F.O.M.
Forschungsvereinigung Feinmechanik, Optik und Medizintechnik e.V.

Projektplan

3DmiChrom: Mikro-3D-Druck von stationären Phasen für die miniaturisierte Flüssigchromatographie (22786 N)

Problemstellung

In der analytischen Chromatographie konnten in den vergangenen Jahren durch die sukzessive Verringerung der Partikelgröße die Trenneffizienz und Analysengeschwindigkeit deutlich gesteigert werden. Aktuell ist mit der konventionellen Partikeltechnologie ein technisches Limit bei einem Partikeldurchmesser um 1,0 µm erreicht. Noch geringere Partikeldimensionierungen würden einen enormen Druckanstieg und in Folge eine nicht mehr tolerierbare Friktionswärme erzeugen. Ein anderes nicht lösbares technisches Problem besteht darin, dass die interpartikuläre Porosität nur über die Partikelgröße beeinflusst werden kann. Eine weitere Verringerung der Streudiffusion ist somit nicht zu erzielen.
Derweil steigt auch im Bereich der instrumentellen Analytik das Interesse an den Möglichkeiten der additiven Fertigung von HPLC ("High Performance Liquid Chromatography")-Säulen. Simulationsstudien haben bereits vor Jahren gezeigt, dass die theoretische Bodenhöhe, als Maß für die Trenneffizienz, durch eine geordnete und homologe Struktur deutlich minimiert werden kann. Dadurch kann auch die interpartikuläre Porosität aktiv beeinflusst werden. Die Streudiffusion lässt sich somit von der Partikelgröße unabhängig verändern.
Die technologischen Herausforderungen, die in der aktuellen wissenschaftlichen Literatur beschrieben werden, liegen in der Entwicklung geeigneter Materialien, die sich zur additiven Fertigung von Trennphasen eignen, als auch in der langen Fertigungsdauer bei ausreichender Auflösung.
In diesen Studien wurden die stationären Phasen über das Digital-Light–Processing (DLP) Verfahren hergestellt, das einen guten Kompromiss zwischen Herstellungsgeschwindigkeit und Auflösung bietet. Die Säulendimensionen bleiben in Bezug auf die Porosität jedoch deutlich hinter dem Stand der Technik zurück, sodass die so gefertigten Säulen eine schlechte Trenneffizienz aufweisen.
Die Auflösung könnte durch Verfahren wie der Zwei-Photonen-Lithographie verbessert werden. Dieses Druckverfahren basiert auf der Photopolymerisation und ermöglicht eine Fertigung im Nanometer-Bereich. Mit zunehmender Auflösung erhöht sich allerdings auch die Fertigungsdauer, weshalb sich dieses Verfahren für die Herstellung von Chromatographiephasen zurzeit nicht eignet.

Forschungsziel

Im Gegensatz zur konventionellen Hochleistungsflüssigkeitschromatographie werden bei der Mikro- bzw. Nano-Flüssigkeitschromatographie-Trennsäulen mit sehr geringen Innendurchmessern von 50 µm bis 500 µm verwendet. Typische Längen solcher gepackten Säulen erreichen 10 mm bis 50 mm. Durch die Miniaturisierung können hochauflösende 3D-Druckverfahren, wie z. B. die Zwei-Photonen-Lithographie, zur Fertigung der stationären Trennphase genutzt werden, um die Trenneffizienz additiv gefertigter HPLC-Säulen im Vergleich zum aktuellen Stand der Technik signifikant zu verbessern. Ziel des geförderten Projektes ist die additive Fertigung miniaturisierter analytischer Trennsäulen, die in mikrofluidische Systeme (Lab-on-Chip, LoC) integriert werden können.

Lösungsweg zum Erreichen des Forschungsziels

Neben der Fertigungsdauer gibt es noch weitere Gründe, warum die Zwei-Photonen-Lithographie bisher nicht zur Fertigung von mikrofluidischen Trennphasen eingesetzt wurde. Schwierigkeiten bereitet die Nachbehandlung, konkret das Entfernen nicht erhärteten Materials aus der Porenstruktur. Hierzu sollen zwei Lösungsansätze verfolgt werden. Zum einen soll versucht werden, die gedruckte stationäre Phase in Edelstahlkapillaren zu fixieren und mithilfe von Drücken von bis zu 1.200 bar das nicht erhärtete Material zu entfernen. Zum anderen soll die stationäre Phase mittels Ultraschall behandelt und erst im Anschluss in eine Edelstahlummantelung überführt werden. Vorstellbar ist auch eine Kombination beider Verfahren.
Photopolymerisationsverfahren haben in der Vergangenheit keine große Rolle bei der Fertigung von HPLC-Säulen, auch nicht bei monolithischen Phasen, gespielt. Daher existieren keine Materialien, die direkt über

funktionelle Gruppen verfügen, die in der Chromatographie genutzt werden können. Vor diesem Hintergrund sollen innerhalb dieses Projektes auch neue Werkstoffe entwickelt werden (sog. präfunktionalisierte Phasen), die sowohl diese Eigenschaften als auch einen hohen Vernetzungsgrad aufweisen. Des Weiteren sollen bestimmte Funktionalitäten im Rahmen der Nachbehandlung (Postfunktionalisierung) eingebracht werden und den gegenwärtigen Stand des Wissens und der Technik erweitern. Es wird angestrebt, möglichst viele der üblichen Funktionalitäten (Ionenaustausch-, Umkehr- oder Affinitätsphasen) auf das Basismaterial aufzutragen, um die Eignung der gedruckten Säulen für eine große Bandbreite an Anwendungen demonstrieren zu können.

