Simulationsstudie zur Generierung von orts- und zeitdiskreten Druckfeldern auf Basis der Zeitumkehrtechnik für die Akustophorese

Philipp Hörnlein[1], Sebastian Wöckel[1], Hendrik Arndt[1], Jörg Auge[2]

[1] *Institut für Automation und Kommunikation e.V., 39106 Magdeburg, E-Mail: Philipp.Hoernlein@ifak.eu*
[2] *Hochschule Magdeburg-Stendal, 39114 Magdeburg, E-Mail: Joerg.Auge@h2.de*

Einleitung und Motivation

Die gezielte Manipulation von Partikeln und biologischen Zellen in Fluiden hat zahlreiche Anwendungen in der Medizin und der Biotechnologie. Hier müssen in kleinen Volumina unterschiedliche Partikel und Zellen gezielt voneinander getrennt, sortiert und positioniert werden, um sie weiter untersuchen zu können. Die Akustophorese ist dabei ein probates Mittel, das kontaktlos, biologisch verträglich und markierungsfrei arbeitet [1]. Sie basiert darauf, dass akustische Wellen und Felder eine Schallstrahlungskraft bzw. Acoustic Radiation Force (ARF) auf eingebrachte Objekte ausüben, deren physikalische Eigenschaften vom Umgebungsmedium abweichen. Die Kraftwirkung hängt dabei maßgeblich vom akustischen Kontrast zwischen Partikel/Zelle und dem Umgebungsmedium ab [2]. Die ARF kann mit Annahme einiger Vereinfachungen (kugelförmige, inkompressible Objekte kleiner λ/10) analytisch mithilfe des GOR'KOV Potentials berechnet werden [3]. Bestehende Verfahren der Akustophorese nutzen zur Manipulation von Objekten entweder Volumenwellen, Oberflächenwellen oder fokussierte akustische Felder (akustische Wirbel) [4], die eine Schallstrahlungskraft auf eingebrachte Objekte ausüben. Mit fokussierten akustischen Feldern lässt sich eine sehr spezifische Kraftwirkung auf einzelne Objekte erzielen (akustische Pinzette). Bisherige Realisierungen zur Erzeugung fokussierter akustischer Felder nutzen entweder Ultraschall-Gruppenstrahler mit Phased-Array-Technik [5], passive Systeme (Resonator [6], Phasenplatte [7], Beugungsgitter [8]) oder eine spezielle Wandlergeometrie [9]. Diese Techniken weisen jedoch Einschränkungen auf, wenn in geschlossenen Gefäßen (Kavitäten) dreidimensional fokussiert werden soll. Hier kommt es zu Reflexionseffekten, die eine effektive Fokussierung stören oder u. U. gänzlich verhindern können. Darüber hinaus kann auf Basis von passiven Systemen und speziellen Wandlergeometrien keine elektronische, translatorische Verschiebung der Partikel oder Zellen erfolgen, da die akustischen Felder stationär sind. Dies macht den Einsatz zusätzlicher elektromechanischer Verfahreinrichtungen nötig.

Methodik

Im Kontext der aufgezeigten bestehenden systematischen Grenzen wurde auf Basis einer Simulationsstudie untersucht, ob die Ultraschall-Zeitumkehrtechnik [10], [11], [12] für die Generierung eines geeigneten Schallfeldes in einem flüssigkeitsgefüllten Gefäß genutzt werden kann, um die vorher einschränkenden Mehrfachreflexionen zugunsten der Fokussierung zu nutzen. Ziel ist es, ein transientes und lokal begrenztes Schallfeld mit spezifischer Geometrie in einem zylindrischen und flüssigkeitsgefüllten Gefäß zu realisieren, mit dessen Hilfe ein oder mehrere Partikel sicher eingefangen und beliebig translatorisch im Raum verschoben werden können. Für die Realisierung der hier eingesetzten Variante der Zeitumkehrtechnik wird in einem ersten Schritt die gewünschte komplexe Schallfeldgeometrie im Gefäß aus virtuellen Schallquellen Q_j nachgebildet (siehe Abbildung 1). Die virtuellen Schallquellen senden Kalibriersignale aus. Die sich von den Quellen aus im Gefäß ausbreitenden Schallfelder werden von einem Schallwandler-Array (Piezokeramiken) auf der Unterseite des Gefäßes empfangen, abgetastet und gespeichert. Die resultierenden Schallsignale $s_i(t, x_j)$ bilden die notwendige Kalibrierung.

