

Een verfijnd systeem met een geweldige potentie

6 Nano-dispensing met electro-spraytechnieken

Bestaande methoden om zeer kleine hoeveelheden vloeistof te verspuiten, zijn niet geschikt voor het doseren van viskeuze vloeistoffen. Vooral voor onderzoek naar het gedrag van biologische moleculen zoals eiwitten is dat lastig. In een gezamenlijk IOP-project van de Technische Universiteit Delft en de Universiteit Leiden is aangetoond dat electro-spraying - onder bepaalde voorwaarden - een oplossing is voor dit probleem.

In de afdeling Biofysische Structuurchemie van de Universiteit Leiden wordt onderzoek gedaan naar eiwit-kristallisatie, om zo de structuur en de eigenschappen van biologische moleculen te achterhalen. “We liepen daarbij tegen een praktisch probleem aan”, vertelt wetenschappelijk medewerker Maxim Kuil. “Omdat we polyethyleen glycol aan eiwit toevoegen, is de te onderzoeken vloeistof dik en stroperig. Dat maakt het onmogelijk om te verspuiten met bestaande methoden voor niet-viskeuze vloeistoffen.” Die zijn gebaseerd op het onder druk persen van vloeistof door

een spuitmond en worden toegepast in bijvoorbeeld bubblejet- en inkjetprinters. Maar in het geval van een viskeuze vloeistof ontstaan zelfs bij gebruik van extreem hoge druk geen druppels. “Verwarmen van zo’n vloeistof maakt het weliswaar minder stroperig, maar voor biologische moleculen is dat geen oplossing: eiwitten zijn kwetsbaar en gaan kapot als je ze verwarmt”, legt Maxim Kuil uit.

De vraag was of er andere mogelijkheden bestaan om kleine hoeveelheden viskeuze vloeistof, in de orde van grootte van een nanoliter, nauwkeurig te verspuiten. De groep uit Leiden nam daarvoor contact op met het Aërosollaboratorium van de Technische Universiteit Delft, waar al twintig jaar onderzoek wordt gedaan naar electro-spraying. “Met electro-spraying kun je ook viskeuze vloeistoffen makkelijk vernevelen”, legt universitair hoofddocent Jan Marijnissen uit. “Je brengt dan een hoge elektrische spanning aan tussen een vloeistofoppervlak en een tegenelektrode. Wanneer de elektrostatische druk aan het oppervlak groot genoeg is, neemt de druppel de vorm aan van een kegel, uit de punt waarvan een straaltje ontstaat dat opbreekt in kleine druppels.” Toepassingen van electro-spraying zijn bijvoorbeeld het aanbrengen van dunne lagen en het toedienen van geneesmiddelen door inhalatie. In die gevallen is de hoeveelheid vloeistof relatief groot en



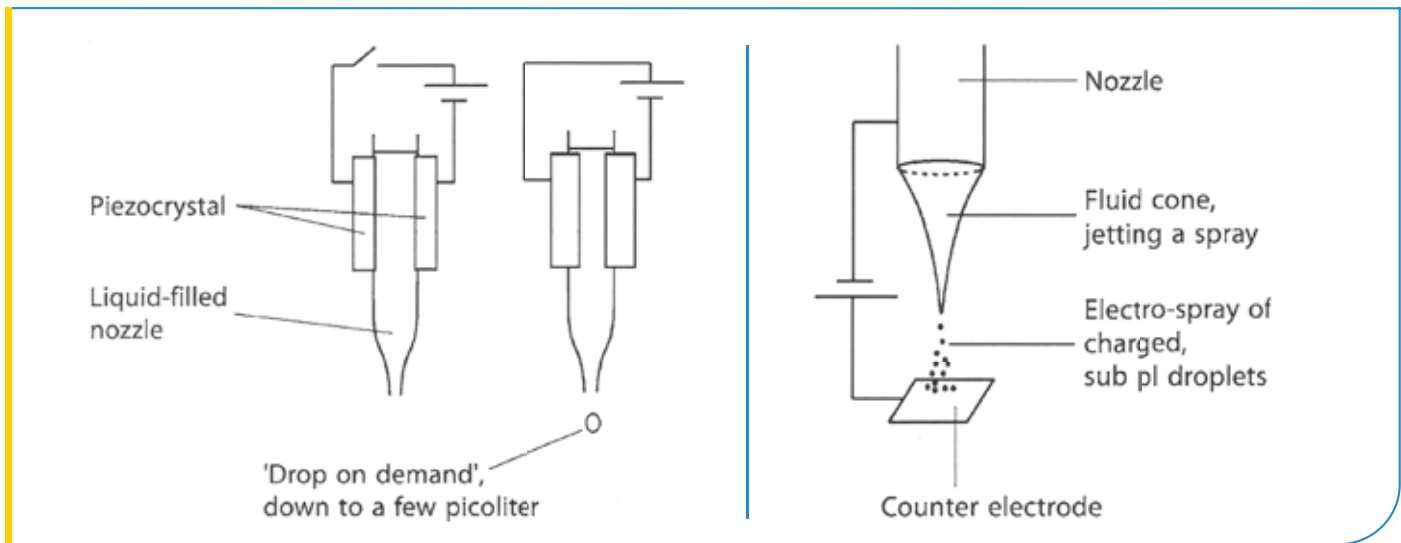
wordt deze continu verneveld. De Universiteit Leiden wil echter kleine hoeveelheden kunnen doseren waarvan het volume heel nauwkeurig ingesteld kan worden. Maxim Kuil: “Dat kun je bereiken door het elektrisch veld snel in en uit te schakelen. Daarnaast heb je een feedbackloop nodig om te weten hoeveel je verspoten hebt. Om bovendien te achterhalen wat er allemaal bij komt kijken als je dit wilt toepassen in een biologisch lab, hebben we eerst in Delft geëxperimenteerd met een speciaal daarvoor gebouwd prototype.”

