtik:</b> Sehr aufwendige Umsetzung
<b>Automatisches Finden der Dosierparameter</b>		
Manuell, anhand der Erfahrung des Benutzers	Sukzessive Suche anhand definierbarer Kriterien  Systematische Testungen verschiedene Parametersätze und Protokollierung der Resultate	Gewinnen der exakten Kenntnis des Systemverhaltens ermöglicht:  Schnelle u. gezielte Kalibrierung Gezieltes Beeinflussen der Tropfen  <b>Problematiken:</b> Komplexes Systemverhalten, unbekannte Größen

**Tabelle 21 – Übersicht der vorgestellten Verfahren mit Kurzbeschreibung und Alternative**

## 6.2 Technische Umsetzung der entwickelten Lösungen

Als Basis für die Umsetzung und Erprobung aller entworfenen Verfahren wurde eine Software entwickelt. Die Basiskomponenten dienen der Kommunikation und der Ansteuerung jeder Komponente des Dosiersystems. Die einzelnen Algorithmen können in den Programmablauf integriert und über ein grafisches Benutzerinterfaces parametriert werden. Um diese Algorithmen später in die eigentliche Software des Dosierers portieren zu können, sind die jeweiligen Algorithmen als zusammenhängende Module konzipiert. Ein Schema des Testprogramms ist in Abbildung 90 dargestellt.

Während der Programmierung fanden für den Hardwarezugriff Bibliotheken der jeweiligen Hersteller Verwendung. Für den Framegrabber stand eine DLL und für die Komponenten des Dosiersystems ein ActiveX-Control zur Verfügung. Die Operationen und Unterfunktionen der Bildverarbeitungsalgorithmen stammen aus der OpenCV Bibliothek. Das grafische Benutzerinterface basiert auf der Windows API. Das Programm, welches diese Komponenten miteinander verknüpft, ist in Ada 2005 geschrieben. Mithilfe dieser Software lassen sich weiterhin Messwerte aller untersuchten Vorgänge aufzeichnen [135].

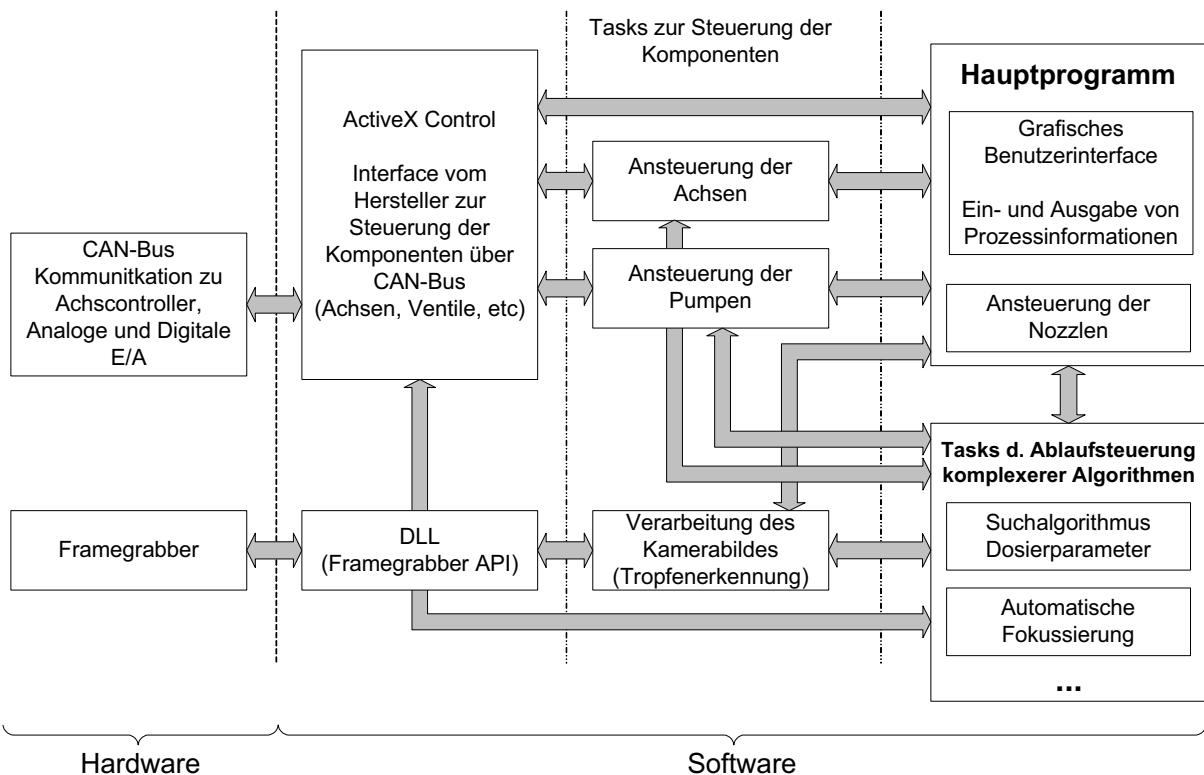


Abbildung 90 – Schema der Testsoftware

## 6.3 Ausblick

Nach der Entwicklung eines Systems zur Demonstration der Möglichkeiten bestehen die nächsten Schritte darin, die Integration in verschiedene kommerzielle Systeme vorzubereiten. Es lassen sich zwar in allen Bereichen durch weitere Forschung weitere Optimierungen vornehmen, doch sollte zunächst die Zuverlässigkeit und Robustheit unter industriellen Bedingungen geprüft werden. Die weiteren Optimierungen der Algorithmen z.B. auf Geschwindigkeit sollten erst danach erfolgen.

### 6.3.1 Überlegungen zur Integration

Im Hinblick auf die Integration der demonstrierten Algorithmen und ggf. der vorgeschlagenen alternativen Hardwarekomponenten in Dosiersysteme für den industriellen Einsatz sollten folgende Punkte beachtet werden:

- Robustes Verhalten (nach der Integration)
- Entkopplung der Messtechnik (Dezentralisierung)
- Kosten-Nutzen Analyse

Die vorgestellten Algorithmen arbeiten robust. Weiterhin sind Überlegungen über das sinnvolle Einbinden der Algorithmen in den Dosierablauf erforderlich. Zu berücksichtigen sind dabei neben der Auswertung jeglicher Resultate die zeitlichen Abläufe und ggf. die Notwendigkeit, Mechanismen für ein Rescheduling bereitzustellen.

Neben der technischen Machbarkeit existiert hinsichtlich der Integration in kommerzielle Geräte zusätzlich der wirtschaftliche Aspekt. Hochauflösende Messtechnik mit der zugehörigen Hard- und Software bedeuteten sowohl materiellen als auch Arbeitsaufwand bei der Integration. Ein Softwareupgrade jedoch, welches unter Verwendung der vorhandenen Hardware zusätzliche Funktionalität liefert, ist die Entwicklung von nur einer Komponente. Für den Anwender bedeutet dies einen Kompromiss zwischen der technisch möglichen Vollautomation und dem vertretbaren Aufwand. Die Integration zusätzlicher Hardware führt bei vielen Teilbereichen zu einer Steigerung der Genauigkeit. Exemplarisch dafür sind Hardwareergänzungen für die Messung des Tropfenvolumens oder das Ermitteln des Versatzes bzw. der Flugbahn. Weiterhin besteht bei der Erkennung von Anlagerungen und der Umsetzung des Kalibriervorganges weiteres Potenzial durch das Entwickeln komplexerer Algorithmen.