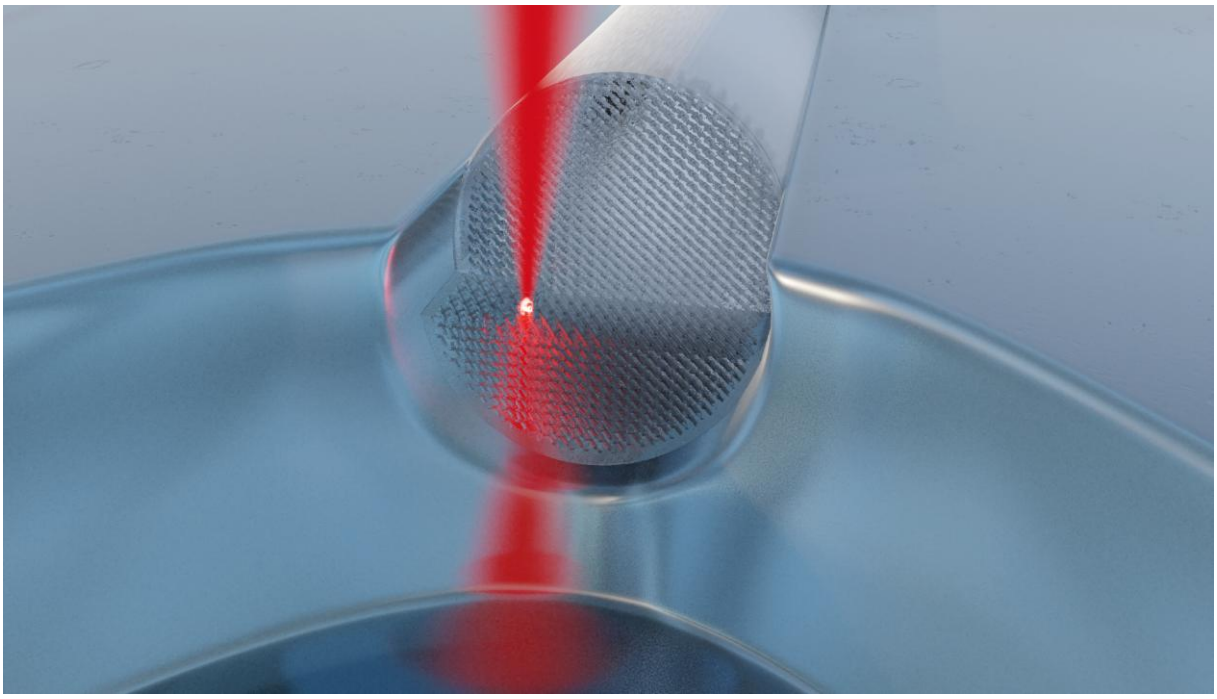

Abbildung 1: Schematische Darstellung des Photopolymerisationsverfahrens bei Fertigung einer mikroskaligen Trennphase.

Neben einem homogenen Grundgerüst im Makrobereich (500 bis 3.000 nm) gilt es auch, Mesoporen in die Struktur einzubringen. Deren Größe liegt im unteren Nanometerbereich (8 bis 50 nm) und wird durch Verwendung von flüchtigen Lösemitteln oder wasserlöslichen, nanoskalierten Partikeln erzeugt. Hierdurch wird die Porosität des Materials erhöht und die Trennleistung verbessert. Es gilt darauf zu achten, dass die Porengrößen idealerweise monodispers sind und das Verfahren reproduzierbar ist, um die Batch-zu-Batch-Varianz gering zu halten.
Insbesondere in der Analytik von Biomolekülen haben sich stahlfreie Säulen für die Chromatographie ausgezeichnet. Hierdurch werden hochsymmetrische Analytpeaks erhalten, ohne dass der mobilen Phase Ionenpaarreagenzien zugesetzt werden müssen, sodass eine direkte Kopplung mit massenspektrometrischen Detektionsverfahren möglich wird. Vor diesem Hintergrund soll mithilfe der additiven Fertigung, diesmal auf Basis eines Extrusionsverfahrens, ebenfalls die Säulenhardware gedruckt werden. Hierzu zählen der Säulenkörper, die Säulenkopfmutter sowie das Säulenendfitting. Vorversuche haben eine Druckstabilität von über 700 bar demonstrieren können, sodass eine Eignung des Materials als gegeben angenommen wird. Insbesondere in der mikrofluidischen Chromatographie haben Totvolumina einen starken Einfluss auf die Gesamteffizienz.

