

Größenbestimmung und Zählung von nano- und mikroskaligen Partikeln mittels Einzelpartikel-Spektroskopie

Prüfung von Medien zur Flüssigkeitsfiltration

Dietmar Lerche, Elia Wollik, Holger Woehlecke

Die Filtration ist ein wichtiger Prozessschritt bei der Herstellung verschiedener Produkte, z. B. innovativer Arzneimittel oder funktionalisierter Druckfarben. Die Effizienz der Filtermedien und Trennmembranen spielt eine wichtige Rolle für qualitativ hochwertige Produkte. Das Design von Filtermedien und deren Effizienz im Produktionsprozess erfordern eine eingehende quantitative Bewertung. Für die Testung relevanter Filtermedienparameter werden vielfältige Messverfahren eingesetzt. Wichtige Merkmale für Filtermedien und deren Einsatz sind Material, Art und Struktur, Porengrößenverteilung und Strömungswiderstand, sowie die zu filtrierenden Produkte, um nur einige zu nennen. Hauptanwendungsgebiete sind Abtrennung von Partikeln und Molekülen, Waschen von Partikeln und Entwässerung z.B. von Slurries. Das gewünschte Endprodukt kann entweder die geklärte Flüssigkeit oder die aus der Flüssigkeit entfernte disperse Phase sein. In jedem Fall ist die Bestimmung der Porengröße und ihrer Verteilung von großem Interesse, um das richtige Filtermedium für die Verarbeitung auszuwählen. Hersteller geben sowohl nominale als auch absolute Porengrößen der Filtermedien an. In diesem Beitrag wird ein neuentwickeltes Durchflussszytometer (LUMiSpoc®) beschrieben, das gleichzeitig Größe und Anzahl von Mikro- und Nanopartikeln mit hoher Auflösung bestimmt. Um exemplarisch die Effizienz von Filtermedien mit Nennporengrößen von 450 nm bis 100 nm zu testen. Zur Bestimmung des Cut-Offs wurden Gemische aus verschiedenen monodispersen PS-Partikeln als auch eine für die Praxis relevante Titandioxid-Suspension eingesetzt. Es zeigte sich, dass sich Filtermedien aus Cellulose und Nylon trotz der gleichen nominalen Porengröße von 450 nm sehr unterschiedlich verhalten.

1 Einleitung

Für die Entwicklung und die Optimierung von Formulierungen sowie für die Herstellung und Verarbeitung von flüssigen und halbflüssigen Produkten, insbesondere im Bereich der Nanotechnologie, sind Filtrations- und Separationsschritte unabdingbar. Partikelgröße, Größenverteilung und Partikelkonzentration müssen häufig angepasst werden, um die geforderte Funktionalität zu erfüllen. Darüber hinaus erfordern die Detektion von dispersen Kontaminationen in Flüssigkeiten und die Einstufung von dispersionsbasierten Produkten im Hinblick auf die erforderliche Klassifizierung von Nanomaterialien präzise quantitative Daten zur zahlenmäßigen Größenverteilung und Partikelkonzentration [1]. Entsprechend steigen die Anforderungen und der Einsatz von Filtermedien (z.B. [2]).

Für die Qualität und Sicherheit von Filtermedien ist neben Durchlässigkeit, Beständigkeit und Foulingneigung [3] die Bestimmung der Abscheide- und Rückhalteeffizienz für partikuläre Bestandteile (dispergierte Phase) von Suspensionen und Emulsionen oft ein kritischer Faktor. Entsprechende Tests erfordern eine effiziente und genaue Bestimmung der Partikelgrößenverteilung sowie der Partikelanzahl (Konzentration) des Filtrats. Dieses stellt insbesondere in der Nanotechnologie eine besondere Herausforderung dar,

denn je kleiner die zu untersuchenden Partikel sind, desto schwieriger wird die Partikelzählung, insbesondere bei Partikeln im Nano- und Submikrometerbereich.

In diesem Beitrag stellen wir experimentelle Ergebnisse der Testung (cut-off) von unterschiedlichen Filtermedien mit einem neu entwickelten Einzelpartikel-Streulichtphotometer (LUMiSpoc®, LUM GmbH, Berlin) vor. Die zahlenmäßige Partikelgrößenverteilung und die Partikelkonzentration im Filtrat konnten effizient mit hoher Auflösung in einem großen Dynamikbereich bestimmt werden.

2 Methodik

2.1 Einzelpartikel-Lichtstreuung (SPLS-Technologie®)

Das LUMiSpoc® ist ein innovatives Einzelpartikel-Spektrometer, ähnlich einem Durchflussszytometer [4], das gleichzeitig die Partikelgrößenverteilung und die Partikelkonzentration über einen Bereich von jeweils mehreren Größenordnungen von Nano- und Mikropartikeln in Suspensionen und Emulsionen quantifiziert [5]. Das Gerät nutzt die zum Patent angemeldete Single Particle Light-Scattering Technologie (SPLS-Technologie®), die für jedes einzelne Partikel das in Vorwärts- und Seitwärtsrichtung gestreute Licht beim Durchgang durch einen fokussierten Laserstrahl mit einem speziellen Strahlquerschnitt aufzeichnet (**Bild 1**).