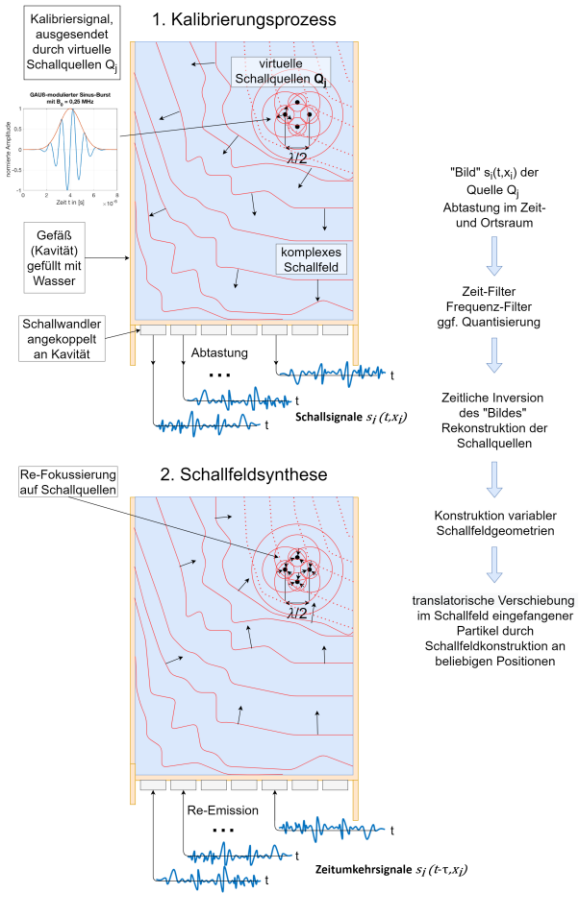

Abbildung 1: Methodik der Zeitumkehrtechnik zur Generierung komplexer Schallfeldgeometrien für die Akustophorese in geschlossenen Gefäßen. (oben) Kalibrierungsprozess: virtuelle Schallquellen senden Kalibriersignale aus, die mithilfe eines nicht-invasiv angekoppelten Transducer-Arrays an der Unterseite des Gefäßes abgetastet und in ihrer chronologischen Reihenfolge umgekehrt werden (Zeitumkehr). (unten) Schallfeldsynthese: Re-Emission der Zeitumkehrsignale und damit Re-Fokussierung auf die virtuellen Schallquellen.

Anschließend erfolgen eine entsprechende Filterung und die Umkehrung der Zeitachse (Umkehr chronologische Reihenfolge). Hieraus entstehen die sog. Zeitumkehrsignale $s_i(t-\tau, x_i)$, die an den zugehörigen Wandlern re-emittiert werden. Durch die Re-Emission der Signale kommt es zu einer Kompensation der Gesamt-Übertragungsfunktion von der Schallquelle zum Schallwandler und damit zu einer gewünschten lokalen und zeitlichen Re-Fokussierung auf die vorher über die Kalibrierung festgelegten Schallquellen. Der lokale Schalldruck an den Fokuspunkten resultiert aus der konstruktiven Interferenz aller Sendesignale. Hierdurch kann der Schalldruck über die Anzahl der Schallwandler und den jeweiligen Signalpegel flexibel angepasst werden. Wird der beschriebene Kalibrierungsprozess für weitere Positionen eines festgelegten Rasters innerhalb des Gefäßes durchgeführt, entsteht ein Datensatz an Kalibriersignalen, der die Synthese des lokalen Schallfeldes an beliebigen Positionen im Gefäß erlaubt.