Arbeitsdiagramm

Arbeitspaket	Zeitraum (Projektmonate)																										
	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
AP 1: Bestimmung geeigneter Werkstoffe / Ausgangsmaterialien für die additive Fertigung monolithischer Säulen																											
AP 2: Verfahren zur Charakterisierung additiv gefertigter Komponenten																											
AP 3: CFD-Simulationen zur Optimierung des Säulendesigns																											
AP 4: Bestimmung der Grenzen 2-Photonen-Lithografischer Fertigung für monolithische Säulen / Design der Makroporen																											
AP 5: Visualisierung der Dispersionseigenschaften mit mikroskopischen Techniken																											
AP 6: Modifizierung der Ausgangsmaterialien bzw. der Fertigungsparameter zur Erhöhung der Porosität (Mesoporen)																											
AP 7: Oberflächenfunktionalisierung der monolithischen Säulen																											
AP 8: Additive Fertigung der Säulen-Peripherie																									MS3		
AP 9: Projekt- & Risikomanagement; Dokumentation																											
Meilensteine (MS)							MS1						MS2						MS3								

MS1: Die Mindestanforderungen der eingesetzten Materialien mit einer Lösemittelbeständigkeit von mindestens 60 % Organik, einer pH-Beständigkeit im Bereich von pH 5 bis 8 und einer Temperaturbeständigkeit bis 50 °C werden erfüllt.

MS2: Makroporen einheitlicher Größe (≤ 2 µm), die ein für die mobile Phase durchgängiges System bilden, können reproduzierbar erzeugt werden.

MS3: Mesoporen < 40 nm können reproduzierbar erzeugt werden.

Nutzen und wirtschaftliche Bedeutung des Forschungsthemas

Die wirtschaftliche Relevanz der Entwicklung ist insbesondere in Europa hoch, da die Hersteller von kommerziell erhältlichen Chromatographiesäulen vor allem in Japan und den USA ansässig sind. Auf dem deutschen Markt finden sich viele hochspezialisierte KMU, die HPLC-Säulen entwickeln und kundenspezifische Dienstleistungen erbringen. Das im Rahmen dieses Projektes zu entwickelnde Verfahren unterscheidet sich auf technologischer Basis grundlegend von den klassischen Syntheseansätzen für die konventionelle HPLC. Deutschen KMU würde somit ein signifikanter Wettbewerbsvorteil vor der internationalen Konkurrenz eröffnet. Dies bezieht sich nicht nur auf die Fertigung von HPLC-Säulen mittels additiver Verfahren. Die additive Fertigung kann darüber hinaus eingesetzt werden, Kleinstserien von hochindividuellen Komponenten für die

Mikrofluidik und LoC-Systeme zu fertigen. Auf diese Weise wird dem aktuell akuten Problem von Lieferengpässen bei wichtigen Verbrauchsmaterialien entgegengewirkt und eine Unabhängigkeit von derzeit international dominierten Lieferketten erreicht.
Die wirtschaftliche Relevanz in Bezug auf den Gesamtmarkt nur für das Segment von HPLC-Säulen wird bis zum Jahr 2026 bei einem jährlichen Wachstum von 5,7 % auf bis zu 5 Milliarden US-Dollar prognostiziert. Nicht zuletzt aufgrund der steigenden Nachfrage in Bezug auf die Analytik von Biomolekülen, wofür sich die hier zu fertigenden, rein kunststoffbasierten Säulen besonders eignen, wird dieser Markt weiter wachsen. Aktuelle Ereignisse zeigen die Wichtigkeit von Biomolekülen in der Diagnostik: Die als Medikament gegen Covid-19 eingesetzten, und darüber hinaus für die Bekämpfung von Krebs im Rahmen personalisierter Medizin relevanten monoklonalen Antikörper werden immer mehr nachgefragt. Dieser Markt wächst derzeit jährlich mit einer Rate von 7-12 %.

Projektbegleitender Ausschuss

Unternehmen
Allresist GmbH KMU
BASF SE
CS-Chromatographie Service GmbH KMU
Dr. Licht GmbH KMU
Dr. Maisch HPLC GmbH KMU
Horizon Microtechnologies GmbH KMU
ISERA GmbH KMU
Macherey-Nagel GmbH & Co. KG
Nanoscribe GmbH & Co. KG
Sykam Chromatographie Vertriebs GmbH KMU
Tosoh Bioscience GmbH
YMC Europe GmbH

Sonstige
EURA AG
SPECTARIS e. V.

Das IGF-Vorhaben Nr. 22786 N der Forschungsvereinigung Feinmechanik, Optik und Medizintechnik wird über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.