

ON-CHIP PROBENVORBEREITUNG FÜR DEN NACHWEIS VON BIOMARKERN IN VOLLBLUT MITTELS MIKROFLUIDISCHER LAB-ON-A-CHIP POCT- EINWEGSENSOREN

Teilprojekt: Fertigungs- und Replikations-
technologien für die On-Chip
Probenvorbereitung

PlasmaSepPOC

SCHLUSSBERICHT PLASMASEPPOC

On-Chip Probenvorbereitung für den Nachweis von Biomarkern in Vollblut mittels mikrofluidischer Lab-on-a-Chip POCT-Einwegsensoren

Teilprojekt: Fertigungs- und Replikationstechnologien für die On-Chip Probenvorbereitung
Laufzeit des Vorhabens: 01.09.2022 – 28.02.2025
Förderkennzeichen: 03WIR7303C
Projektpartner: Fraunhofer-Institut für Werkzeugmaschinen und Umformtechnik IWU, Standort Chemnitz

Projektleiter: **Udo Eckert**
Eric Gärtner

Tel.: +49 371 5397-1973
E-Mail: eric.gaertner@iwu.fraunhofer.de

Fraunhofer-Institut für Werkzeugmaschinen und Umformtechnik IWU
in Chemnitz, Dresden, Wolfsburg und Zittau.

Chemnitz, 02.09.2025
Ort und Datum

rechtsverbindliche Unterschrift

Inhalt

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | Kurzbericht | 4 |
| 2 | Eingehende Darstellung | 6 |
| 2.1 | Strategien zur Blutplasmaseparation in kapillarkraftgetriebenen Mikrofluidiken..... | 6 |
| 2.2 | Herstellung von Master-Werkzeugen für das Heißprägen von Mikrofluidikfolien mit Filterstrukturen | 6 |
| 2.2.1 | Mikrozerspannung | 6 |
| 2.2.2 | Laserbearbeitung | 8 |
| 2.4 | Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises | 13 |
| 2.5 | Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Projektarbeiten | 13 |
| 2.6 | Nutzen/Verwertbarkeit des Ergebnisses | 13 |
| 2.7 | Fortschritte auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen | 14 |
| 2.8 | Veröffentlichungen | 14 |
| 3 | Erfolgskontrollbericht..... | 15 |
| 3.1 | Wissenschaftlich-technisches Ergebnis des Vorhabens inkl. erreichter Nebenergebnisse und gesammelten wesentlichen Erfahrungen..... | 15 |
| 3.2 | Fortschreibung des Verwertungsplans | 15 |
| 3.3 | Arbeiten, die zu keiner Lösung geführt haben..... | 16 |
| 3.4 | Einhaltung der Ausgaben- und Zeitplanung | 16 |

1 Kurzbbericht

Das Blutplasma ist eine der wichtigsten Quellen für zirkulierende Biomarker. Die Qualität der analytischen Methode zum Nachweis von Biomarkern hängt maßgeblich von der Probenvariabilität ab. Bei der Vermessung von Vollblutproben ist die Probenvorbereitung der Blutprobe ein entscheidender Schritt für die nachfolgende Zuverlässigkeit der Bestimmung eines Biomarkers aus der Vollblutprobe. Vor allem bei patientennahen oder Point-of-Care-Testing (POCT)-Systemen ist die Integration der Probenvorbereitung in das Analysesystem von essenzieller Bedeutung, damit diese Systeme sowohl von medizinischem Fachpersonal als auch von Laien verwendet werden können.

Die Abtrennung von Blutzellen zur Gewinnung des Blutplasmas kann auf verschiedene Weisen verwirklicht werden. Im makroskopischen wird fast ausschließlich mit Zentrifugation gearbeitet. Mikroskopisch können jedoch auch andere Effekte - wie beispielsweise die Crossflow-Mikrofiltration, die Dielektrophorese oder der Zweifach-Fung-Effekt - genutzt werden. Allgemein lassen sich zwei Kategorien von mikrofluidischen Systemen unterscheiden. Während aktive Techniken externe Kraftfelder für die Separation nutzen, beruht die Zellseparation mittels passiver Techniken auf biophysikalischen Effekten, den Zelleigenschaften, hydrodynamischen Kräften oder der Kanalgeometrie. Im Gegensatz zu aktiven Techniken benötigen passive Techniken somit keine komplexen zusätzlichen Apparaturen und können somit einfach in POCT-Systeme integriert werden. Dies macht sie zugleich wesentlich kostengünstiger im Vergleich zu aktiven Techniken.

Trotz immenser Anstrengungen in den letzten Jahren konnte bisher nahezu kein technologischer Ansatz zur Blutplasmaseparation in ein kommerzielles Produkt überführt werden. Vor allem die Verwendung von unverdünntem Blut und das begrenzte Volumen im Falle von Kapillarblut stellen die zur Verfügung stehenden Technologien vor große Herausforderungen. Um kommerziell erfolgreiche Separationsmethoden zu etablieren, müssen Parameter wie die Materialauswahl, die Massenproduktionstauglichkeit, mögliche Oberflächenmodifikationsprozeduren und Verkapselungs- sowie Verpackungsmethoden beachtet werden. Weiterhin ist die Einfachheit der Prozedur trotz komplexer analytischer Anforderungen beizubehalten. Die Technologie muss in der Lage sein, mit dem geringen Volumen an Kapillarblut aus der Fingerbeere (~ 10 µL) zu arbeiten und auch mögliche Volumenschwankungen bei der Probennahme durch den nicht-professionellen Nutzer (Heimanwendung, Eigenanwendung) zu tolerieren. Zudem muss die Methode für eine POCT-Anwendung ohne Verdünnungsschritte arbeiten, d. h. die Blutprobe wird ohne zusätzliche Manipulation in das POCT-System eingeführt. Um diese Eigenschaften zu erreichen, wird die Kombination innovativer fertigungstechnologischer Aspekte mit biochemischem Know-How ein entscheidender Erfolgsfaktor bei zukünftigen Entwicklungen sein [Wang et al., 2021].

Fertigungstechnologisch können mikrostrukturierte Teile aus Kunststoff durch Heißprägen, Spritzgießen oder Spritzprägen hergestellt werden. Beim Heißprägen wird der mikrostrukturierte Formeinsatz bei einer Temperatur oberhalb der Glasübergangstemperatur des Kunststoffes in eine Kunststoffplatte gedrückt. Anschließend wird der Formeinsatz abgekühlt, bis sich der Kunststoff wieder zu verfestigen beginnt. Durch die geringen Fließwege des Kunststoffes können beim Heißprägeprozess kleinste Konturen von weniger als 1 µm Größe strukturgenau abgeformt werden. Dagegen wird beim Mikrospritzgießen das Kunststoffgranulat in einer Spritzeinheit aufgeschmolzen und in ein beheiztes Spritzgießwerkzeug eingespritzt. Nach dem Öffnen des Werkzeugs werden die spritzgegossenen Kunststoffteile ausgeworfen. Im Vergleich zum Heißprägen lassen sich beim Spritzgießen kürzere Zykluszeiten realisieren.