### 6.3.2 Berücksichtigung von Trends und neuen Technologien

Bei der momentanen rasanten technischen Entwicklung im Bereich von Rechentechnik, Sensoren zur Bildaufnahme und Lasertechnologie sind bei gleichen Anschaffungskosten stetige Leistungssteigerungen zu erwarten. Insbesondere bedeutet dieser Fortschritt eine Verbesserung der Abtastraten, Auflösung und der Shutterzeiten bei Kameras. Im Bereich der Rechentechnik steigern sich Verarbeitungsgeschwindigkeit und Rechenkapazität. Ebenso sind bei modernen Lasersystemen immer kleinere Systeme verfügbar. Daher könnten hochauflösende Verfahren, die aufgrund ihrer Komplexität nicht für eine Integration in Frage kommen, in naher Zukunft in greifbare Nähe rücken.

#### Zukunft der Volumenmessung

Die Möglichkeit den systematischen Fehler bei der Volumenmessung drastisch zu reduzieren, lässt sich jedoch nur mit erweiterter Messtechnik bewerkstelligen. Am meisten Potenzial bieten Technologien auf Basis der ILIDS-Technik, Ortsfiltersensorik oder Hochgeschwindigkeitskameras. Die ILIDS Technik ist bei der Volumenmessung als Ergänzung zum verwendeten Stroboskop-Kamera System favorisiert. Der Vorteil besteht darin, dass eine Kopplung von Dosierkopf und Messsystem nicht erforderlich ist. Die Messung kann in Echtzeit mit einer sehr hohen Genauigkeit erfolgen. Aus praktischen Gesichtspunkten müsste ein ILIDS-System einer geringen Größe, optimal mit der Grundfläche einer Mikrotiterplatte, entwickelt werden.

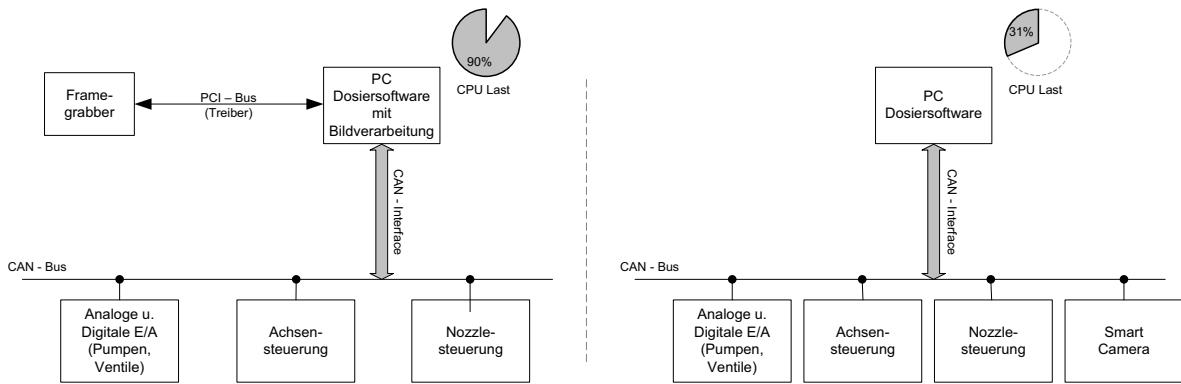
Die klassischen Verfahren, Wägung, Fluoreszenzmessung und Konzentrationsbestimmung scheiden für die Automatisierung aus. Die wesentlichen Schwierigkeiten bestehen in dem Aufwand der Messung, der nicht vorhandenen Echtzeitfähigkeit und der Schwierigkeit der Automatisierung. Dennoch können diese Verfahren weiterhin als Referenzen für die Technologien auf optischer Basis verwendet werden.

### 6.3.3 Anpassung der Automatisierungsstruktur

Die gezeigten Verfahren und Möglichkeiten, die Dosierroboter zu modifizieren, ziehen teilweise Anpassungen der Systeme nach sich. Die hinzugekommenen Algorithmen der Bildverarbeitung benötigen sehr viele Systemressourcen. Die Nutzung des Visualisierungssystems, welches ursprünglich der manuellen Tropfenkontrolle und Kalibrierung diente, ist jetzt ein Bestandteil des Dosierroboters geworden. Die Steuerungssoftware greift auf dieses, unter Anwendung spezieller Algorithmen, wie auf die

anderen Komponenten zu. Die technischen Spezifikationen des Visualisierungssystems wie Auflösung, Genauigkeit und der systematische Fehler sind für die Qualität der automatischen Ablaufsteuerung von Bedeutung. Daher sind Überlegungen notwendig, diese Komponente den neuen Bedingungen anzupassen und in die Automatisierungsstruktur zu integrieren.

Im Testaufbau werden alle Bildverarbeitungsvorgänge und die Steuerung der Subkomponenten von demselben Prozessor vorgenommen. Diese rechenintensiven Vorgänge beanspruchen teilweise sehr viele Systemressourcen und behindern dadurch die restlichen Abläufe. Daher sollte für den industriellen Einsatz eine Auslagerung der Routinen basierend auf Bildverarbeitung in Betracht gezogen werden. Die Umsetzung dieser Dezentralisierungsmaßnahme kann über Kombinationen aus Kamera und Auswerteelektronik, wie DSPs oder FPGAs, erfolgen. Des Weiteren bieten sich komplett „Smart Cameras“, bei denen programmierbare Hardware zur Bildverarbeitung bereits integriert ist, an. Die Resultate der Auswertung, können als diskrete Zahlenwerte an das Steuerungssystem über einen Datenbus, wie USB oder Ethernet, übertragen werden. Gleichzeitig bedeutet die Verlagerung der erstellten Algorithmen auf die gleiche Ebene wie die Steuerungsprogramme der Einzelkomponenten eine Steigerung der Geschwindigkeit, da eine direkte Kommunikation möglich ist.



**Abbildung 91** – Schema der Automatisierungsstrukturen (rechst. dezentrale Bildverarbeitung)

Ein modulares Konzept bei Hard- und Software sowie eine dezentrale Automatisierungsstruktur erlauben den flexiblen Austausch und die Integration neuer Komponenten. Daher sollten auch bei der Verwendung der alternativen Verfahren, die ohnehin auf zusätzlicher Hardware basieren, die Verarbeitungsroutinen intern behandelt werden.