In einer optischen Durchflusszelle werden einzelne Partikel durch hydrodynamische Fokussierung vereinzelt und mit hinreichendem Zwischenabstand wie eine Perlenkette aufgereiht. Dies wird durch die konzentrische Zusammenführung des mittigen Probenstroms und des Mantelstromes (Hüllstrom) erreicht. Die Mantelströmung bestimmt den Durchmesser des Probenstroms und damit das Messvolumen. Sie bildet eine Art "Flüssigkeitswand", die eine Vermischung zwischen den beiden Flüssigkeiten sowie mechanische Blockaden auch bei sehr großen Partikeln oder Aggregaten verhindert. Der Querschnitt des Probenstroms kann dynamisch (um den Faktor 35) angepasst werden, ohne jeglichen Austausch mechanischer Teile. Dies ermöglicht das Arbeiten in einem weiten Bereich der Probenkonzentration von 10^4 bis 10^9 Partikeln pro ml mit zu vernachlässigender Koinzidenz.

Wenn ein einzelnes Teilchen den Laserstrahl kreuzt, wird das Licht in alle Richtungen gestreut. Die Intensität des vorwärts und seitwärts gestreuten Lichts wird gleichzeitig mit Hilfe von zwei identischen Photomultipliern aufgezeichnet. Die hohe Messrate von bis zu 10.000 Hz ermöglicht eine sehr große statistische Zählsicherheit. Die analogen Signale (**Bild 2**) werden mit einer Abtastrate von $2,5 \times 10^6$ und einer Auflösung von 22 Bit digitalisiert. Die Streuintensität jedes Partikels hängt von den optischen Eigenschaften (Größe, Brechungsindex, Form) ab und wird nach ihrer Verstärkung und Digitalisierung in Echtzeit analysiert.

Diese für jedes Partikel ermittelten zwei Streulichtintensitäten werden sortiert und mit sehr hoher Auflösung in mehr als einer Million Bins dargestellt. Die in Vorwärts- und Seitwärtsrichtung aufgenommenen Intensitäten können auch als 2-D-Plots dargestellt werden (**Bild 3**).

Mono- und polydisperse Größenverteilungen können so leicht unterschieden werden. Die Anzahl der Partikel wird durch Farbkodierung visualisiert und die Skalierung über den Farbbalken rechts in **Bild 3** quantifiziert. Schließlich können die Intensitäten in eine Partikelgrößenverteilungsdichte unter Verwendung der Mie-Theorie [6] umgewandelt werden, die auf dem Brechungsindexkontrast zwischen dem Partikel und der Flüssigkeit und den optischen Parametern des Geräts basiert. Messung, Datenspeicherung und Analyse werden von der Softwareplattform SEPView® unterstützt. Die SPLS-Technologie® bietet tiefe Einblicke in komplexe Nano- und Submikropartikelsysteme und erleichtert die Entwicklung maßgeschneiderter Partikel und entsprechender Dispersionen [5]. Die neue Messtechnik ermöglicht eine zahlenbasierte Partikelgrößenbestimmung von 35 nm - 8 µm und die Bestimmung von Partikelgrößen zugeordneten Konzentrationen von 10^3 /ml bis 10^9 /ml. Das Sensorsystem ist in der Lage, zwischen sehr schmalen monomodalen Partikelfraktionen (< 10 nm) zu unterscheiden. Die relativen erweiterten Unsicherheiten ($k=2$) betragen 4,03 % für die Bestimmung der Partikelgröße im Bereich 35 nm - 1540 nm und 7,59 % für die Bestimmung der Partikelkonzentration im Bereich $1,7 \times 10^4$ /ml – $1,4 \times 10^8$ /ml.

Die neue Messtechnik bietet sich für zahlreiche Anwendungen an, wie beispielsweise die Partikelzählung in Suspensionen und Emulsionen, die Bestimmung der anzahlbasierten Partikelgrößenverteilung von (zertifizierten) Referenzsuspensionen, die Detektion von Agglomeraten und Messung der Agglomerationskinetik, die Bestimmung von Verteilungsschweifen (tails) oder

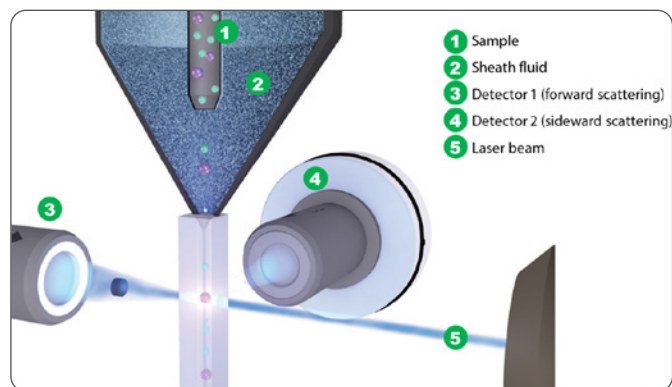


Bild 1: Wenn ein einzelnes Partikel den Fokus des Laserstrahls passiert, wird das vom Partikel gestreute Licht von Photomultipliern gleichzeitig in Vorwärts- und Seitenrichtung erfasst. Die Signale werden digitalisiert, gezählt und Intensitätsklassen (Bins) zugewiesen.