Je nach Strukturgröße, Genauigkeit und Aspektverhältnis der abzuformenden Struktur werden unterschiedliche Herstellungsmethoden für den Formeinsatz verwendet. Durch Mikrofrästechniken können Strukturen bis etwa 50 µm Größe hergestellt werden. Mik-

roerodiertechneken und Laserabtragen bzw. Laserbohren können zur Fertigung von noch kleineren Strukturen bis etwa 10 µm Größe eingesetzt werden. Auch kommen entsprechende abtragende und spanende Technologien bereits auch in Kombination zur Anwendung [Schub2014]. Mit dem Liga-Verfahren (ein lithographisches Strukturierungsverfahren mit anschließender Galvanik und Abformung) können Formeinsätze mit bis zu 0,2 µm kleinen Strukturen produziert werden. Ein weiterer Vorteil dieser Formeinsätze sind die geringen Oberflächenrauheiten Ra von wenigen 10 nm. Die Standzeiten solcher Werkzeugeinsätze sind jedoch wesentlich geringer als die Standzeiten von Stahleinsätzen. Galvanisch hergestellte Nickeleinsätze lassen sich sowohl für das Heißprägen als auch für das Spritzgießen verwenden.

Das technologische Starterprojekt wurde aufgrund der interdisziplinären Fragestellung arbeitsteilig von den Partnern SensLab, IZI und IWU durchgeführt. Abb. 1 zeigt die Arbeitspakete und die bearbeitenden Projektpartner innerhalb des Projekts.

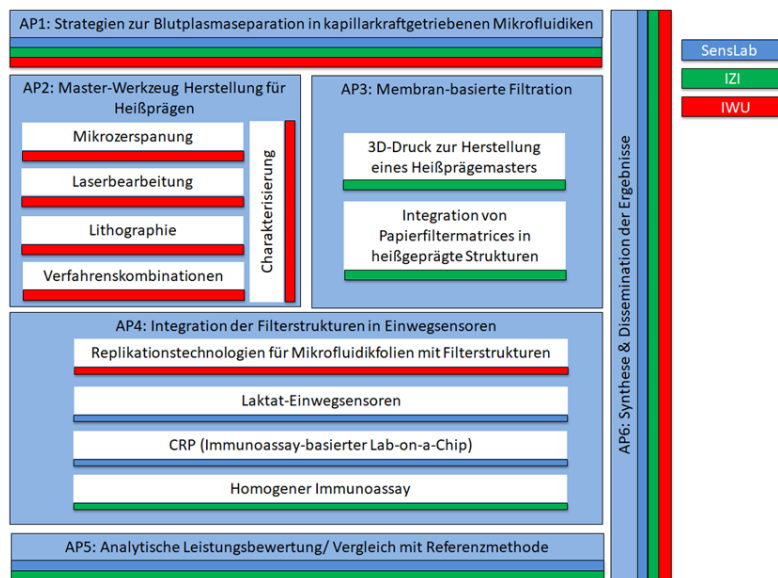


Abb. 1 Projektstruktur PlasmaSepPOC.

Im Rahmen von Arbeitspaket (AP) 1 wurden gemeinsam von SensLab, IZI und IWU grundlegende Anforderungen (Lasten- und Pflichtenheft) zur Probenvorbereitung in kapillarkraftgetriebenen Einwegsensoren erarbeitet. In AP2 wurden innovative Fertigungstechnologien wie Laserbearbeitung etabliert, um Master-Werkzeuge für das Abprägen von Filterstrukturen zur Blutplasmaseparation in Einwegsensoren zu erzeugen. Dieses Arbeitspaket wurde federführend vom IWU bearbeitet. In AP3 wurden vom Partner IZI neuartige bzw. modifizierte Papier-basierte Filtermaterialien ausgetestet, welche sich prozesstechnisch in kapillarkraftgetriebene Einwegsensoren integrieren lassen. In AP4 wurden die optimierten Masterwerkzeuge aus AP2 bzw. die etablierten Filterstrukturen aus AP3 von SensLab in entsprechende Einwegsensoren integriert. In AP5 wurden die etablierten Einwegsensoren mit integrierter Blutplasmaseparation hinsichtlich analytischer Leistungsfähigkeit analysiert und dabei mit geeigneten Referenzmethoden verglichen. AP6 diente der Dissemination der Projektergebnisse.

Referenzen:

Wang, Y.; Nunna, B.B.; Talukder, N.; Etienne, E.E.; Lee, E.S. Blood Plasma Self-Separation Technologies during the Self-Driven Flow in Microfluidic Platforms. *Bioengineering* 8, 94 (2021). doi: 10.3390/bioengineering8070094
 Schubert, Andreas; Groß, Stefan; Edlmann, Jan; Eckert, Udo; Manufacturing of micro fluidic moulds by combining micro milling and laser structuring; 14th International Conference & Exhibition of the European Society of Precision Engineering and Nanotechnology 2014 : 2nd June-6th June 2014, Dubrovnik, Croatia; EUSPEN 2014

2 Eingehende Darstellung

2.1 Strategien zur Blutplasmaseparation in kapillarkraftgetriebenen Mikrofluidiken

Im Rahmen des AP1 wurde in enger Zusammenarbeit mit den Projektpartnern eine Probenvorbereitungsstrategie zur Analyse von Biomarkern in Vollblut mittels ausschließlich kapillarkraftgetriebenen Einwegsensoren erarbeitet. Dabei wurden in Abstimmung mit allen Projektpartnern notwendige Spezifikationen solcher Probenvorbereitungsstrategien erfasst. Die Arbeiten des Fraunhofer IWU konzentrierten sich dabei auf entsprechende Spezifikationen für die Herstellung von Master-Werkzeugen zum Abformen von Kunststoffen durch Heißprägen und zum anderen für die Heißprägetechnologie und den Replikationsprozess selbst. Dabei wurden in Hinblick auf diese Fertigungstechnologien vorrangig Parameter wie

- Anordnung und Geometrien von Strukturen im kapillaren Fluss,
- Miniaturisierung von Strukturen,
- optimale Geometrien und Limitierungen für die Abformung sowie
- minimale Separationsfläche

erfasst und spezifiziert. Im Ergebnis konnte gemeinsam mit den Partnern ein Lastenheft erstellt werden und beispielhafte Filterstrukturen wurden für die Strukturierungsuntersuchungen in AP2 abgeleitet, dabei sind insbesondere kleinste Wandabstände (bis $2\ \mu\text{m}$) der Filtersäulen von herausragender Bedeutung für die Filtration bzw. Blutplasmaseparation.