### 6.3.4 Zukünftige Arbeiten

Durch die durchgeführten Untersuchungen hinsichtlich einer in der Praxis anwendbaren Methode zu Volumenbestimmung der Tropfen und den Möglichkeiten den Dosiersystemen eine höhere Autonomie zu verleihen sind neue Fragestellungen entstanden. Es wurden Lösungen für die einzelnen Fragestellungen vorgestellt und getestet. Grundsätzlich lassen sich bei Bedarf weitere Optimierungen in den einzelnen Teilbereichen, siehe Tabelle 21, vornehmen. An dieser Stelle befindet sich eine Zusammenstellung der Arbeiten, die sich direkt anschließen könnten.

Vor weiteren Arbeiten sollte jedoch zunächst die Integration, der vorgestellten Algorithmen, in die Software der Geräte erfolgen. Dann können Tests durchgeführt und Daten über das Verhalten im regulären Betrieb gesammelt werden. Nach Auswertung dieser Daten wäre es möglich, entsprechend der Resultate, einzelne Aspekte anzupassen. Nach diesem Schritt könnte die Veränderung der Automatisierungsstruktur, wie in 6.3.3 geschildert, erfolgen.

Weitere Fortschritte könnten bei der Entwicklung von Verfahren zur automatischen Kalibrierung gemacht werden. Durch das Sammeln von sehr detaillierten Informationen, über die Zusammenhänge von möglichst allen Einflüssen auf die Eigenschaften der Tropfenbildung könnte ein genauerer Eindruck über das Systemverhalten gewonnen werden. Vorstellbar ist, dass sich individuell für jede Nozzle eine Art Verhaltensprofil, durch gezielte Messungen, erstellen lässt. Mithilfe dieses Profils könnte beim Kalibrieren trotz unbekannter Flüssigkeitsparameter gezielter Einfluss auf den Tropfen genommen werden. In wie weit die Umsetzung in der Praxis realisierbar ist oder eine signifikante Verbesserung zum Suchverfahren darstellt müsste durch weitere Studien ermittelt werden.

## Literaturverzeichnis

- [1] G. Vetter: "Handbuch Dosieren", *Vulkan-Verlag*, Essen, 1994.
- [2] M. J. Felton: "Liquid handling: dispensing reliability", *Analytical chemistry*, vol. 75, no. 17, pp. 397-398, 2003.
- [3] G. E. Hoffmann: "Concepts for the third generation of laboratory systems", *Clinica Chimica Acta*, vol. 278, no. 2, pp. 203-216, 1998.
- [4] J. Boyd: "Robotic Laboratory Automation", *Science*, vol. 295, no. 5554, pp. 517-518, 2002.
- [5] K. E. Whelan and R. D. King: "Intelligent software for laboratory automation", *Trends in Biotechnology*, vol. 22, no. 9, pp. 440-445, 2004.
- [6] H. Sanchez-Villeda, S. Schroeder, M. Polacco, M. McMullen, S. Havermann, G. Davis, I. Vroh-Bi, K. Cone, N. Sharopova, Y. Yim, L. Schultz, N. Duru, T. Musket, K. Houchins, Z. Fang, J. Gardiner and E. Coe: "Development of an integrated laboratory information management system for the maize mapping project", *Bioinformatics*, vol. 19, no. 16, pp. 2022-2030, 2003.
- [7] T. Chapman: "Lab automation and robotics: Automation on the move", *Nature*, vol. 421, no. 6923, pp. 661-666, 2003.
- [8] N. Blow: "Lab automation: tales along the road to automation", *Nature Methods*, vol. 5, no. 1, pp. 109-111, Jan. 2008.
- [9] J. J. Burbaum: "The evolution of miniaturized well plates", *Journal of Biomolecular Screening*, vol. 5, no. 1, pp. 5-8, 2000.
- [10] J. C. Charpentier: "Process Intensification by Miniaturization", *Chemical Engineering & Technology*, vol. 28, no. 3, pp. 255-258, 2005.
- [11] K. R. Oldenburg, J. H. Zhang, T. Chen, A. Maffia III, K. F. Blom, A. P. Combs and T. D. Y. Chung: "Assay Miniaturization for Ultra-High Throughput Screening of Combinatorial and Discrete Compound Libraries: A 9600-Well (0.2 Microliter) Assay System", *Journal of Biomolecular Screening*, vol. 3, no. 1, p. 55, 1998.
- [12] O. Gutmann, R. Kuehlewein, S. Reinbold, R. Niekrawietz, C. P. Steinert, B. de Heij, R. Zengerle and M. Daub: "A highly parallel nanoliter dispenser for microarray fabrication", *Biomedical Microdevices*, vol. 6, no. 2, pp. 131-137, June 2004.
- [13] G. Porter: "Miniaturized assays magnify pipetting issues", *American Biotechnology Laboratory*, vol. 20, no. 2, p. 71, Feb. 2006.
- [14] M. Daub, R. M. Kaack, O. Gutmann, C. P. Steinert, R. Niekrawietz, P. Koltay, B. de Heij, and R. Zengerle: "Microfluidics and Beyond-Devices for Applications in Biotechnology", *Proceedings of the Materials Research Society Symposium*, vol. 820, pp. 381-392, 2004.

- [15] R. Zengerle, P. Koltay, and J. Ducr  e: "Microfluidics: An enabling technology for the life sciences", *Proceedings of the 2004 International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science*, pp. 1-6, 2004.
- [16] J. Li and G. Deng: "Technology development and basic theory study of fluid dispensing - A review", *Proceedings of the Sixth IEEE CPMT Conference on High Density Microsystem Design and Packaging and Component Failure Analysis*, pp. 198-205, 2004.
- [17] J. Comley: "Continued miniaturisation of assay technologies drives market for nanolitre dispensing", *Drug Discovery World*, no. Summer, pp. 43-54, 2004.
- [18] W. L. Buehner, J. D. Hill, T. H. Williams and J. W. Woods: "Application of Ink Jet Technology to a Word Processing Output Printer", *IBM Journal of Research and Development*, vol. 21, no. 1, pp. 2-9, 1977.
- [19] H. P. Le: "Progress and Trends in Ink-jet Printing Technology", *Journal of Imaging Science and Technology*, vol. 42, no. 1, pp. 49-62, 1998.
- [20] J. L. Johnson: "Principles of Nonimpact Printing", *Palatino Press*, Irvine, 1992.
- [21] P. Cooley, D. Wallace and B. Antohe: "Applications of ink-jet printing technology to BioMEMS and microfluidic systems", *JALA - Journal of the Association for Laboratory Automation*, vol. 7, no. 5, pp. 33-39, 2002.
- [22] A. V. Lemmo, D. J. Rose and T. C. Tisone: "Inkjet dispensing technology: applications in drug discovery", *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 9, no. 6, pp. 615-617, 1998.
- [23] G. MacBeath: "Protein microarrays and proteomics", *Nature Genetics*, vol. 32, no. 5, pp. 526-532, 2002.
- [24] H. Zhu and M. Snyder: "Protein arrays and microarrays", *Current Opinion in Chemical Biology*, vol. 5, no. 1, pp. 40-45, 2001.
- [25] Firmendruckschrift: "Datenblatt: S&S Fast Slides", *Whatman plc*, Feb. 2005.
- [26] D. Hook: "Ultra high-throughput screening - A journey into Nanoland with Gulliver and Alice", *Drug Discovery Today*, vol. 1, no. 7, pp. 267-268, July 1996.
- [27] M. Hann, B. Hudson, X. Lewell, R. Lifely, L. Miller and N. Ramsden: "Strategic pooling of compounds for high-throughput screening", *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, vol. 39, no. 5, pp. 897-902, 1999.
- [28] J. W. Hong and S. R. Quake: "Integrated nanoliter systems", *Nature Biotechnology*, vol. 21, no. 10, pp. 1179-1183, 2003.
- [29] P. Abgrall and A.-M. Gu  : "Lab-on-chip technologies: Making a microfluidic network and coupling it into a complete microsystem - A review", *Journal of Micromechanics and Microengineering*, vol. 17, no. 5, p. R15-R49, 2007.
- [30] H. J  nsson: "Microfluidics for lab-on-a-chip applications", *Diploma Thesis - University of Lund*, 2004.