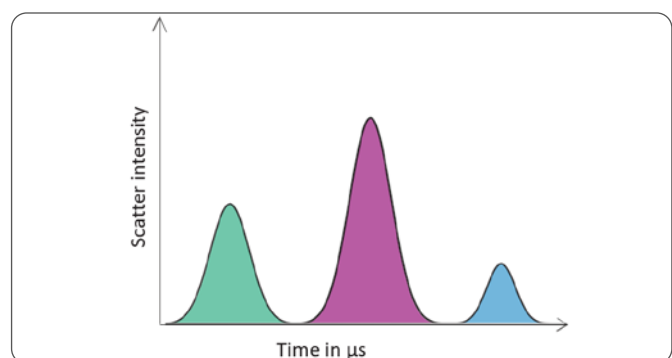


Bild 2: Aufeinanderfolgende aufgezeichnete Lichtsignale von einzelnen Partikeln unterschiedlicher Größe, die in eine Richtung gestreut wurden

die Detektion von Partikelkontaminationen in Flüssigkeiten.

2.2 Filterprüfung

Für die Filtrationsversuche kamen multimodale Polystyrolpartikel-Suspensionen, die durch Mischen von monodispersen PS-Partikel-Suspensionen (BS-Particle GmbH, Deutschland und microParticles GmbH, Deutschland) hergestellt wurden, und eine industrielle Titandioxidsuspension, wie sie von KRONOS TITAN GmbH, Deutschland) geliefert wurde, zum Einsatz. Für die Studie wurden handelsübliche Filtermedien aus drei verschiedenen Materialien mit unterschiedlichen Nennporengrößen verwendet (Cellulose 450 nm, Nylon 450 nm und PES 100 nm). Als Testfiltermedien dienten handelsübliche Spritzenfilter mit einem Filterdurchmesser von 25 mm. Die Filtration wurde als Dead-End-Filtration durchgeführt. 2 ml der Suspensionsprobe wurden mit einer Durchflussrate von etwa 2 ml/min filtriert und das Filtrat in einem Probenröhrchen aufgefangen.

3 Ergebnisse

3.1. Monodisperse Polyesterol-Testpartikel

Die ersten Experimente erfolgten mit Mischsuspensionen monodisperser Polystyrolpartikel mit nominalen Partikelgrößen von 143 nm, 293 nm, 726 nm, 1511 nm und 3066 nm. Die Primärpartikellösungen wurden gemischt und durch