Im direkten Vergleich zu bestehenden Technologien ergeben sich mehrere konkrete Vorteile: Ein wesentlicher Vorteil besteht darin, dass die Komplexität des Schallfeldes bzw. der Schallfeldgeometrie theoretisch beinahe unbegrenzt ist und somit variabel auf den jeweiligen Anwendungsfall angepasst werden kann. Limitierende Faktoren sind die Bandbreite der Zeitumkehrsignale und die Apertur des Wandler-Arrays, die in realen Anwendungen die minimale Größe einzelner Fokuspunkte begrenzen. Ein weiterer Vorteil besteht im positiven Einfluss der innerhalb des Gefäßes auftretenden Reflexionseffekte auf die Fokussierungsqualität. Dies kann damit begründet werden, dass bei jedem Reflexionsvorgang eine zusätzliche virtuelle Schallquelle entsteht, welche die Apertur des Schallwandler-Arrays künstlich vergrößert. Bei der Auslegung einer solchen Manipulationsvorrichtung sollte daher auf möglichst optimale Reflexionseigenschaften geachtet werden. Zusätzlich ergibt sich durch den Einsatz der Zeitumkehrtechnik die Möglichkeit einer elektronischen Verschiebbarkeit eingefangener Objekte. Durch Neupositionierung oder Verschiebung der lokalen Schallfalle (Schallfeldgeometrie) im Raster einer halben Wellenlänge (bezogen auf die Mittenfrequenz) lässt sich das Objekt feinschrittig in allen Achsen bewegen. Zudem ist die Verschiebung durch einfaches Aussenden der zugehörigen Kalibriersignale realisierbar, ohne eine Neuberechnung der Zeit-/Phasenverschiebung durchführen zu müssen (vgl. Phased-Arrays). Hierdurch reduziert sich die benötigte Rechenleistung. Jedoch muss für jede gewünschte Position ein Kalibrier-Datensatz der Zeitumkehr-Signale vorliegen, der in einer relativ zeitaufwändigen Simulation erzeugt wird.

Ergebnisse

Die Machbarkeit der transienten Zeitumkehrfokussierung und die Erzeugung spezifischer, komplexer Schallfeldgeometrien, im Sinne von Partikelfallen, wurde mittels 3D-Simulationen mit COMSOL Multiphysics® untersucht. Für die Untersuchungen wurde ein Modell eines zylindrischen, mit Wasser gefüllten Gefäßes genutzt, an dessen Unterseite 24 piezokeramische Wandler befestigt sind. In Bezug auf das lokale Druckfeld, die Reproduzierbarkeit und den Partikelkraftvektor konnte anhand von Parameterstudien gezeigt werden, dass eine so genannte Bottle-Trap eine ideale Schallfeldgeometrie für diesen Zweck darstellt. Die Falle besteht aus sechs Fokuspunkten, die simultan angeregt werden (siehe Abbildung 2). Bei der Bottle-Trap existieren zwei Fokuspunkte in jeder Achse eines kartesischen Koordinatensystems, die sich in einem definierten Abstand gegenüberstehen - abhängig von den physikalischen Parametern des Teilchens und des umgebenden Mediums. Das zu manipulierende Objekt befindet sich zwischen den Fokuspunkten. Auf diese Weise wird eine dreidimensionale Kraftwirkung auf Basis der ARF erreicht.