2.2 Herstellung von Master-Werkzeugen für das Heißprägen von Mikrofluidikfolien mit Filterstrukturen

Eines der grundlegenden Arbeitspakete des Gesamtprojektes stellt AP2 dar. In diesem Arbeitspaket wurden die Voraussetzungen für die Herstellung von Filterstrukturen in mikrofluidischen Systemen untersucht, verglichen und bewertet sowie eine Übertragung in Abformwerkzeuge realisiert. In erster Linie waren dafür die Verfahren der Mikrozerspanung, der Laserstrukturierung sowie Verfahrenskombinationen Untersuchungsgegenstand.

2.2.1 Mikrozerspanung

In AP2 wurden Untersuchungen zum Mikrobohren mit Kleinstbohrern im Durchmesserbereich bis $10\ \mu\text{m}$ durchgeführt. Das beinhaltete die Werkzeugauswahl, -beschaffung und -analyse im Neuzustand. Zudem erfolgte eine Recherche zu Schnittparametern für den Einsatz dieser äußerst bruchanfälligen Werkzeuge (vgl. Abb. 2).

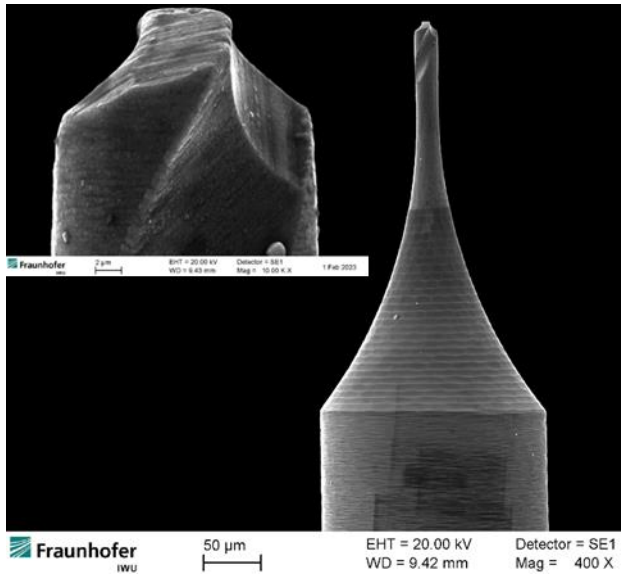


Abb. 2 REM Aufnahmen $\varnothing = 25 \mu\text{m}$ Bohrer (Überblick und Bohrerspitze).

Ein zugehöriger Versuchsplan wurde erarbeitet und ein Versuchsaufbau auf dem Mikrobearbeitungszentrum Kugler MM3 konzipiert und umgesetzt. Dabei wurde zunächst diamantbearbeiteter Messingwerkstoff MS58 mit hoher Oberflächenqualität ($R_a = 20 \text{ nm}$) in Form eines Prägerohlings eingesetzt, um ein Verlaufen des Bohrers beim Werkstückeintritt möglichst zu vermeiden. Die Überwachung des Bohrprozesses erfolgte mittels einer Mikroskop-Kamera. Pro Testraster wurden jeweils 12 Bohrungen mit einem Aspektverhältnis von max. 1:2 realisiert. Mit diesen Voraussetzungen wurden Versuchsreihen mit Werkzeugen unterschiedlicher Hersteller realisiert und die Ergebnisse mit verschiedenen Messmethoden bewertet. Erkennbar ist, dass insbesondere der Verschleiß in Z-Richtung (Bohrrichtung) am Werkzeug und die zum Teil erhöhte Ablenkung des Werkzeuges ein Verschneiden bzw. fehlende Positionstreuung der Bohrungen im Zerspanungsprozess zur Folge haben. Teilweise war auch Werkzeugbruch beobachtbar. Dennoch konnten vielversprechende Ergebnisse insbesondere mit Werkzeugen im Durchmesserbereich $25 \mu\text{m}$ und einem beispielhaften Wandabstand von $5 \mu\text{m}$ erzielt werden (vgl. Abb. 3).

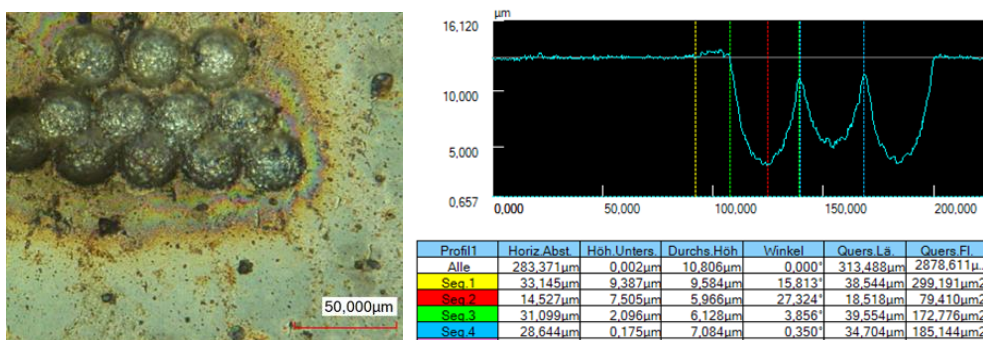


Abb. 3 Beispielbohrungsraster in $D=25\mu\text{m}$ und Auszug Messprotokoll.

Aufbauend auf den dargelegten Ergebnissen erfolgte eine weitere Optimierung der Prozessführung und Schnittparameter beim Mikroborehen. Im Zuge dessen wurden verschiedene Arrays mit bis zu 15 Löchern, die in Wandstärke und Tiefe im Durchmesserbereich von $25 \mu\text{m}$, $50 \mu\text{m}$ und $100 \mu\text{m}$ variierten hergestellt. Hierfür wurde eine spezielle Bohrstrategie, die auf der sequenziellen Tiefenzustellung im Bohrraster beruht, angewandt, um eine Deformation der Wand zwischen den Löchern zu vermeiden.

Wie aus Abb. 4 hervorgeht, konnte aber auch dadurch der entstehende Grat nicht vermieden werden.