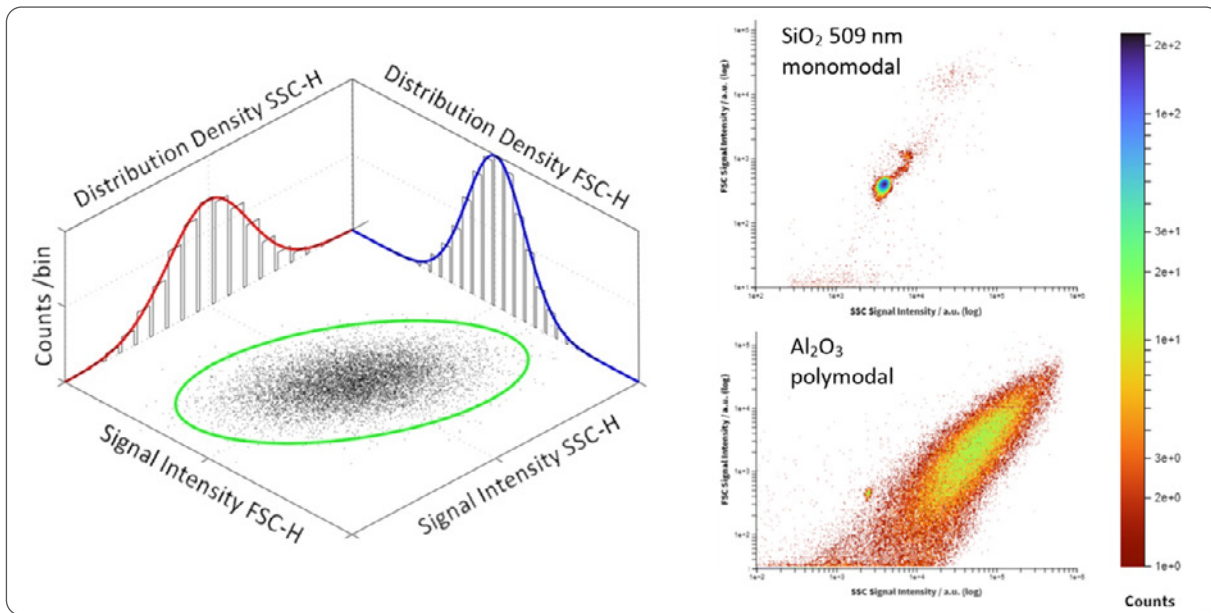


Bild 3: Konstruktion eines zweidimensionalen Plots (2D-Plot) der in Vorwärts- (FSC) und Seitwärtsrichtung (SSC) erfassten Signalintensitäten (links). 2D-Plot von realen monodispersen SiO₂- (oben rechts) und polydispersen Al₂O₃-Partikeln (unten rechts), die in Wasser dispergiert sind. Jeder Punkt steht für ein analysiertes Teilchen, und die Farben geben die entsprechende Anzahl an.

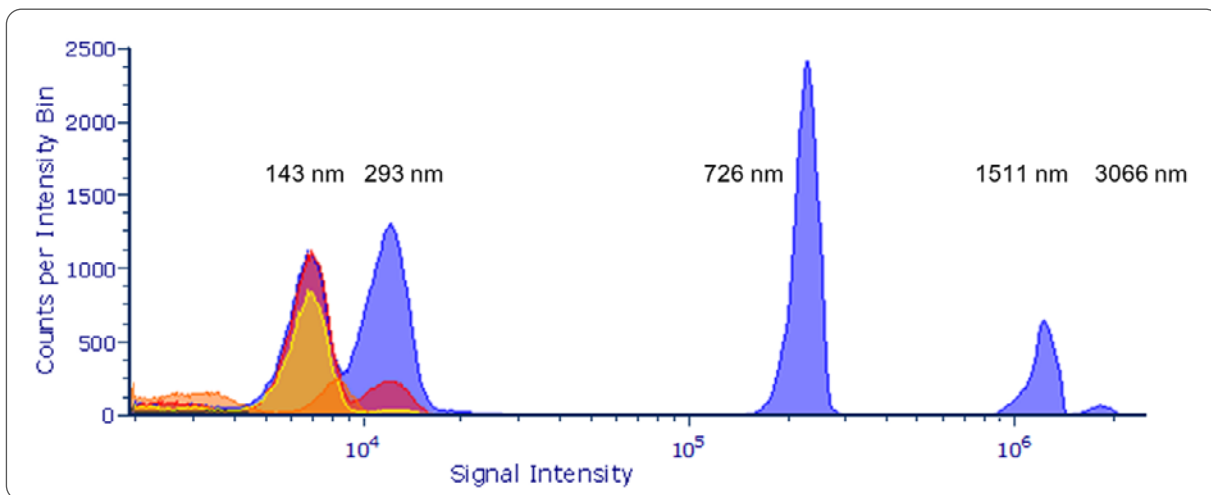


Bild 4: Histogramme der Intensitätsverteilung des Streulichts der einzelnen Partikelpopulationen aus der ursprünglichen Partikelsuspension (blau) und den verschiedenen Filtraten (rosa - Cellulose 450 nm, gelb - Nylon 450 nm, orange (kaum sichtbar) - PES 100 nm).

Filtermedien aus Cellulose 450 nm, Nylon 450 nm bzw. PES 100 nm filtrierte. Das Filtrat wurde aufgefangen und wie vorab beschrieben analysiert. **Bild 4** zeigt überlagerte Histogramme der Intensitätsverteilung des seitwärts gestreuten Streulichts einzelner Partikelpopulationen aus der unfiltrierten Partikelsuspension (feed, Ausgangsintensitätsverteilung blau) und den detektierten Partikeln in den Filtraten nach der Passage der Testsuspension. Es ist eine deutliche und selektive Verringerung der Anzahlverteilung der größeren Partikelpopulationen zu erkennen. Die monomodale 143-nm-Fraktion der Filtrate und der Ausgangssuspension haben vor und nach der Filterpassage etwa die gleiche Intensitätsverteilung. Der entsprechende 2D-Plot ist in **Bild 5 A** (links oben) dargestellt. Die Bilder 5B bis 5D zeigen die Auffindungsmengen nach Filtration. Qualitativ wird die unterschiedliche Effizienz der drei Filtermedien bereits deutlich.

Tabelle 1 fasst alle quantitativen Daten der Filtrationsversuche zusammen. Die Partikelzahlen wurden für jede Partikelgröße durch Auszählen der Ereignisse im entsprechenden Gatingbereich bestimmt (vgl. **Bild 5**) und entsprechen der Anzahl der Partikel im Messvolumen von 1 µl. Die Filtrationseffizienz E wurde für jede Partikelgrößenpopulation nach Gleichung (1) berechnet,

$$E = 1 - \frac{N_d}{N_u} \quad (1)$$

wobei N_u die Zahl der Partikel einer bestimmten Größenklasse auf der Anströmseite (Index u für „upstream“) und N_d die Partikelanzahl für diese Größenklasse im Filtrat (Index d für „downstream“) im gleichen Probenvolumen bedeuten. Der Abscheidegrad beschreibt den Prozentsatz der Partikel einer bestimmten Größenklasse, die vom Filter zurückgehalten werden [7]. In **Bild 6** ist die Filtrationseffizienz als Funktion der Par-