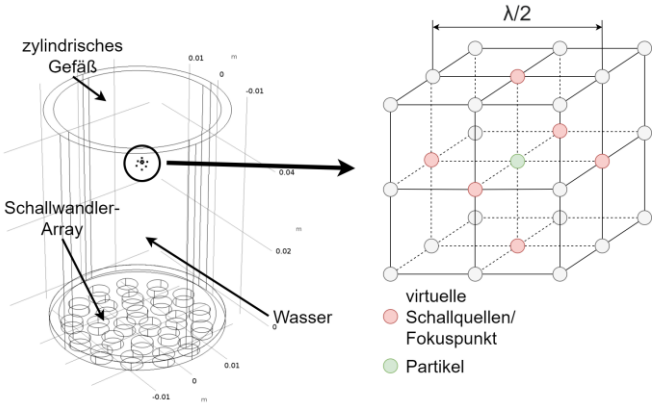

Abbildung 2: Simulationsmodell des zylindrischen Gefäßes mit an der Unterseite angebrachtem Transducer-Array und mit integrierten, virtuellen Schallquellen, die in Form der Bottle-Trap um ein Partikel herum angeordnet sind.

Die Untersuchungen zeigen, dass mit der verwendeten Schallwandler-Anzahl von 24 ein komplexes Schallfeld mit der Zeitumkehrtechnik grundsätzlich realisierbar ist, wenn die Zeitumkehrsignale mindestens so lang sind, wie eine Schallwelle benötigt, um die größte Dimension des Gefäßes fünfmal zu durchlaufen. Bei einer Erhöhung der Signallänge kann die Schallwandler-Anzahl jedoch reduziert werden, was sich damit begründen lässt, dass bei der entsprechenden Anzahl von Durchläufen eine ausreichende Zahl von Mehrfachreflexionen im Signal enthalten ist, die jeweils als zusätzliche Schallquellen wirken. Für reale Systeme muss daher ein Kompromiss zwischen der Kanal-Anzahl und der Signallänge, d.h. dem Speicherbedarf pro Signal, gefunden werden. Weiterhin zeigen die Parameterstudien, dass nahe beieinanderliegende Fokuspunkte mit gleicher Phasenlage zu einem Fokuspunkt verschmelzen, was auf die begrenzte Apertur des Schallwandler-Arrays und die limitierte Bandbreite der Kalibriersignale zurückzuführen ist. Untersuchungen mit verschiedenen Kalibriersignalen (Gauß-Puls, differenzierter Gauß-Puls und Gauß-modulierter Sinus-Burst) zeigen eine verbesserte Fokussierungswirkung und damit einhergehend kleinerer Fokuspunkte bei breitbandigeren Signalen. Ihre Anwendung ist für reale Applikationen jedoch eingeschränkt, da entsprechende Schallwandler häufig schmalbandig ausgeführt sind. Um ein Verschmelzen der Fokuspunkte zu vermeiden, ist es daher sinnfällig, dass gegenüberliegende Fokuspunkte eine inverse Amplitude aufweisen. Haben gegenüberliegende Fokuspunkte bei inverser Amplitude einen Abstand von λ/2, entsteht ein akustisches Feld, das im Prinzip einer lokal begrenzten stehenden Welle in drei Dimensionen entspricht

(siehe Abbildung 3). Entsprechende mehrdimensionale stehende Wellen sind bereits in anderen Forschungsarbeiten erfolgreich für die Partikelmanipulation eingesetzt worden [4], jedoch mit dem Unterschied, dass diese dort systembedingt nicht lokal begrenzt werden können und somit im gesamten Volumen wirken. In der lokalen Begrenzung zeigt sich dabei ein weiterer Vorteil der Zeitumkehrtechnik. In diesem Kontext wurde außerdem untersucht, ob mehrere Bottle-Traps simultan im Gefäß erzeugt werden können, sodass es möglich ist, mehrere Partikel simultan einzufangen und unabhängig voneinander zu bewegen. Es zeigte sich, dass die parallele Erzeugung von drei Bottle-Traps ohne erkennbare Verschlechterung der Fokussierungsqualität realisierbar ist. Die maximale Anzahl drei resultiert dabei aus den hier gewählten Abmessungen des Gefäßes und der frequenzbedingten Größe der Schallfeldgeometrie.