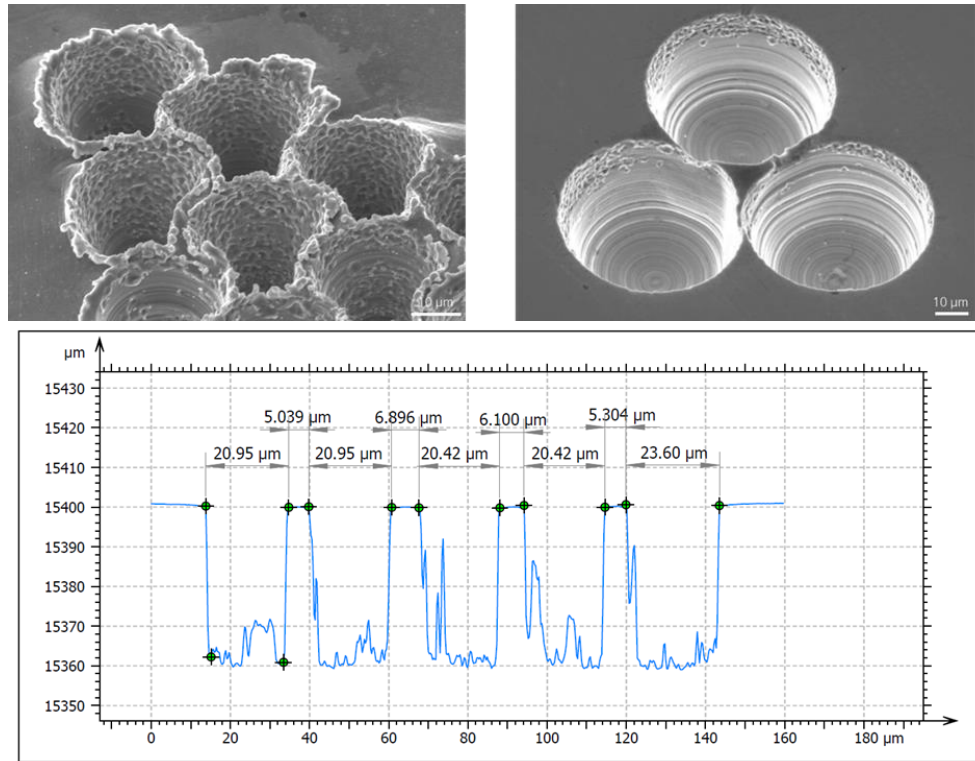


Abb. 4 Gefertigtes Bohrraster ($\text{\O} = 25 \mu\text{m}$; Wandung = $1 \mu\text{m}$; Tiefe = $25 \mu\text{m}$) in Edelstahl vor (links) und nach (rechts) der Reinigung/Politur und Darstellung des Profilschnitts des gefertigten Bohrrasters.

Daher war es notwendig entsprechende mechanische Nachbearbeitungsverfahren in die Prozesskette zu integrieren. Durch einen nachgelagerten Polierschritt ist es gelungen, den Grat zu entfernen. Für die Anwendung des Mikrobohren zur Herstellung von Master-Werkzeugen für das Heißprägen können Schleif- und Polierstiftbasierte Nachbearbeitungen angewandt werden, um die Gratentfernung auch in 3D-Profilen zu ermöglichen.

2.2.2 Laserbearbeitung

Im Rahmen der Untersuchung der Laserbearbeitung erfolgte zunächst ein Screening verschiedener Parametersettings sowie die Erprobung unterschiedlicher Bearbeitungsverfahren: Perkussionsbohren vs. Strukturieren (Scannen).

| Laserparameter | Setting A | Setting B |
|-----------------------------------|-----------|-----------|
| Mittlere Leistung P_{Av} [W] | 10 | 6 |
| Kurzpulsenergie [μJ] | 3,8 | 2,3 |
| Pulswiederholfrequenz [kHz] | 330 | 330 |

Tab. 1 Übersicht Prozessparameter (Pulsdauer $t_H = 10 \text{ ps}$).

Die höhere Kurzpulsenergie bei Setting A führte, wie in Abb. 5 dargestellt, zu starken Verschneidungen der Bohrungswandungen, sodass die Einzelbohrungen nicht mehr erkennbar waren. Die Tiefe der gefertigten Einzelpulse, konnte mit konfokalen Mikroskopen nicht mehr erfasst werden.

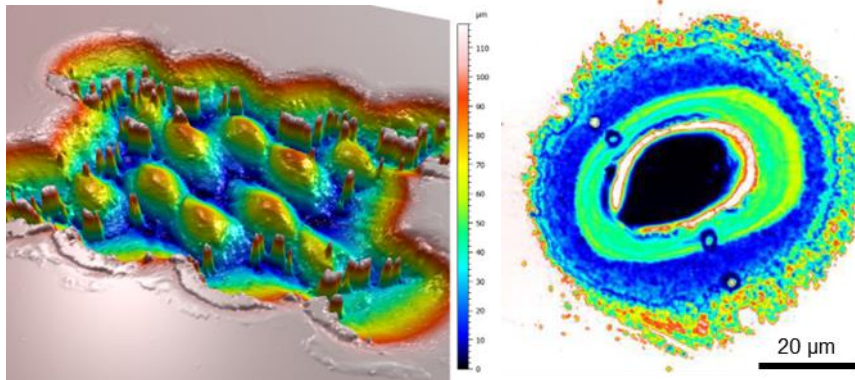


Abb. 5 Mittels Setting A gelasertes Bohrraster mit starken Verschneidungen (links) und Einzelpulsabtrag (rechts).

Durch die reduzierte Kurzpulsenergie bei Setting B war es möglich, die Verschneidungen zu vermeiden. Die unzureichende Oberflächenqualität aufgrund der Artefakte im Bohrungsgrund machte aber eine Nachbearbeitung erforderlich. Hierfür erfolgte zunächst ein Laserreinigungsschritt, um die Ablationspartikel zu entfernen. Anschließend wurden die Rauheitsspitzen mittels PulseForging eingeebnet (vgl. Abb. 6).

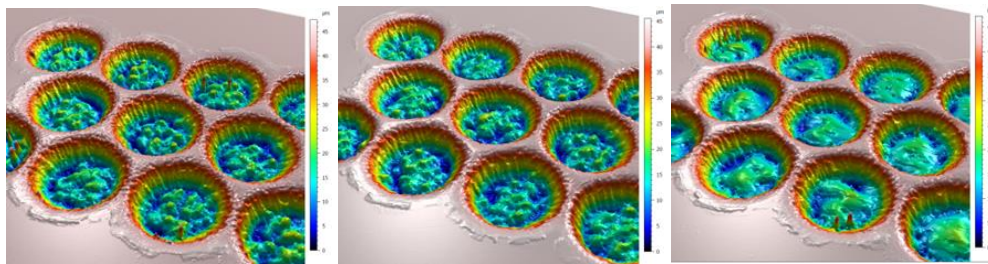


Abb. 6 Mittels Setting B gelasertes Bohrraster (links), nach der Laserreinigung (mitte) und nach dem Laserglätten (PulseForging, rechts).