- [31] A. W. Chow: "Lab-on-a-chip: Opportunities for chemical engineering", *Journal of the American Institute of Chemical Engineers*, vol. 48, no. 8, pp. 1590-1595, 2002.
- [32] P. Calvert: "Inkjet printing for materials and devices", *Chemistry of Materials*, vol. 13, no. 10, pp. 3299-3305, 2001.
- [33] D. J. Hayes, W. R. Cox and M. E. Grove: "Low-cost display assembly and interconnect using ink-jet printing technology", *Journal of the Society for Information Display*, vol. 9, no. 1, pp. 9-13, 2001.
- [34] R. Danzebrink and M. A. Aegeuter: "Deposition of micropatterned coating using an ink-jet technique", *Thin Solid Films*, vol. 351, no. 1-2, pp. 115-118, 1999.
- [35] L. Lin and X. Bai: "Contributed paper Ink-jet technology: status quo and future - relevance to surface coatings", *Pigment & Resin Technology*, vol. 33, no. 4, pp. 238-244, 2004.
- [36] Hayes-DJ, Cooley-PW and Wallace-DB: "Miniature chemical and biomedical sensors enabled by direct-write microdispensing technology", *Proceedings of the International-Society-for-Optical-Engineering*, vol. 5416, no. 1, pp. 73-83, 2004.
- [37] J. D. Newman, A. P. F. Turner and G. Marrazza: "Ink-Jet Printing for the Fabrication of Amperometric Glucose Biosensors", *Analytica Chimica Acta*, vol. 262, no. 1, pp. 13-17, June 1992.
- [38] H. Kuchling: "Taschenbuch der Physik", *Fachbuchverlag Leipzig*, München, 1999.
- [39] H. Stroppe: "Physik für Studenten der Naturwissenschaften", *Fachbuchverlag Leipzig*, München, 1999.
- [40] D. J. Beebe, G. A. Mensing and G. M. Walker: "Physics and applications of microfluidics in biology", *Annual Review of Biomedical Engineering*, vol. 4, pp. 261-286, 2002.
- [41] T. M. Squires and S. R. Quake: "Microfluidics: Fluid physics at the nanoliter scale", *Reviews of Modern Physics*, vol. 77, no. 3, pp. 977-1026, July 2005.
- [42] K. Jaehnisch, V. Hessel, H. Loewe and M. Baerns: "Chemie in Mikrostrukturreaktoren", *Angewandte Chemie*, vol. 116, no. 4, pp. 410-451, 2004.
- [43] J. R. Richards, A. N. Baris and A. M. Lenhoff: "Drop Formation in Liquid-Liquid Systems Before and After Jetting", *Physics of Fluids*, vol. 7, no. 11, pp. 2617-2630, 1995.
- [44] L. Rayleigh: "On The Instability Of Jets", *Proceedings of the London Mathematical Society*, vol. 10, no. 1, pp. 4-13, 1878.
- [45] B. J. de Gans, P. C. Duineveld and U. S. Schubert: "Inkjet Printing of Polymers: State of the Art and Future Developments", *Advanced Materials*, vol. 16, no. 3, pp. 203-213, 2004.

- [46] P. Koltay, S. Taoufik, C. Litterst, J. Hansen-Schmidt, and R. Zengerle: "Simulation of micro dispensing devices", *Proceedings of the 20th CAD-FEM User's Meeting at the International Congress on FEM Technology*, pp. 1-9, Oct. 2002.
- [47] J. Q. Feng: "A general fluid dynamic analysis of drop ejection in drop-on-demand ink jet devices", *Journal of Imaging Science and Technology*, vol. 46, no. 5, pp. 398-408, Sept. 2002.
- [48] H. Wijshoff: "Structure- and fluid-dynamics in piezo inkjet Printhead", *Dissertation - University of Twente*, 2008.
- [49] Firmendruckschrift: "Datenblatt: Biomek FX Laboratory Automation Workstation", *Beckman Coulter Inc.*, 2007.
- [50] F. Goldschmidtböing: "Entwurf, Design und experimentelle Charakterisierung von Mikro-Freistrahldispensern", *Dissertation - Albert-Ludwigs-Universität*, 2004.
- [51] P. James and R. Papen: "Nanolitre dispensing - A new innovation in robotic liquid handling", *International Journal of Immunopharmacology*, vol. 21, no. 2, pp. 429-430, 1999.
- [52] Firmendruckschrift: "Datenblatt: Combi PAL", *CTC Analytics AG*, 2007.
- [53] J. H. Hardin and F. R. Smietana: "Automating combinatorial chemistry: A primer on benchtop robotic systems", *Molecular Diversity*, vol. 1, no. 4, pp. 270-274, 1996.
- [54] P. Koltay: "Microdispenser array for highly parallel and accurate liquid handling", *Proceedings of the SPIE The International Society for Optical Engineering*, vol. 4590, pp. 195-203, 2001.
- [55] N. Szita, R. A. Buser and J. Dual: "Aspiration and dispensing of biological liquids in the micro- and submicroliter range with high precision", *Biomedical Microdevices*, vol. 3, no. 3, pp. 175-182, 2001.
- [56] K. Thurow, N. Stoll and C. Wendler: "Verteilte Automatisierungsstrategien in der Laborautomation Forschung für die Life Science-Industrie", *BioSpektrum*, vol. 8, no. 5, pp. 648-653, 2002.
- [57] I. Barbulovic-Nad, M. Lucente, Y. Sun, M. J. Zhang, A. R. Wheeler and M. Bussmann: "Bio-microarray fabrication techniques - A review", *Critical Reviews in Biotechnology*, vol. 26, no. 4, pp. 237-259, Oct. 2006.
- [58] P. H. Chen, W. C. Chen and S. H. Chang: "Bubble growth and ink ejection process of a thermal ink jet printhead", *International Journal of Mechanical Sciences*, vol. 39, no. 6, pp. 683-695, 1997.
- [59] T. Lindemann, D. Sassano, A. Bellone, R. Zengerle, and P. Koltay: "Three-dimensional CFD-simulation of a thermal bubble jet printhead", *Proceedings of the Nanotechnology Conference and Trade Show - NSTI Nanotech*, vol. 2, pp. 227-230, 2004.