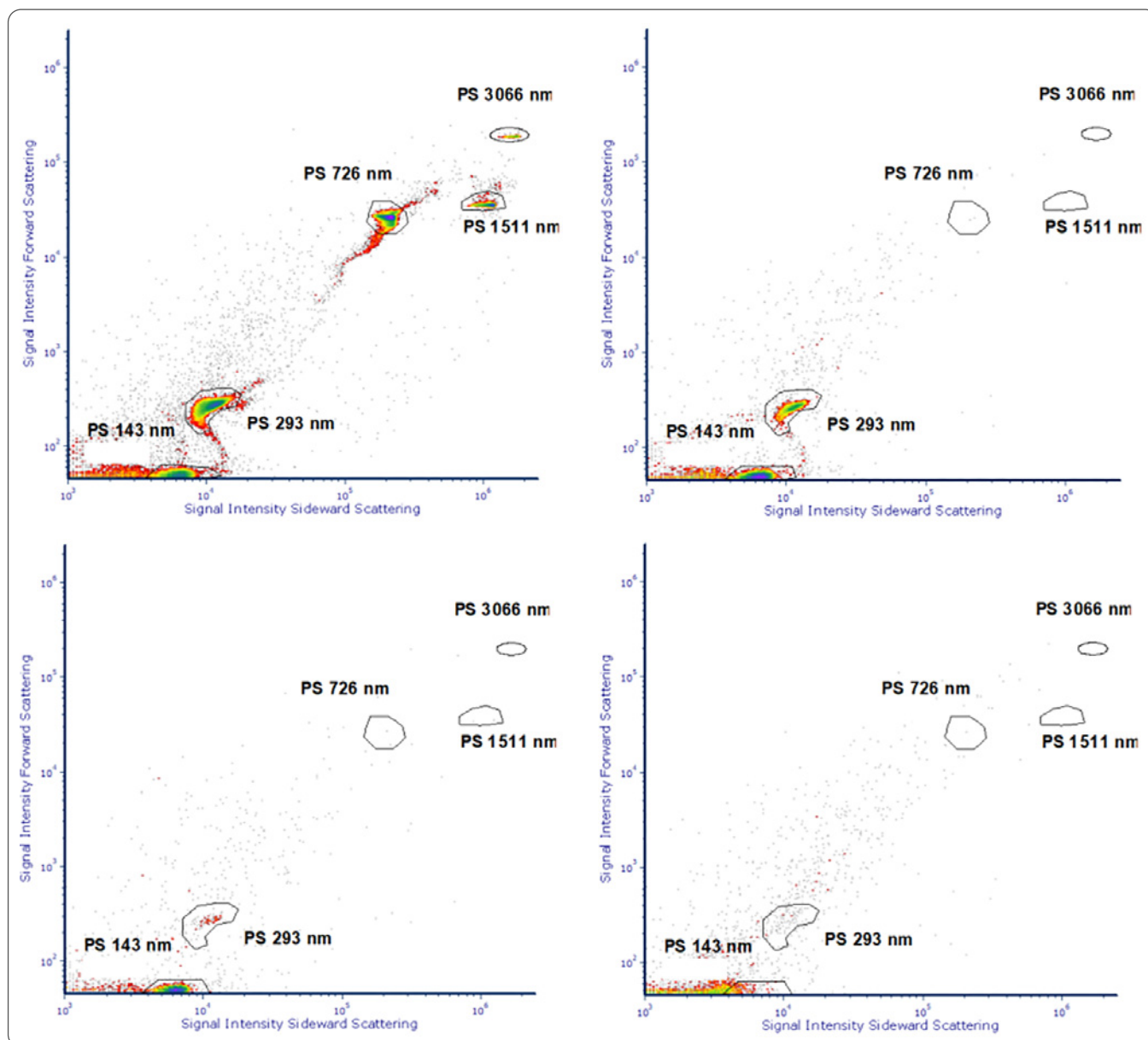


Bild 5: Nachweis verschiedener monodisperser Partikelklassen in der ursprünglichen Suspension (A) und in den Filtraten nach der Aufbereitung (B, C, D), zusammengefasst in 2D-Plots der FSC-Intensitäten und SSC-Intensitäten. Die Begrenzungs-Linien um die Hotspots zeigen an, welcher Bereich für die Zählung der ursprünglichen und der nach der Filtration verbleibenden Partikel ausgewählt wurde.

Tabelle 1: Leistung verschiedener Filtermedien in Bezug auf fünf monomodale Größenklassen von PS-Testpartikeln, bewertet anhand der Anzahl der im Filtrat nachgewiesenen Partikel. Die Partikelzahlen wurden für jede Partikelgröße durch Zählen der Ereignisse im entsprechenden Begrenzungsbereich ermittelt und entsprechen dem Messvolumen von 1 μl .