Dadurch war es möglich, die Oberflächenrauheit zu reduzieren. Jedoch waren weitere Optimierungsschritte notwendig, um den Materialaufwurf zu vermeiden sowie die Kantensteilheit zu verbessern. Andernfalls ist davon auszugehen, dass keine funktionale Filterstruktur hergestellt werden kann.

Im Rahmen ein Unterauftrags wurden hierzu vergleichende Untersuchungen durchgeführt. Hierbei wurde das Perkussionsbohren mit großen und kleinen Fokusburchmesser (6 µm | 60 µm) und das Strukturieren (Scannen) mit kleinem Fokusburchmesser (6 µm) erprobt. Die Ergebnisse sind in Abb. 7 zusammengefasst.

Bei beiden Versuchsreihen hat sich gezeigt, dass mittels Perkussionsbohren deutlich geringere Durchmesser hergestellt werden können. Nachteilhaft ist hierbei die starke Konizität, die dazu führen würde, dass nach der Abformung zwar eine Filterwirkung im unteren Bereich der Struktur erzielt werden kann, jedoch aber nicht im oberen Bereich. Daher wurde das Perkussionsbohren als ungeeignet für die Herstellung der Filterstrukturen eingeordnet und der Fokus bei den nachfolgenden Experimenten auf das Strukturieren (Scannen) gelegt.

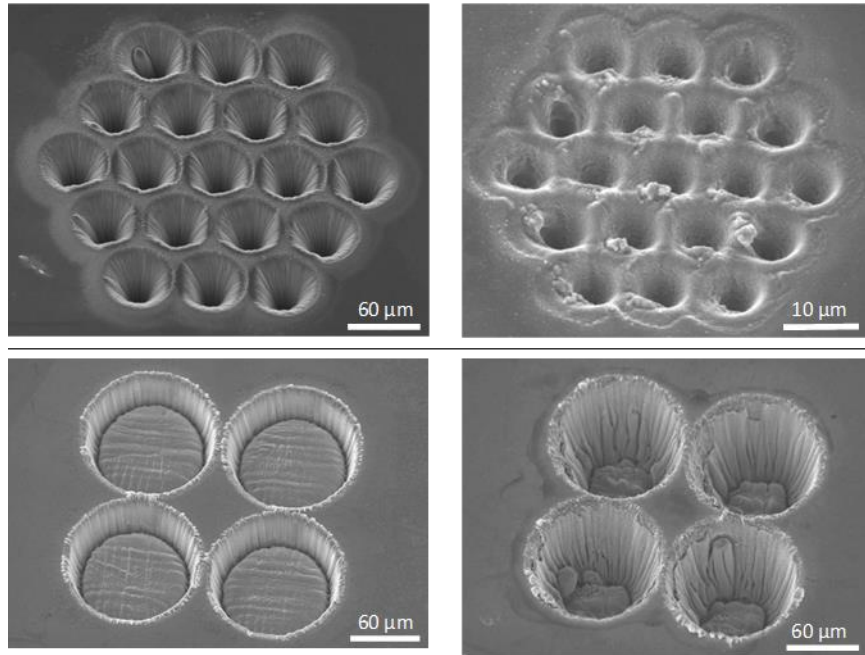


Abb. 7 Perkussionsbohren Fokus 60 µm (oben links), Perkussionsbohren Fokus 6 µm (oben rechts), Scannen (Tiefe 25 µm, unten links) und Scannen (Tiefe 80 µm, unten rechts).

Für die Verbesserung der Sacklochqualität wurde zunächst die Kurzpulsenergie und die Pulsdauer weiter reduziert ($\tau_H = 5 \text{ ps}$) sowie die Anzahl der Überfahrten variiert. Die Ergebnisse sind in Abb. 8 dargestellt. Daraus geht hervor, dass die Materialaufwürfe infolge der Parameteranpassung weitestgehend vermieden werden konnten. Allerdings, sind deutlich Partikel/wiedererstartes Material innerhalb der Bohrungen zu erkennen. Bei den kegelförmigen Strukturen, welche nicht abgetragen wurden, handelt es sich voraussichtlich um Materialimperfectionen mit höherer Schwellfluenz (vgl. Abb. 8).

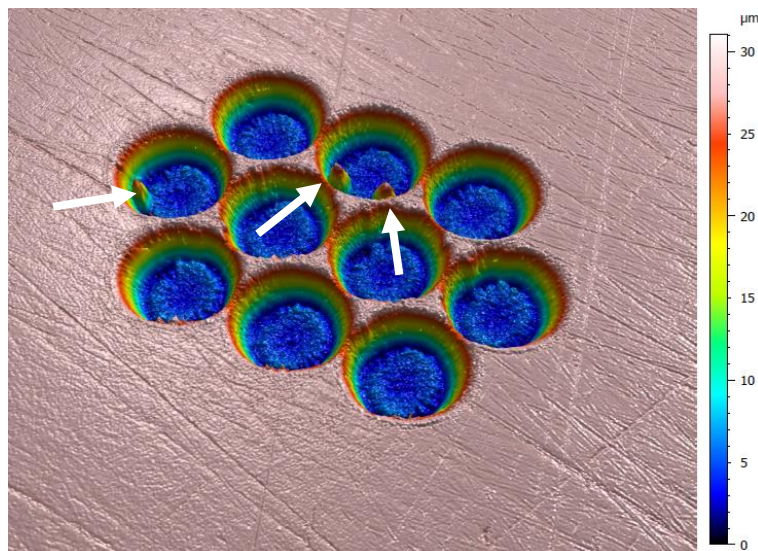


Abb. 8 Testfeld mit Mikrosacklochbohrungen ($P_{Av} = 2 \text{ W}$, $N = 100$); Pfeile zeigen auf nicht abgetragene kegelförmige Strukturen.

Mit der Zielstellung der Verringerung der Partikel bzw. Ablagerungen innerhalb der Bohrung und dem Entfernen der kegelförmigen Strukturen wurde die Pulsdauer weiter

von 5 ps auf 350 fs verringert. Zudem wurden mit 180° und 45° verschiedene Anstellwinkel der Druckluft (3 bar) auf das Bauteil erprobt (vgl. Abb. 9).