- [60] T. Okamoto, T. Suzuki and N. Yamamoto: "Microarray fabrication with covalent attachment of DNA using Bubble Jet technology", *Nature Biotechnology*, vol. 18, no. 4, pp. 438-441, 2000.
- [61] T. M. Harris, A. Massimi and G. Childs: "Injecting new ideas into microarray printing", *Nature Biotechnology*, vol. 18, no. 4, pp. 384-385, Apr. 2000.
- [62] L. R. Allain, M. Askari, D. L. Stokes and T. Vo-Dinh: "Microarray sampling-platform fabrication using bubble-jet technology for a biochip system", *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, vol. 371, no. 2, pp. 146-150, Sept. 2001.
- [63] J. Brunahl and A. M. Grishin: "Piezoelectric shear mode drop-on-demand inkjet actuator", *Sensors and Actuators A-Physical*, vol. 101, no. 3, pp. 371-382, Oct. 2002.
- [64] P. Koltay and R. Zengerle: "Non-Contact Nanoliter & Picoliter Liquid Dispensing", *Proceedings of the Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems Conference*, pp. 165-170, 2007.
- [65] A. Schober, R. Gunther, A. Schwienhorst, M. Doring and B. F. Lindemann: "Accurate high-speed liquid handling of very small biological samples", *Biotechniques*, vol. 15, no. 2, pp. 324-329, 1993.
- [66] M. McDonald: "High-Precision Jetting and Dispensing Applications Using A Piezoelectric Micropump", *Proceedings of the 9th International Congress on Digital Printing Technologies*, pp. 555-558, 2003.
- [67] B. V. Antohe and D. B. Wallace: "Acoustic phenomena in a demand mode piezoelectric ink jet printer", *Journal of Imaging Science and Technology*, vol. 46, no. 5, pp. 409-414, Sept. 2002.
- [68] N. Reis, C. Ainsley and B. Derby: "Ink-jet delivery of particle suspensions by piezoelectric droplet ejectors", *Journal of Applied Physics*, vol. 97, no. 9, pp. 1-6, May 2005.
- [69] H. Wijshoff: "Manipulating Drop Formation in Piezo Acoustic Ink Jet", *Proceedings of the International Conference on Digital Printing Technologies*, vol. 22, pp. 79-82, 2006.
- [70] D. B. Bogy and F. E. Talke: "Experimental and Theoretical Study of Wave Propagation Phenomena in Drop-on-Demand Ink Jet Devices", *IBM Journal of Research and Development*, vol. 28, no. 3, pp. 314-321, 1984.
- [71] J. Burgold, F. Weise, M. Fischer, G. Schlingloff, T. Henkel, J. Albert, G. Mayer and A. Schober: "Evolution and operating experiences with different drop-on-demand systems", *Macromolecular Rapid Communications*, vol. 26, no. 4, pp. 265-280, 2005.
- [72] H. H. Lee, K. S. Chou and K. C. Huang: "Inkjet printing of nanosized silver colloids", *Nanotechnology*, vol. 16, no. 10, pp. 2436-2441, 2005.

- [73] S. Di Risio and N. Yan: "Piezoelectric ink-jet printing of horseradish peroxidase: Effect of ink viscosity modifiers on activity", *Macromolecular Rapid Communications*, vol. 28, no. 18-19, pp. 1934-1940, 2007.
- [74] W. Streule, T. Lindemann, G. Birkle, R. Zengerle and P. Koltay: "PipeJet: a simple disposable dispenser for the nano-and microliter range", *JALA - Journal of the Association for Laboratory Automation*, vol. 9, no. 5, pp. 300-306, 2004.
- [75] Firmendruckschrift: "Beschreibung der Nanojet Technologie", *Microdrop Technologies GmbH*, 2007.
- [76] H. M. Dong, W. W. Carr and J. F. Morris: "An experimental study of drop-on-demand drop formation", *Physics of Fluids*, vol. 18, no. 7, p. Art. no. 072102, July 2006.
- [77] Firmendruckschrift: "Datenblatt: MEMS Flow Sensor", *Seyonic SA*, Feb. 2008.
- [78] M. A. Boillat, A. J. van der Wiel, A. C. Hoogerwerf, and N. F. de Rooij: "A differential pressure liquid flow sensor for flow regulation and dosing systems", *IEEE Proceedings on Micro Electro Mechanical Systems*, pp. 350-352, 1995.
- [79] C. Haber, M. Boillat and B. van der Schoot: "Precise nanoliter fluid handling system with integrated high-speed flow sensor", *Assay and Drug Development Technologies*, vol. 3, no. 2, pp. 203-212, 2005.
- [80] Technical Note 102: "synQUAD Technology - Theory and Applications", *Genomic Solutions*, 2007.
- [81] D. Rose: "Microdispensing technologies in drug discovery", *Drug Discovery Today*, vol. 4, no. 9, pp. 411-419, Sept. 1999.
- [82] Firmendruckschrift: "Datenblatt: MicroSys", *Genomic Solutions Ltd.*, 2007.
- [83] Firmendruckschrift: "Spot-on Technology", *Allegro Technologies Ltd.*, 2007.
- [84] I. V. Shvets, S. Makarov, C. Franken, A. Shvets, D. Sweeney and J. Osing: "Spot-on Technology for Low Volume Liquid Handling", *JALA - Journal of the Association for Laboratory Automation*, vol. 7, no. 6, pp. 125-129, 2002.
- [85] A. L. Kemmerer, S. D. Mosser, W. Lemaire, R. R. Desai, K. la Penna, K. S. Koblan, S. A. Kane and R. A. Bednar: "Overcoming the Challenges of Minimizing Dead Volume Requirements in Assay Automation for Lead Optimization", *Poster of Facility for Automation and Screening Technology*, 2007.
- [86] Firmendruckschrift: "Dropjet - Continuous Drop Generation", *Microdrop Technologies GmbH*, 2007.
- [87] Firmendruckschrift: "Auswahl des richtigen Dosiersystems", *Microdrop Technologies GmbH*, 2001.
- [88] J. Shieh, S. Pickett and J. Olechno: "Precision nanoliter aqueous transfer", *Genetic Engineering and Biotechnology News*, vol. 27, no. 9, pp. 40-41, 2007.