Partikelgrößenfraktion	# Partikel Anströmseite N_u	450 nm Cellulosefilter		450 nm Nylonfilter		100 nm PES-Filter	
		# Partikel im Filtrat N_d	Filtrations-effizienz %	# Partikel im Filtrat N_d	Filtrations-effizienz %	# Partikel im Filtrat N_d	Filtrations-effizienz %
PS 143 nm	25522	25065	1.79%	18991	25.59%	407	98.41%
PS 293 nm	30832	5733	81.41%	931	96.98%	108	99.65%
PS 726 nm	34100	6	99.98%	14	99.96%	1	100.00%
PS 511 nm	9476	0	100.00%	14	99.85%	0	100.00%
PS 3066 nm	1106	0	100.00%	0	100.00%	0	100.00%

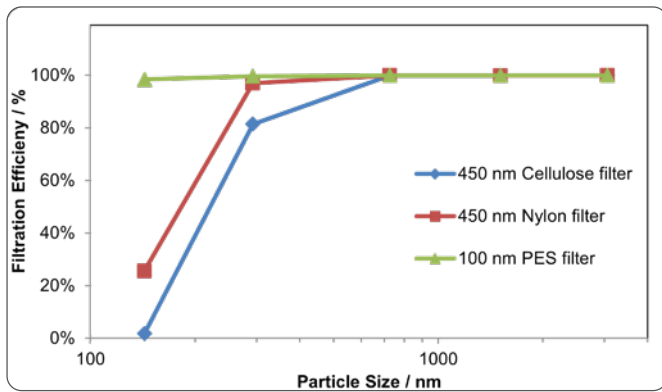


Bild 6: Filtrationseffizienz als Funktion der Partikelgröße für die unterschiedlichen Filtermedien

tikelgröße für die drei verschiedenen Filtermedien aufgetragen. Alle getesteten Filtermedien hielten die PS-Partikel von 3066 nm vollständig zurück. Das PES-Filtermaterial (nominal 100 nm) zeigt eine effiziente Entfernung aller Partikelmoden. Nur etwa 1,6 % der 143-nm-Mode passieren das Filtermedium. Interessanterweise verhalten sich Filter aus Cellulose und Nylon trotz der gleichen nominalen Porengröße deutlich unterschiedlich. Cellulose-Filtermedien haben einen präzisen Cut-off. Tatsächlich werden Partikel, die gleich oder größer als 726 nm sind, herausgefiltert. Nylon-Filtermedien scheinen eine breitere Porengrößenverteilung zu haben. Bereits 26 % der kleinsten PS-Partikel (143 nm) und 97 % der 293 nm großen Partikel passieren die Filtermedien nicht. Andererseits werden im Vergleich zu den aus Cellulose hergestellten Medien auch größere Partikel, wenn auch nur in geringer Zahl, im Filtrat nachgewiesen.

3.2 Ergebnisse für polydisperse Titandioxid-Testpartikel

In einer zweiten Messreihe wurde ein industriell eingesetztes Titandioxid dispergiert und als Testsuspension eingesetzt. Aufgrund der Angaben des Lieferanten war eine polydisperse Partikelgrößenverteilung zu erwarten. Wie die SSC- und FSC-Intensitätsverteilungen zeigen (**Bild 7**, links, Mitte), ist die Größenverteilung in dieser Dispersion tatsächlich sehr breit und umfasst etwa 1,5 – 2 Größenordnungen. Überraschenderweise wurden zwei unterschiedliche Fraktionen identifiziert. Der 2D-Plot zeigt das Merkmal noch deutlicher (**Bild 7**, rechts). Der 2D-Plot belegt

auch, dass im Vorwärtskanal die beiden Fraktionen deutlicher zu erkennen sind.

Insgesamt wurden 1.150.206 Ereignisse gezählt. Die Anzahl der Partikel jeder der beiden Fraktionen wurde getrennt gezählt, nachdem die beiden deutlich sichtbaren Fraktionen, wie in **Bild 7** (rechts) dargestellt, gegatet wurden. Die Fraktion 1 enthält 897.678 und die Fraktion 2 (Feinanteile) 143.940 Partikel. Die Summe der beiden Fraktionen ist im Vergleich zur Anzahl aller registrierten Ereignisse reduziert, da sehr kleine Objekte oder Rauschsignale aufgrund der Gatinggrenzen nicht berücksichtigt werden. Die erhaltenen Partikelzahlen entsprechen einer Messzeit von 60 s und einer Probenflussrate von 1 µl/min. Bei diesen Geräteeinstellungen beträgt die Konzentration der Grobfraktion 9×10^8 /ml und die der Feinfraktion $1,4 \times 10^8$ /ml.