Eingehende Darstellung

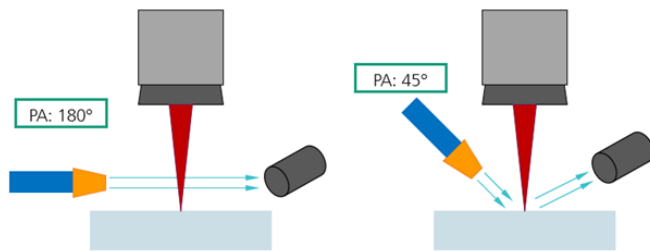


Abb. 9 Schematische Darstellung der Variation des Anstellwinkels der Druckluft mit 180° und 45°.

Durch die Verringerung der Pulsdauer auf 350 fs wurden weniger Partikel in der Bohrung abgelagert. Unter dem Mikroskop erschienen die Bohrungen sauberer im Vergleich zu denen, die mit ps-Laserpulsen erzeugt wurden. Es wurde kein Unterschied in der Partikelablagerung festgestellt, unabhängig davon, ob der Druckluft-Anstellwinkel bei 45° oder 180° lag. Bei einem Puls- und Linienabstand von 3 µm wurde ein flacherer Wandwinkel erzeugt, wie optisch in den REM-Aufnahmen zu sehen ist (siehe Abb. 10, links).

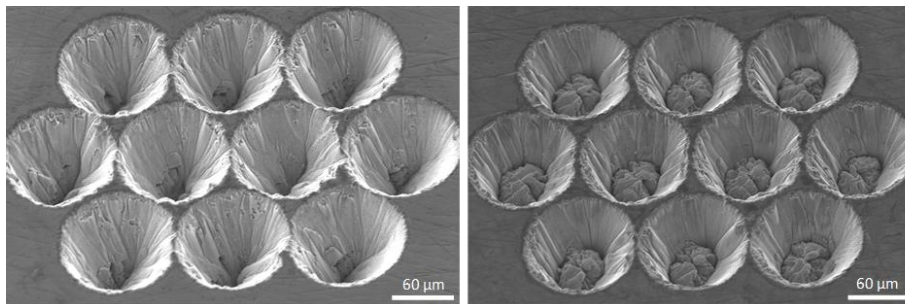


Abb. 10 Testfeld mit Mikrosacklochbohrungen mit Puls- und Linienabstand 3 µm bei 100 Überfahrten, Tiefe 72 µm (links) und mit Puls- und Linienabstand 10 µm bei 1000 Überfahrten, Tiefe 58 µm (rechts).

Dies führte zur Einschnürung der Bohrung, wobei eine maximale Tiefe von etwa 75 µm bei 150 Überfahrten erreicht wurde (eine Verdopplung der Überfahrtenanzahl führte nicht zur Erhöhung der Tiefe, siehe Tab. 2).

| PD, LD | Winkel PA | PL – 10 % | | PL – 13 % | | |
|--------|-----------|-------------------|------------|-----------|-------|--------|
| | | N 150 | N 300 | N 150 | N 300 | |
| 3 µm | 180° | Tiefe (µm) | 76,9 | 75 | / | / |
| | | Flankenwinkel (°) | 58,1 | 66,8 | / | / |
| | 45° | Tiefe (µm) | 77,5 | 69,1 | 72 | 68,8 |
| | | Flankenwinkel (°) | 65 | 65,9 | 69,7 | 65,3 |
| 10 µm | 45° | Tiefe (µm) | 8,6 | 15,5 | 10,4 | 22,9 |
| | | Flankenwinkel (°) | 34,8 | 50,2 | 41,4 | 60 |
| | | | N 500 | N 1000 | N 500 | N 1000 |
| | | | Tiefe (µm) | 27,4 | 43,3 | 38,5 |
| | | Flankenwinkel (°) | 66,5 | 67,2 | 75,7 | 67,3 |

Tab. 2 Übersicht Messwerte.

Bei einem Puls- und Linienabstand von 10 µm hingegen wurden steilere Wandwinkel erzeugt, wie optisch im REM zu sehen ist (siehe Abb. 10, rechts). Der Boden der Bohrung war sichtbar, wobei eine Tiefe von 38,5 µm bei 500 Überfahrten und 58 µm bei 1000 Überfahrten erzeugt wurde.

Die in Tab. 2 gemessenen Flankenwinkel sind mit Vorsicht zu betrachten. Hierbei ist nur ein Messwert pro Feld hinterlegt und die Ergebnisse decken sich nicht mit Abb. 10. Im Laufe der Untersuchungen hat sich gezeigt, dass das eingesetzte Konfokalmikroskop von Mahr weniger geeignet ist, um Flankenwinkel in Mikrobohrungen ($\varnothing \leq 200 \mu\text{m}$) zu messen.

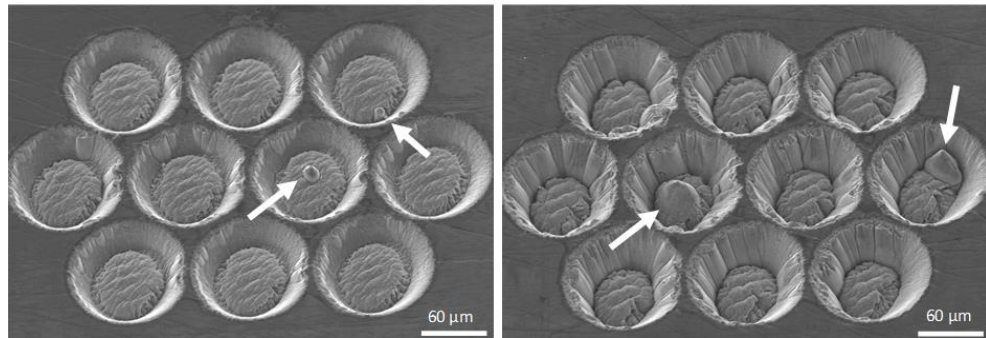


Abb. 11 Testfeld mit Mikrosacklochbohrungen mit Puls- und Linienabstand 10 µm bei 500 Überfahrten, Druckluft 45° (links) und mit bei 1000 Überfahrten, Druckluft 45° (rechts).

Abb. 11 links und rechts zeigen erneut das Auftreten der kegelförmigen Strukturen. Diese treten unabhängig von der Anzahl der Wiederholungen auf. Das „nicht Abtragen“ dieser Strukturen scheint sich nach unten (also mit zunehmenden Überfahrten) fortzusetzen. So sind diese bei weniger Überfahrten auch weniger ausgeprägt und werden mit steigender Anzahl an Wiederholungen größer.