- [89] J. Olechno, R. Stearns, R. Ellson and E. Heron: "Acoustic droplet ejection technology", *Innovations in Pharmaceutical Technology*, pp. 40-43, 2006.
- [90] R. Ellson: "Picoliter: Enabling precise transfer of nanoliter and picoliter volumes", *Drug Discovery Today*, vol. 7, no. 5, pp. 32-34, 2002.
- [91] P. H. Cleveland and P. J. Koutz: "Nanoliter dispensing for uHTS using pin tools", *Assay and Drug Development Technologies*, vol. 3, no. 2, pp. 213-225, 2005.
- [92] H. J. Müller and T. Röder: "Der Experimentator: Microarrays", *Elsevier - Spektrum Akademischer Verlag*, München, 2004.
- [93] D. A. Dunn and I. Feygin: "Challenges and solutions to ultra-high-throughput screening assay miniaturization: Submicroliter fluid handling", *Drug Discovery Today*, vol. 5, no. 12, pp. 84-91, 2000.
- [94] T. N. Chang, S. Parthasarathy, T. Wang, K. Gandhi and P. Soteropoulos: "Automated liquid dispensing pin for DNA microarray applications", *IEEE Transactions on Automation Science and Engineering*, vol. 3, no. 2, pp. 187-191, 2006.
- [95] Firmendruckschrift: "Datenblatt: Hummingbird", *Genomic Solutions Ltd.*, Mar. 2008.
- [96] Firmendruckschrift: "Caliper (Zymark) Pin Tools", *V&P Scientific Inc.*, 2007.
- [97] Firmendruckschrift: "Datenblatt: BP 211D", *Sartorius AG*, 2008.
- [98] J. Böcker: "Chromatographie: Instrumentelle Analytik mit Chromatographie und Kapillarelektrophorese", *Vogel-Verlag*, Würzburg, 1997.
- [99] M. Engmann, A. Fekete, I. gi and P. Schmitt-Kopplin: "The dosage of small volumes for chromatographic quantifications using a drop-on-demand dispenser system", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 388, no. 5-6, pp. 1109-1116, 2007.
- [100] W. D. Niles and P. J. Coassin: "Piezo- and Solenoid Valve-Based Liquid Dispensing for Miniaturized Assays", *Assay and Drug Development Technologies*, vol. 3, no. 2, pp. 189-202, 2005.
- [101] P. B. Taylor, S. Ashman, S. M. Baddeley, S. L. Bartram, C. D. Battle, B. C. Bond, Y. M. Clements, N. J. Gaul, W. Elliot Mcallister, J. A. Mostacero, F. Ramon, J. M. Wilson, R. P. Hertzberg, A. J. Pope and R. Macarron: "A Standard Operating Procedure for Assessing Liquid Handler Performance in High-Throughput Screening", *Journal of Biomolecular Screening*, vol. 7, no. 6, pp. 554-569, 2002.
- [102] Y. Aizu and T. Asakura: "Principles and development of spatial filtering velocimetry", *Applied Physics B: Lasers and Optics*, vol. 43, no. 4, pp. 209-224, 1987.
- [103] S. Bergeler and H. Krambeer: "Novel optical spatial filtering methods based on two-dimensional photodetector arrays", *Measurement Science and Technology*, vol. 15, no. 7, pp. 1309-1315, 2004.

- [104] K. C. Michel, O. F. Fiedler, A. Richter, K. Christofori and S. Bergeler: "A novel spatial filtering velocimeter based on a photodetectorarray", *IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement*, vol. 47, no. 1, pp. 299-303, 1998.
- [105] N. Damaschke: "Light Scattering Theories and Their Use for Single Particle Characterization", *Shaker Verlag*, Aachen, 2003.
- [106] M. Maeda, T. Kawaguchi and K. Hishida: "Novel interferometric measurement of size and velocity distributions of spherical particles in fluid flows", *Measurement Science and Technology*, vol. 11, no. 12, pp. 13-18, 2000.
- [107] J. M. Meacham, M. J. Varady, F. L. Degertekin and A. G. Fedorov: "Droplet formation and ejection from a micromachined ultrasonic droplet generator: Visualization and scaling", *Physics of Fluids*, vol. 17, no. 10, p. Art. no. 100605, 2005.
- [108] A. S. Yang, J. C. Yang and M. C. Hong: "Droplet ejection study of a Picojet printhead", *Journal of Micromechanics and Microengineering*, vol. 16, no. 1, pp. 180-188, 2006.
- [109] H. M. Dong, W. W. Carr and J. F. Morris: "Visualization of drop-on-demand inkjet: Drop formation and deposition", *Review of Scientific Instruments*, vol. 77, no. 8, p. Art. no. 085101, Aug. 2006.
- [110] G. Schröder: "Technische Optik", *Vogel Buchverlag*, Würzburg, 2002.
- [111] G. J. Awcock and R. Thomas: "Applied image processing", *McGraw-Hill*, Hightstown (NJ), 1995.
- [112] K.-J. Fleischer: "Depth of Field – An Insider's Look Behind The Scenes", *Camera LensNews*, vol. 1, p. 3, Dec. 1997.
- [113] N. R. Pal and S. K. Pal: "A review on image segmentation techniques", *Pattern Recognition*, vol. 26, no. 9, pp. 1277-1294, Sept. 1993.
- [114] I. D. Svlabe: "The geometry of basis sets for morphologic closing", *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, vol. 13, no. 12, pp. 1214-1224, 1991.
- [115] P. Soille: "Morphological Image Analysis: Principles and Applications", *Springer-Verlag*, New York, 2003.
- [116] L. Shenglin, Z. Xianmin, and K. Yongcong: "An Integrated Inspection Method based on Machine Vision for Solder Paste Depositing", *Proceedings of the International Conference on Control and Automation*. Z. Xianmin, Ed. pp. 137-141, 2007.
- [117] W. T. Pimbley and H. C. Lee: "Satellite Droplet Formation in a Liquid Jet", *IBM Journal of Research and Development*, vol. 21, no. 1, pp. 21-30, 1977.
- [118] Firmendruckschrift: "Datanblatt: XC-ES 50", *Sony Corporation*, 2007.

- [119] H. W. Lilliefors: "On the Kolmogorov-Smirnov Test for Normality with Mean and Variance Unknown", *Journal of the American Statistical Association*, vol. 62, no. 318, pp. 399-402, 1967.
- [120] B. Jähne: "Digitale Bildverarbeitung", *Springer-Verlag*, Berlin, 2005.
- [121] G. R. Ayers and J. C. Dainty: "Iterative blind deconvolution method and its applications", *Optics Letters*, vol. 13, no. 7, pp. 547-549, 1988.
- [122] Firmendruckschrift: "Tropfendetektor für MicroDrop Dosierköpfe", *Microdrop Technologies GmbH*, 2001.
- [123] D. M. Henderson, W. G. Pritchard and L. B. Smolka: "On the pinch-off of a pendant drop of viscous fluid", *Physics of Fluids*, vol. 9, no. 11, pp. 3188-3200, 2006.
- [124] Firmendruckschrift: "Datenblatt: HyperVision Camera HPV-1", *Shimadzu Corporation*, 2007.
- [125] Firmendruckschrift: "Datenblatt: Phantom v7.3", *Vision Research Ltd.*, 2007.
- [126] Firmendruckschrift: "Datenblatt: DRS Lightning", *Ittronx Imaging Technologies*, 2007.
- [127] A. P. Pentland: "A New Sense for Depth of Field", *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, vol. 9, no. 4, pp. 523-531, July 1987.
- [128] E. Krotkov: "Focusing", *International Journal of Computer Vision*, vol. 1, no. 3, pp. 223-237, 1987.
- [129] R. Jain, R. Kasturi, and B. G. Schunck: "Machine vision", *McGraw-Hill*, New York, 1995.
- [130] D. A. Forsyth and J. Ponce: "Computer Vision: A Modern Approach", *Prentice Hall*, Englewood Cliffs, 2003.
- [131] M. J. Atallah: "Faster image template matching in the sum of the absolute value of differences measure", *IEEE Transactions on Image Processing*, vol. 10, no. 4, pp. 659-663, 2001.
- [132] N. Otsu: "A threshold selection method from grey-level histograms", *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, vol. 9, pp. 62-66, 1979.
- [133] R. O. Duda and P. E. Hart: "Use of the Hough transformation to detect lines and curves in pictures", *Communications of the ACM*, vol. 15, no. 1, pp. 11-15, 1972.
- [134] T. G. Twardeck: "Effect of Parameter Variations on Drop Placement in an Electrostatic Ink Jet Printer", *IBM Journal of Research and Development*, vol. 21, no. 1, pp. 31-36, 1977.
- [135] G. Bradski: "The OpenCV library", *Dr Dobbs Journal*, vol. 25, no. 11, pp. 120-121, Nov. 2000.