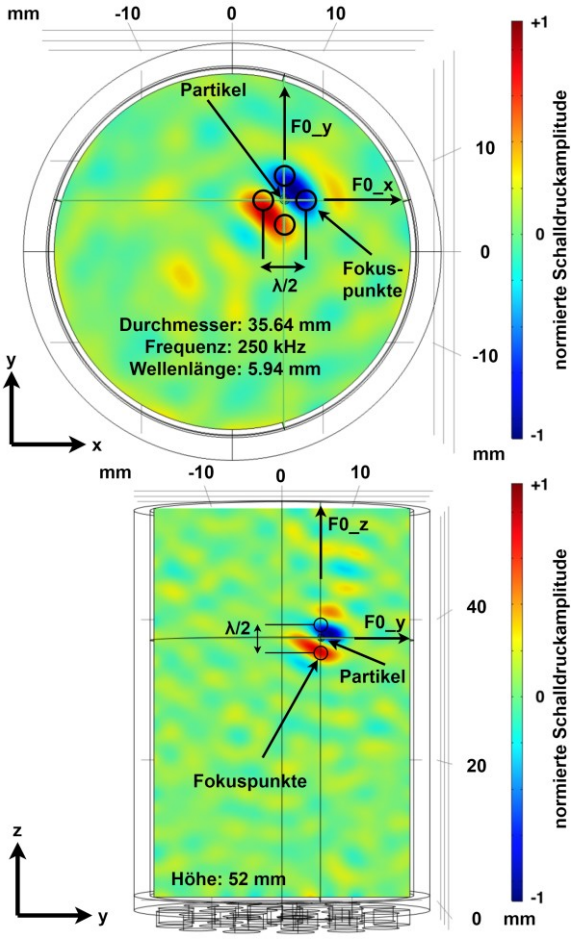

Abbildung 3: Simulationsbeispiel bei einer Schallfrequenz von 250 kHz: Intensitätsdarstellung des akustischen Druckfeldes der Bottle-Trap in der XY- (oben) und in der YZ-Ebene (unten) in einem zylindrischen Gefäß mit einem Array aus 24 piezokeramischen Schallwandlern an der Unterseite.

Für ein stabiles Partikel-Trapping ist es nötig, dass das transiente Schallfeld in einen quasistationären Zustand überführt wird. Dies lässt sich durch getaktetes wiederholtes Aussenden der Zeitumkehrsignale mit einer gezielten Signalüberschneidung realisieren. Durch die Signal-überschneidung und die Signalwiederholung kommt es jedoch zu einer Verschlechterung der Fokussierungsqualität, welcher durch eine Vergrößerung der Signallänge der Zeitumkehrsignale effektiv entgegengewirkt werden kann.

Zur Quantisierung der Kraftwirkung auf Partikel wurde die ARF anhand des simulativ berechneten Druckfeldes und des mathematischen Ansatzes nach [13], [14] auf ein beispielhaft eingebrachtes Partikel aus Polystyrol mit einem Durchmesser von 0,6 mm (λ/10) bestimmt. Für die Levitation eines solchen Partikels werden 75 nN Kraftwirkung benötigt. Das Partikel wurde für die Untersuchung in alle Richtungen um 0,25 mm aus dem Zentrum der Partikel-Falle herausgeschoben. Es zeigt sich, dass die benötigten Kraftwirkungen in allen drei Dimensionen (F_0) bereits mit Wandlerspannungen von rund 20 V_{PP} erreicht werden können (siehe Abbildung 4). Weiterhin fällt auf, dass die ARF in Z-Richtung deutlich größer ist, als in X- und Y-Richtung, was aus Asymmetrien im akustischen Druckfeld resultiert.