Die Laserleistung sowie Puls- und Linienabstand haben einen signifikanten Einfluss auf die Qualität des Abtrags, einschließlich der Flankenwinkel, der Güte des Bohrungsgrundes und dem Auftreten der kegelförmigen Strukturen. Hierfür wurden weitere Untersuchungen, mit dem Ziel, die Variation der Laserleistung und des Puls- und Linienabstandes zu untersuchen, durchgeführt. Es hat sich gezeigt, dass das Auftreten der kegelförmigen Strukturen leistungsabhängig ist. Für das Erreichen einer minimalen Rauheit existiert eine optimale Fluenz, wie in Abb. 12 dargestellt wird. Im gewählten Setup liegt diese Fluenz bei 22 % der Laserleistung.

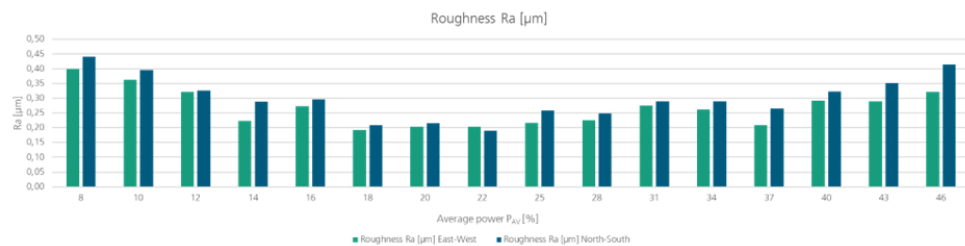


Abb. 12 Minimierung der Rauheit der Bohrungswand und des Bohrungsgrundes durch Bestimmung der optimalen Fluenz.

2.4

Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Bitte entnehmen Sie die eingehende Darstellung der wichtigsten Positionen des zahlenmäßigen Nachweises aus dem Schlussverwendungsnachweis. Dieser wird gesondert von der Zentrale der Fraunhofer-Gesellschaft gestellt.

2.5

Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Projektarbeiten

Die Darstellung der Notwendigkeit und Angemessenheit erfolgte in den Kapiteln 2.1-3 im Rahmen der erzielten Ergebnisse.

Aufgrund der Innovationshöhe des Projektes kam es hierbei zu technologischen Schwierigkeiten, die vermehrten Zeitaufwand zur Bearbeitung der Lösung erforderlich machten. Zum Ende 2023 konnte ein erstes prototypisches Testwerkzeug mit den Filterstrukturen fertiggestellt werden. Aufgrund der durchgeführten Umrüstung der Laseranlage, dem Tausch der Laserquellen und den aufgetretenen Verzögerungen infolge von Lieferengpässen sowie Defekten hat sich die Versuchsdurchführung um mehrere Monate verzögert.

Aufgrund der geschilderten Situation wurde eine kostenneutrale Verlängerung des Vorhabens unmittelbar nach Ablauf der offiziellen Projektlaufzeit (31.08.2024) um sechs Monate beantragt, sodass ein wissenschaftlich und wirtschaftlich vertretbarer Abschluss dieses Projektes erreicht werden konnte.

2.6

Nutzen/Verwertbarkeit des Ergebnisses

In PlasmaSepPOC wurden Fertigungs- und Replikationstechnologien für die passive, ausschließlich Kapillarkraft-getriebene, massenproduktionstaugliche, kostengünstige sowie in Einwegsensoren integrierbare Methoden zur Blutplasmaseparation, erfolgreich entwickelt. Durch die speziell entwickelten und umfangreich charakterisierten Mikrostrukturen wurden neue technologische Möglichkeiten der Funktionsintegration auf dem Gebiet der passiven On-Chip Probenvorbereitung erforscht. Die entwickelte Fertigungstechnologie für die passive Blutplasmaseparation bildet die Grundlage für die direkte Vermessung im Plasma bei POCT-Systemen. Dadurch kann die technisch aufwendige Bestimmung von Zusatzparametern (z. B. Hämatokrit-Wert mittels Leitfähigkeitsmessung), die dann für eine rechnerische Kompensation des ermittelten Biomarker-Messwertes herangezogen werden, vermieden werden. Die Integration einer universellen Blutplasmaseparationsmethode ermöglicht daher die Entwicklung „wirklicher“ Sample-in-Answer-out-POCT-Systeme, bei denen der Nutzer keinerlei Manipulationen der entnommenen Blutprobe vornehmen muss. Dies führt zu einer drastischen Reduktion der Fehleranfälligkeit von POCT-Systemen und erhöht gleichzeitig die Nutzerfreundlichkeit und Akzeptanz solcher POCT-Systeme. Somit ergeben sich für die hier in den Grundzügen entwickelte universelle Plasmaseparationsmethode kurz- und mittelfristig vielfältige Einsatzmöglichkeiten in diversen POCT-Systemen allgemein und im weiteren Verlauf des DIANA-Bündnisses.

Das Fraunhofer IWU erwartet, dass die bei der Vorhabensdurchführung erworbene Kompetenz die Akquisition von weiterführenden Industrieprojekten ermöglicht, aber auch die weitere Durchführung der Umsetzungsphase von DIANA wesentlich unterstützt.

Im Rahmen des in Beantragung befindlichen Folgeprojekts werden zum einen die Weiterentwicklung der Prozesstechnologie und zum anderen fertigungstechnische Aspekte bei der Konstruktion/Entwicklung des Mikrostrukturlayouts Gegenstand sein. Weiterhin erfolgt die Verwertung auf Basis von wissenschaftlichen Publikationen, Vorträgen und der Durchführung von Workshops.

2.7 Fortschritte auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Es sind dem Zuwendungsempfänger Fraunhofer IWU während des Vorhabens keine Fortschritte bei anderen Stellen bekannt geworden, die mit den vorhabensbezogenen Zielstellungen und den im Projekt behandelten Arbeitspaketen in Zusammenhang stehen.

2.8 Veröffentlichungen

Während der Projektlaufzeit wurden die Projektergebnisse als Poster, Präsentationen im Rahmen von Tagungen, Veranstaltungsreihen und Netzwerktreffen präsentiert sowie als studentische Arbeiten (Studien- und Bachelorarbeit) veröffentlicht.