## **Selbständigkeitserklärung**

Erklärung:

Hiermit erkläre ich, dass ich die eingereichte Dissertation zum Thema: „Beiträge zur Optimierung von Flüssigdosieren auf Basis der Piezotechnologie“ selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, keine anderen als von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommene Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Rostock, 03. Juni 2008

Dipl.-Ing. Thomas Krüger

## Tabellarischer Lebenslauf

<b>Name</b>	Thomas Krüger	
<b>Geburtsdatum</b>	09.03.1980	
<b>Geburtsort:</b>	Rostock	
<b>Anschrift</b>	Borwinstr. 3, 18057 Rostock	
<b>Schulausbildung</b>	1986 –1991	Polytechnische Oberschule, Rostock
	1991 –1998	Johann-Heinrich-von-Thünen-Gymnasium, Rostock Abschluss: Abitur
<b>Universitäts- ausbildung</b>	Oktober 1999 – Mai 2005	Studium der Elektrotechnik an der Universität Rostock Spezialisierungsrichtung: Automatisierungstechnik und Umweltmesstechnik
	Mai 2005	Diplom Thema: Entwicklung einer Steuerungshardware für die Automatisierung von Laboraufgaben
<b>Praktika</b>	September 2003 – Februar 2004	cbb Automation GmbH, Lübeck
	September 2001	Nordring DBS GmbH Daten- und Bürosysteme
	März 2000	WIND-consult Ingenieurgesellschaft für umweltschonende Energiewandlung mbH
<b>Berufstätigkeit</b>	seit Juni 2005	Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Center for Life Science Automation
<b>Grundwehrdienst</b>	1998-1999	Tätigkeit als Stromerzeugungsanlagenmechaniker

## Thesen

1. Durch die zunehmende Miniaturisierung im Bereich der automatisierten chemischen, biologischen und biotechnologischen Analyseverfahren entsteht die Forderung nach Systemen, die Flüssigkeiten im Submikroliterbereich dosieren können.
2. Ein dafür aus der Tintenstrahldrucktechnik adaptiertes Drop-on-Demand Verfahren ist die so genannte Piezotechnologie. Mit dieser Technik können definierbare Anzahlen an Tropfen erzeugt werden. Dabei ist die Tropfenbildung unter gleichen Bedingungen sehr gut reproduzierbar.
3. Die Entstehung und die Eigenschaften der Tropfen sind abhängig von den Parametern des Ansteuersignals, den Eigenschaften der zu dosierenden Substanz und der Dosierkammer.
4. Insbesondere für die Dosierung größerer Mengen ist die Kenntnis des Tropfenvolumens notwendig. Die existierenden Verfahren zur Messung von Tropfenvolumen und im Volumenbereich unterhalb von Mikrolitern sind ungeeignet für die praktische Anwendung in der Laborautomatisierung, da diese nicht echtzeitfähig sind oder auf sehr aufwendiger Messtechnik beruhen.
5. Die Visualisierung der Tropfen erfolgt mit dem herstellerseitig eingebauten Stroboskop-Kamera System. Mithilfe von Bildverarbeitungsalgorithmen ist es möglich den Tropfen im Bild zu detektieren und über weitere Berechnungen das Volumen zu messen.
6. Unter Einhaltung bestimmter Dosierfrequenzen ist der systematische Fehler konstant und das Messergebnis unterliegt einer akzeptablen Streuung. Die Genauigkeit des Verfahrens, bei der Verwendeten Hardware, liegt bei ca.  $\pm 8$  Prozent. Die praxisnahe Realisierung erfordert einen Kompromiss zwischen Genauigkeit und vertretbarem Aufwand.
7. Die Verwendung von unterschiedlichen Flüssigkeiten erfordert die Abstimmung der Parameter des Ansteuersignals, damit die Tropfenbildung nach definierten Kriterien erfolgt. Dieser Kalibriervorgang wird bisher manuell vorgenommen.
8. Beim Umgang mit unbekannten Flüssigkeiten ist für den Einsatz dieser Dosiertechnologie in automatisierten Abläufen auch eine Automatisierung des Kalibriervorganges notwendig. Dazu sind die zeitnahe Erfassung und Bewertung des Tropfenfluges sowie die Erkennung von Anlagerungen an der Nozzle erforderlich.

9. Die Bewertung des Tropfenfluges geschieht über die gezielte Steuerung der Verzögerung zwischen Auslösung des Stroboskopblitzes und dem Signal für das Piezoelement. Die Daten aus dem Tropfenerkennungsalgorithmus, die Kenntnis der eingestellten Verzögerung und die Bewertung der Fokussierung ermöglichen es die Flugbahn in dreidimensional zu rekonstruierten.
10. Mithilfe von definierten Kriterien und deren Implementierung in Auswertealgorithmen ist das System selbstständig in der Lage den Tropfenflug zu bewerten.
11. Die Detektion von Nozzle und Anlagerungen wird ebenfalls über das Visualisierungssystem in Kombination mit Bildverarbeitungsalgorithmen vorgenommen.
12. Das Finden geeigneter Dosierparameter ist über eine systematische Suche realisiert worden. Dabei werden bei konstanter Dosierfrequenz sukzessiv verschiedene Parametersätze getestet. Je Parametersatz erfolgt eine Untersuchung auf die Tropfenpräsenz, die Anlagerung von Flüssigkeit und die Bewertung der Flugbahn.
13. Die Automatisierung der Tropfenerkennung und der Suche nach geeigneten Dosierparametern verleihen diesen Dosiersystemen eine höhere Autonomie und ermöglichen den Einsatz in automatisierten Abläufen

## Zusammenfassung

Durch die zunehmende Miniaturisierung in der Laborautomatisierung entsteht die Anforderung an Dosiersysteme, immer kleinere Mengen mit Genauigkeiten von ... dosieren zu können. Verfahren aus der Tintenstrahldrucktechnik ermöglichen das gezielte Erzeugen einzelner Tröpfchen. Eine dieser Drop-on-Demand Technologien basiert auf Piezoelementen, welche sich nach dem Anlegen einer Spannung verformen und einen Druckimpuls auf die Dosierkammer übertragen. Dadurch wird aus dem Ausgang der Dosierkammer eine Flüssigkeitsmenge in Form eines Tropfes herauskatapultiert. Die Eigenschaften der generierten Tröpfchen sind bei konstanten Randbedingungen sehr reproduzierbar. Je nach Konfiguration des Systems liegt das Tropfenvolumen in einem Bereich zwischen 50 pl und 500 pl. Die Dosierung von Mengen im Nano- und Mikroliterbereich wird über die Abgabe einer definierten Anzahl an Tropfen erreicht.