Die Filtrationsexperimente wurden wie in Abschnitt 2.2 beschrieben durchgeführt. Die gleichen Fabrikate von Spritzenfiltern kamen zum Einsatz. Wie bei der monodispersen Testsuspension zeigt das PES-Filtermedium die stärkste Partikelreduktion durch Filtration. Das Filtrat war nahezu partikelfrei. Medien mit identischer nominaler 450 nm-Porengröße schnitten wiederum unterschiedlich ab. Cellulose-Filtermedien entfernten etwa 58 % aller Partikel, überwiegend der Fraktion 1. Im Gegensatz dazu wurden 91 % der Partikel durch den Nylonfilter entfernt (siehe Tabelle erste Zeile in **Bild 8**). Die Filtrationseffizienz der drei getesteten Filtermedien in Bezug auf die beiden Fraktionen verdeutlicht **Bild 9**.

4. Zusammenfassung

Filtrationsanwendungen werden durch die Entwicklung neuer Trennmembranen und Filtermedien ständig erweitert. Für das Design und die Qualitätsbewertung von Filtermedien sind effiziente und empfindliche Testverfahren notwendig.

Es wurde eine neue Messtechnik (Single Particle Light Scattering - SPLS-Technology®) vorgestellt, die auf der gleichzeitigen Erfassung von Lichtstreuung in Vorwärts- und Seitwärtsrichtung basiert. Durch hydrodynamische Fokussierung kann jedes einzelne Partikel separat analysiert, gezählt und die Partikelintensität in mehr als eine Million Bins klassifiziert werden. Die Anwendung der MIE-Theorie ermöglicht die Berechnung der anzahlbasierten Partikelgrößenverteilung für Nano- und Mikropartikel. Die Messungen werden mit hoher Frequenz

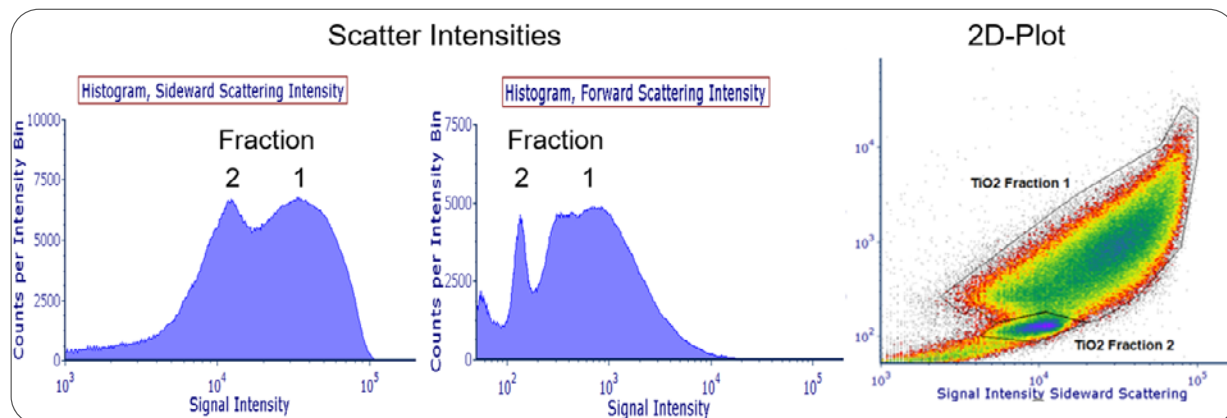


Bild 7: Seitwärts- und Vorwärtsstreuungsintensitätsverteilungen (links, Mitte) und 2D-Diagramm (rechts) des in Wasser dispergierten Titandioxids. Die Einteilung der beiden TiO₂-Fraktionen ist durch die schwarzen Polygone gekennzeichnet.