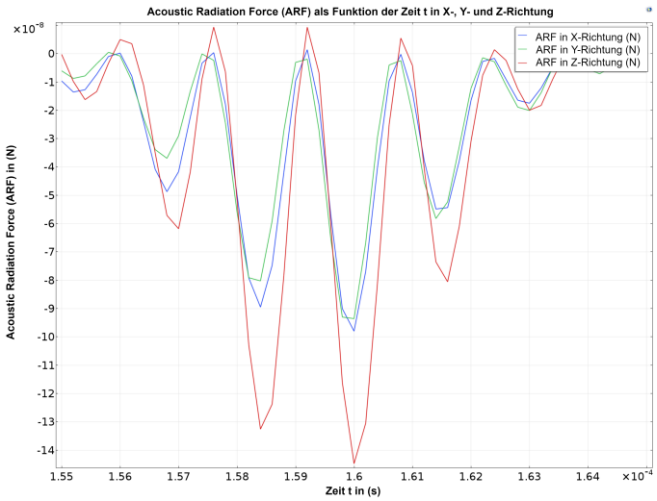

Abbildung 4: zeitlicher Verlauf der Schallstrahlungskraft in X-, Y- und Z-Richtung auf ein beispielhaft eingebrachtes Partikel aus Polystyrol mit einem Durchmesser von 0,6 mm.

Die elektronische Verschiebbarkeit des beispielhaft eingebrachten Partikels wurde überprüft, indem die Schallfeldgeometrie nacheinander an unterschiedlichen Positionen im Gefäß erzeugt wurde. Hierbei wurde keine Verschlechterung der Fokussierungsqualität in der Nähe der Wandung oder am Wasser-Luft-Übergang an der Oberseite des Gefäßes festgestellt.

Schlussfolgerung und Ausblick

Im Rahmen der Arbeit konnte anhand von Simulationsstudien gezeigt werden, dass auf der Basis der Zeitumkehrtechnik ein Schallfeld realisiert werden kann, das die transiente Akustophorese in flüssigkeitsgefüllten Gefäßen ermöglicht. Als ideale Schallfeldgeometrie wurde die sogenannte Bottle-Trap ermittelt, die translatorisch im Gefäß bewegt werden kann und deren Kraftwirkung für die akustische Levitation eines beispielhaft eingebrachten Polystyrol-Partikels ausreicht. Aufbauend auf den dargestellten Ergebnissen der Simulationsstudie wurde ein Demonstrator realisiert (siehe Abbildung 5). Er besteht aus

einem zylindrischen Gefäß (Durchmesser 35,64 mm, Höhe 52 mm) aus PMMA (Wanddicke 1,36 mm), an dessen Unterseite 24 piezokeramische Wandler (PIC255) mit einem Durchmesser von je 4,9 mm angekoppelt sind. Die Schallwandler besitzen eine Resonanzfrequenz von 1 MHz. Das Gefäß ist mit destilliertem Wasser gefüllt und der Boden dient als λ/4-Anpassungsschicht zur reflexionsarmen Ankopplung der Wandler an die Flüssigkeit. Im weiteren Verlauf der Arbeit muss ein geeignetes Steuerungssystem entworfen und realisiert werden. Dieses wird voraussichtlich aus einem FPGA und einem mehrkanaligen Verstärker bestehen. Mit dieser entsprechenden experimentellen Basis sollen nachfolgend Versuche mit Partikeln aus Polystyrol, im Anschluss auch mit weiteren geeigneten Materialien und Partikelgrößen, erfolgen, um perspektivisch die eingangs erwähnten Anwendungsfelder erschließen zu können.