1. J. Neuber
„Eignung der Mikrozerspanung für die Fertigung von Abformwerkzeugen zur Herstellung von On-Chip-Mikrofiltern für die Blutplasmaseparation“; Studienarbeit, 2023.
2. J. Neuber
„Entwicklung einer Prozesskette zur Herstellung eines Mikrofilters für die Blutplasmaseparation“; Bachelorarbeit, 2024.
3. C. Pöhlmann, L. Roussak, M. Hein, A. Menge, K. Mattern, E. Gärtner, U. Eckert, D. Gitzel
Konferenzbeitrag POCT meeting; „Integration of Capillary-Driven Microfluidic Blood Plasma Separation Techniques into Point-of-Care Testing Sensor Disposables“ (14.05.2024).
4. C. Pöhlmann, L. Roussak, M. Richter, A. Menge, K. Mattern, E. Gärtner, U. Eckert, D. Gitzel
Konferenzbeitrag 4. DIANA-Forum Leistungsdiagnostik; „On-Chip Probenvorbereitung für den Nachweis von Biomarkern in Vollblut mittels mikrofluidischer Lab-on-a-Chip POCT-Einwegensoren“ (27.08.2025).

3 Erfolgskontrollbericht

3.1

Wissenschaftlich-technisches Ergebnis des Vorhabens inkl. erreichter Nebenergebnisse und gesammelten wesentlichen Erfahrungen

Im Rahmen des Projektes PlasmaSepPOC wurden Fertigungs- und Replikationstechnologien für die Blutplasmaseparation entwickelt. Hierfür wurden spezifische Mikrostrukturen sowie -anordnungen für die passive, ausschließlich Kapillarkraft-getriebene, On-Chip Probenvorbereitung entwickelt und charakterisiert, welche beispielsweise in ihrer geometrischen Form, dem Abstand zueinander oder der Größe der Formen variieren. Im Rahmen der abgeleiteten Fertigungsstrategie werden die Oberflächen mit verschiedenen Fertigungstechniken bearbeitet, um die jeweilige strukturierte Oberfläche zu erzeugen. Die grundsätzliche Machbarkeit sowie das Potential der entwickelten Prozesstechnologie für die massenproduktionstaugliche, kostengünstige Integration in Einwegsensoren zur Blutplasmaseparation konnte erfolgreich nachgewiesen werden. Weitere Details zu den erzielten Ergebnissen können dem Schlussbericht in den Kapiteln 2.1-3 entnommen werden.

3.2

Fortschreibung des Verwertungsplans

Durch die speziell entwickelten und umfangreich charakterisierten Mikrostrukturen wurden neue technologische Möglichkeiten der Funktionsintegration auf dem Gebiet der passiven On-Chip Probenvorbereitung erforscht. Die entwickelte Fertigungstechnologie für die passive Blutplasmaseparation bildet die Grundlage für die direkte Vermessung im Plasma bei POCT-Systemen. Dadurch kann die technisch aufwendige Bestimmung von Zusatzparametern (z. B. Hämatokrit-Wert mittels Leitfähigkeitsmessung), die dann für eine rechnerische Kompensation des ermittelten Biomarker-Messwertes herangezogen werden, vermieden werden. Die Integration einer universellen Blutplasmaseparationsmethode ermöglicht daher die Entwicklung „wirklicher“ Sample-in-Answe-out-POCT-Systeme, bei denen der Nutzer keinerlei Manipulationen der entnommenen Blutprobe vornehmen muss. Dies führt zu einer drastischen Reduktion der Fehleranfälligkeit von POCT-Systemen und erhöht gleichzeitig die Nutzerfreundlichkeit und Akzeptanz solcher POCT-Systeme. Somit ergeben sich für die hier in den Grundzügen entwickelte universelle Plasmaseparationsmethode kurz- und mittelfristig vielfältige Einsatzmöglichkeiten in diversen POCT-Systemen im weiteren Verlauf des DIANA-Bündnisses. Zudem ergeben sich für das Fraunhofer IWU Synergien und Kooperationsansätze, insbesondere in Hinblick auf die Entwicklung neuartiger produktionseffizienter und zukunftsorientierter Verfahren zur Herstellung von mikrofluidischen Biosensoren/Lab-on-the-Chip (LOC) Systeme.

Das Fraunhofer IWU erwartet, dass die bei der Vorhabensdurchführung erworbene Kompetenz die Akquisition von weiterführenden Industrieprojekten ermöglicht, aber auch die Durchführung der Umsetzungsphase von DIANA wesentlich unterstützt. Hierbei werden zum einen die Weiterentwicklung der Prozesstechnologie und zum anderen fertigungstechnische Aspekte bei der Konstruktion/Entwicklung des Mikrostrukturlayouts Gegenstand sein.

Die im Berichtszeitraum durchgeführten Arbeiten und die hierbei erzielten Ergebnisse erlauben die wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit für die im Vorhaben geplanten Arbeitspunkte.

Weiterhin erfolgt die Verwertung auf Basis von wissenschaftlichen Publikationen, Vorträgen und der Durchführung von Workshops.

3.3 Arbeiten, die zu keiner Lösung geführt haben

In den einzelnen Arbeitspaketen wurden meistens mehrere Varianten zur Lösung der Problemstellung betrachtet und untersucht. Dabei gab es auch Arbeiten in Detailuntersuchungen, die zu keiner zufriedenstellenden Lösung geführt haben. Dies ist ausführlich im Schlussbericht dargestellt. Exemplarisch ist hier das Mikrobohren zu nennen. So konnten keine Wandabstände $< 5 \mu\text{m}$ erzielt werden. Bezogen auf das Gesamtvorhaben wurden aber in allen Arbeitspaketen Lösungen gefunden, die den Erfolg des Gesamtprojekts gewährleisten.

3.4 Einhaltung der Ausgaben- und Zeitplanung

Die im Antrag vorgenommene Ausgabenplanung galt bis zum Projektende ohne Änderungen.

Der Ablauf des Vorhabens erfolgte anhand des in der Vorhabensbeschreibung aufgestellten Arbeitsplans. Aufgrund der Innovationshöhe des Projektes kam es hierbei zu technologischen Schwierigkeiten, die vermehrten Zeitaufwand zur Bearbeitung der Lösung erforderlich machten. Zum Ende 2023 konnte ein erstes prototypisches Testwerkzeug mit den Filterstrukturen fertiggestellt werden. Aufgrund der durchgeführten Umrüstung der Laseranlage, dem Tausch der Laserquellen und den aufgetretenen Verzögerungen infolge von Lieferengpässen sowie Defekten hat sich die Versuchsdurchführung um mehrere Monate verzögert. Die kostenneutrale Verlängerung bis zum 28.02.2025 diente dazu, die gestellten Projektziele im vollen Maße zu erfüllen. Art und Umfang, der im Rahmen der Verlängerung durchzuführenden Tätigkeiten änderte sich nicht. Die Tätigkeiten wurden lediglich zu einem vom Arbeitsplan abweichenden Zeitpunkt durchgeführt.