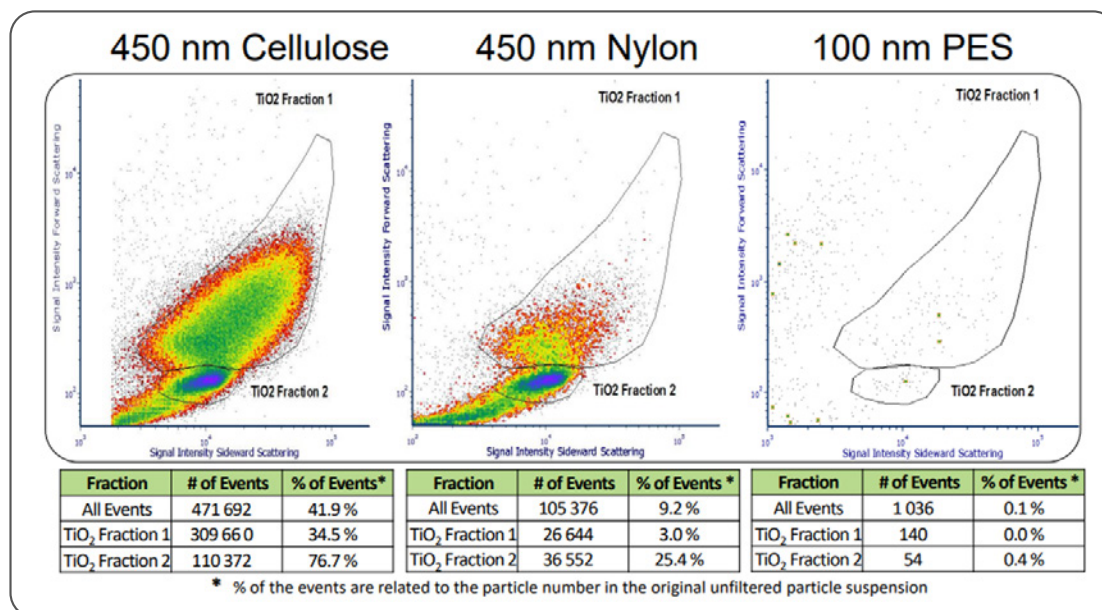


Bild 8: Verringerung der Partikelzahl durch Filtration einer polydispersen Titandioxidsuspension mit verschiedenen Filtermedien. Das Material des Filtermediums und die nominale Porengröße sind oben angegeben.

(10.000 Partikel pro Sekunde) und in kurzer Zeit (normalerweise weniger als 10 Minuten) durchgeführt. Diese Eigenschaften ermöglichen den Einsatz des LUMISpoc® für die Prüfung von Filtermedien sowohl im Designprozess dieser als auch in der Qualitätsbewertung. Die Partikelanzahl und die zahlenmäßige Größenverteilung wurden im Filtrat verschiedener Filtermedien (Cellulose, nominale Porengröße 450 nm, Nylon, 450 nm, PES 100 nm) erfolgreich analysiert. Testsuspensionen von poly-modalen monodispersen PS-Partikeln (Mischungen von Partikeln unterschiedlicher Größe von 3066 nm bis hinunter zu 143 nm) sowie industrielle TiO₂-Suspensionen wurden zur Testung der Filtermedieneffizienz basierend auf der größenabhängigen Zählung der Partikel im Filtrat eingesetzt. Generell wurde kein scharfer Cut-Off festgestellt. Filtermedien, gefertigt aus unterschiedliche Materialien mit nominal gleichen Porendurchmessern (hier 450 nm), zeichnen sich durch deutliche Unterschiede in der anzahlbewerteten Partikelgrößenverteilung im Filtrat und folgerichtig in der Filtrationseffizienz aus.

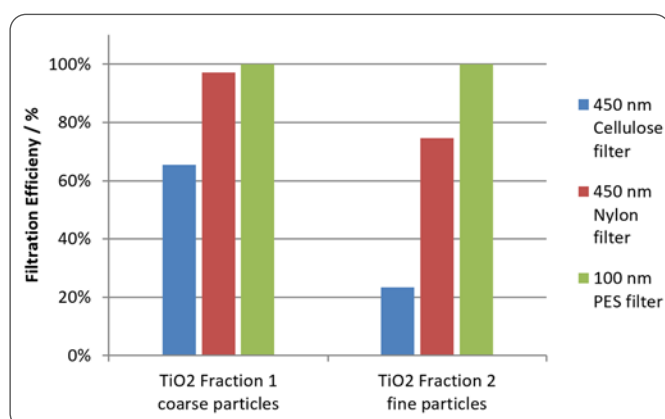


Bild 9: Filtrationseffizienzen der unterschiedlichen Filtermedien für die gröbere und die feine TiO₂-Partikelfractionen.

Danksagungen

Diese Arbeit wurde teilweise durch die Förderprogramme ZIM (ZF 4280102RE9) und MNPQ des deutschen Bundesministeriums für Wirtschaft und Energie (BMWi) unterstützt. TiO₂ wurde dankenswerterweise von der KRONOS TITAN GmbH, Deutschland, zur Verfügung gestellt.

Literatur

- [1] EUROPEAN COMMISSION RECOMMENDATION of 10.6.2022 on the definition of nanomaterial https://ec.europa.eu/environment/chemicals/nanotech/pdf/C_2022_3689_1_EN_ACTpart1_v6.pdf
- [2] <https://www.pharmaguideline.com/2007/02/filtration-objectives-applications-theories-factors-affecting-filtration.html>
- [3] S. Boldt, D. Lерche, M. Loginov: Analytical photo-centrifugal filtration (ACF): Membrane resistance and filterability F & S International Edition 20 (2020) 15 – 21
- [4] Ch. Goetz, Ch. Hammerbeck, J. Bonnevier, Flow Cytometry Basics for the Non-Expert 2018, 319-98071-3, Springer Cham
- [5] www.LUMISpoc.com
- [6] G. Mie, Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen. Annalen der Physik Folge 4, Bd. 25, S. 377–445, 1908 doi:10.1002/andp.19083300302.
- [7] D. B. Purchas, Sutherland, K. (2002). CHAPTER 11 - Testing Filter Media. In D. B. Purchas & K. Sutherland (Eds.), Handbook of Filter Media (Second Edition) (pp. 453-496). Amsterdam: Elsevier Science.

Autoren:

Prof. Dr. **Dietmar Lерche**^{1,2}
Elia Wollik², **Holger Woehlecke**^{1,2}

¹ LUM GmbH, Berlin

² Dr. Lерche KG, Berlin

Korrespondenz an info@lum-gmbh.de