Die Tropfenbildung und das Volumen der Tropfen sind abhängig von den Eigenschaften der Flüssigkeit, den Parametern des Ansteuersignals und den Spezifikationen der Dosierkammer. Um die Tropfenabgabe für eine bestimmte Flüssigkeit zu erreichen, ist die Abstimmung der Parameter des Ansteuersignals des Piezoelementes notwendig. Dadurch ergeben sich für den Betrieb mit wechselnden Flüssigkeiten zwei Probleme. Zum einen müssen die Parameter des Ansteuersignals so abgestimmt werden, dass die Tropfenbildung gemäß bestimmter Kriterien erfolgt und zum ist das Volumen der entstehenden Tropfen unbekannt und somit eine wesentliche Voraussetzung für das Dosieren größerer Mengen nicht erfüllt.

Um auf dieser Technologie basierende Dosierroboter in automatische Abläufe integrieren zu können, ist es erforderlich, dass diese Arbeitsschritte automatisiert durchgeführt werden können. Des Weiteren ist ein Verfahren zur Messung des Tropfenvolumens und zur Erkennung der Eigenschaften der Tropfenbildung erforderlich, um die Qualität der Dosierung zu gewährleisten. Die Umsetzung dieser Aufgaben ist der wesentliche Bestandteil dieser Arbeit. Dabei steht eine Lösung im Vordergrund, die mit vertretbarem Aufwand in existierende Systeme integriert werden kann und in der Praxis realisierbar ist.

Der Ansatz zur Messung des Tropfenvolumens besteht in der Visualisierung der Tropfen mit einem Stroboskop-Kamera-System. Dieses System ist Bestandteil von Dosierrobotern und ermöglicht dem Benutzer die Beobachtung des Tropfens bei der manuellen Einstellung der Parameter des Ansteuersignals. In Kombination mit Algorithmen aus der Bildverarbeitung

wird aus dem Kamerabild das Volumen des Tropfens berechnet. Der aufgrund der Stroboskopaufnahme entstehende systematische Fehler kann über eine Referenzmessung durch ein Wägeverfahren bestimmt werden. Für einen definierten Frequenzbereich arbeitet das Verfahren hinreichend genau. Durch die gezielte Veränderung der Auslösezeit zwischen Stroboskopblitz und Piezosignal ist es möglich, einen Eindruck über die Flugphase des Tropfens zu gewinnen. Durch die Erkennungsalgorithmen des Tropfens ist die computergestützte Erfassung und Bewertung des Tropfenfluges möglich. Die Umsetzung der automatischen Kalibrierung erfordert zusätzlich die Erkennung von Flüssigkeitsanlagerung am Dosierkopf, welche ebenfalls über das Visualisierungssystem und über Bildverarbeitungsalgorithmen realisiert werden konnte. Das Finden der Dosierparameter konnte über eine sukzessive Suche erreicht werden. Dabei erfolgt die Überprüfung des Tropfenfluges bei jedem Parametersatz auf spezielle Kriterien. Somit ist das System selbstständig in der Lage, anhand der Charakteristik des Tropfenfluges oder bei Anlagerung von Flüssigkeit eine Selektion vorzunehmen.

Die entwickelten Lösungen sind in einzelnen Softwaremodulen umgesetzt und getestet worden. Diese Erweiterungen verleihen den Dosiersystemen eine erhöhte Selbständigkeit und ermöglichen den Einsatz in automatisierten Abläufen. In Hinblick auf die Anwendung in der Praxis wurde ein Kompromiss zwischen Genauigkeit und vertretbarem Aufwand eingegangen. Abschließend werden weitere Optimierungsansätze entwickelt und vorgestellt.

## Abstract

Due to the increasing miniaturization in the field of lab automation there is a demand for liquid handling systems that can deal within the sub-microliter range with a high precision and accuracy. The adaptation of ink-jet printing techniques enables the generation of very small droplets on demand. One of these technologies is based on piezo elements which change its shape if a current is applied. The sudden change of the piezo element, which is next to a liquid filled reservoir, induces a pressure impulse into the liquid and a droplet is expelled out of the nozzle. The droplets volume varies between 50 pl – 500 pl. Furthermore, the properties of the droplets are highly reproducible under equal conditions. Larger volumes are realized by dispensing a defined number of droplets of known volume.

The droplet disposition and volume depends on the liquid properties, driving signal parameters and the specifications of the dosing chamber. The parameters of the driving signal of the piezo element have to be adjusted to ensure a successful droplet ejection. For the use of different liquids two major problems arise. For reaching a droplet ejection within the defined criteria the driving signal has to be adjusted again. Additional, the generated droplet volume has to be determined since it is essential to dispense larger amounts with high accuracy and precision.

The use of nanodispensing robots within an automated workflow requires the capability of autonomous operation. Currently, the process of finding appropriate parameters and the calibration is done manually. However, a measurement procedure for the droplet's volume and the evaluation of the flight path are upcoming requirements to keep the quality of the dispensing process. The aim of this dissertation is the realization of these tasks with respect to the usability in existing systems.

A stroboscope camera system as a regular component of dispensing systems enables the visualization of the droplet,. Currently, it is used for observing droplets and manual adjustment of driving signal parameters. The introduced method for the determination of the droplet volume is based on image processing algorithms that use the same camera image. Due to the stroboscope technique a systematic error remains. This error can be determined by using a gravimetric method as a reference. The accuracy of the optical method is sufficient within a defined frequency range - according to frame rate and droplets per second. To get an impression about the trajectory of the droplet the delay between strobe and piezo pulse is

## Abstract

---

increased continuously. Based on the droplet detection algorithm a computer based evaluation for the flight path can be calculated. In the next step an automated search for appropriate dispensing parameters and the following calibration process is needed. In addition to the implementation a method that detects liquid attachments at the nozzle is required. A suitable method has been realized by image processing algorithms. A systematic scan provides the determination of parameters for an appropriate droplet ejection. During the scan of each parameter a complete check of liquid attachment, the characteristics of droplet flight and the volume is accomplished. This enables the system to make an autonomous selection.

The demonstrated solutions are software modules that combine the actuators and the visualization system in a new way. These enhancements provide a higher level of automation and thus the integration into an automated workflow is possible. The predetermined requirements from the practical side and the integration into existing systems lead into compromises between maintainable accuracy and technical expense. To increase special issues like precision or speed alternative technologies are introduced that can achieve further optimizations.