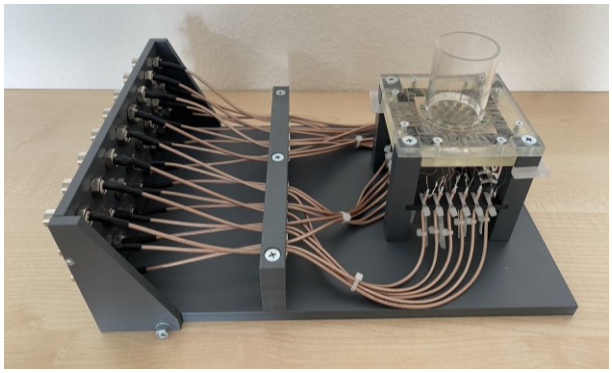

Abbildung 5: Akustophorese-Demonstrator bestehend aus einer zylindrischen mit Wasser gefüllten Kavität und einem Transducer-Array mit 24 Einzel-Transducern an der Unterseite (Schallfrequenz 1 MHz).

Literatur

[1] A. Lenshof et al., “Acoustophoresis,” in Encyclopedia of Nanotechnology, B. Bhushan, Ed. Dordrecht: Springer Netherlands, 2012, doi: 10.1007/978-90-481-9751-4_423.

[2] P. Augustsson et al., “Measuring the acoustophoretic contrast factor of living cells in microchannels”, Proceedings of the 14. International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences, pp. 1337-1339, 2010, ISBN: 978-0-9798064-3-8.

[3] L. P. Gor’kov, “Forces acting on a small particle in an acoustic field within an ideal fluid,” Dokl. Akad. Nauk SSSR, vol. 140, no. 1, pp. 88–91, 1961.

[4] A. Ozcelik et al., “Acoustic tweezers for the life sciences,” Nature Methods, vol. 15, no. 12, pp. 1021–1028, 2018, doi: 10.1038/s41592-018-0222-9.

[5] A. Marzo et al., “Holographic acoustic elements for manipulation of levitated objects,” Nature Communications, vol. 6, no. May, pp. 1–7, 2015, doi: 10.1038/ncomms9661.

[6] X. Jiang et al., “Convert Acoustic Resonances to Orbital Angular Momentum,” Physical Review Letters, vol. 117, no. 3, 2016, doi: 10.1103/PhysRevLett.117.034301-034305.

[7] M. E. Terzi et al., “Generation of a vortex ultrasonic beam with a phase plate with an angular dependence of the thickness,” Moscow University Physics Bulletin, vol. 72, no. 1, pp. 61–67, 2017, doi: 10.3103/S0027134916050180.

[8] N. Jiménez et al., “Formation of high-order acoustic Bessel beams by spiral diffraction gratings,” Physical Review E, vol. 94, no. 5, pp. 1–18, 2016, doi: 10.1103/PhysRevE.94.053004.

[9] M. Baudoin et al., “Folding a focalized acoustical vortex on a flat holographic transducer: Miniaturized selective acoustical tweezers,” Science Advances, vol. 5, no. 4, pp. 1–7, 2019, doi: 10.1126/sciadv.aav1967.

[10] M. Fink, “Time Reversal of Ultrasonic Fields - Part I: Basic Principles,” IEEETransactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control, vol. 39, no. 5, pp. 555–566, 1992, doi: 10.1109/58.156174.

[11] F. Wu et al., “Time Reversal of Ultrasonic Fields - Part II: Experimental Results,” IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control, vol. 39, no. 5, pp. 567–578, 1992, doi: 10.1109/58.156175.

[12] D. Cassereau et al., “Time-Reversal of Ultrasonic Fields - Part III: Theory of the Closed Time-Reversal Cavity,” IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control, vol. 39, no. 5, pp. 579–592, 1992, doi: 10.1109/58.156176.

[13] P. Glynne-Jones et al., “Efficient finite element modeling of radiation forces on elastic particles of arbitrary size and geometry,” The Journal of the Acoustical Society of America, vol. 133, no. 4, pp. 1885–1893, 2013, doi: 10.1121/1.4794393.

[14] A. Grinenko, “How to Compute the Acoustic Radiation Force,” 2015. https://www.comsol.com/blogs/how-to-compute-the-acoustic-radiation-force/ (accessed Aug. 30, 2021).