“Electrosprayen is een unieke methode om beheerst kleine druppels te verspuiten”

Voor eiwitanalyses moet een grote hoeveelheid druppeltjes in een regelmatig patroon op een oppervlak worden neergelegd. Jan Marijnissen vertelt: “Het bleek inderdaad te werken: je kunt door het aanbrengen van hoogspanningspulsen deposities maken op een glasplaatje. Het lukte om de sproeinaald steeds een klein stukje te verschuiven ten opzichte van het substraat.” Toen ook was aangetoond dat door electro-sprayen de eiwitten niet beschadigd raken, is de opstelling aangepast om ingebouwd te kunnen worden in een fluorescentiemicroscop in Leiden. “We wilden weten wanneer en hoeveel vloeistof er bij een bepaald ingesteld spanningsverschil op het substraat terecht komt”, vertelt Maxim Kuil. Om het verspoten volume nauwkeurig te bepalen, wordt aan de vloeistof een minieme

Foto van een sproeiende electro-spray

De uitwendige diameter van de buis is 2 millimeter



Links dispensing op basis van druk, rechts met behulp van electrospaying

hoeveelheid fluorescerende stof toegevoegd. De mate van fluorescentie van de druppels is namelijk een maat voor het volume. Met een programmeerbare hoogspanningsgenerator is vervolgens een groot aantal proeven uitgevoerd om het systeem te kalibreren. Om de met een videocamera opgenomen beelden van de sprayende sproeinaald en de gedeponeerde druppel snel op te kunnen slaan, is speciale visualisatieprogrammatuur ontwikkeld. Maxim Kuil vervolgt: "We wilden ook 'live' kunnen toekijken op het moment dat er druppels worden gevormd. Dat is inderdaad gelukt: zittend achter de microscoop zie je de kegel en de spray ontstaan."

Wat tijdens de experimenten tegenviel, was de snelheid waarmee het elektrische veld en daarmee de kegel wordt opgebouwd. De gewenste schakelsnelheid van 10 kHz kon bij lange na niet worden bereikt. "Dat was een teleurstelling", zegt Maxim Kuil. "Maar op zich nog wel overkomelijk wanneer je meerdere sproeinaaldjes naast

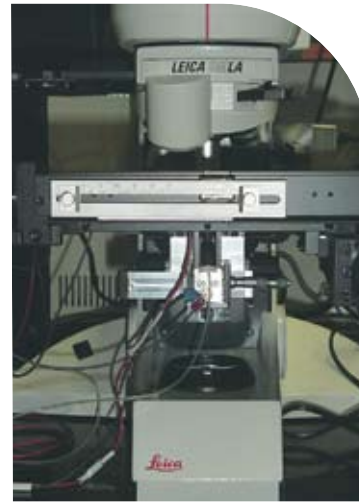
elkaar gebruikt." Een ander probleem bleek echter dat de samenstelling en daarmee de geleidbaarheid van de vloeistof de electro-spray sterk beïnvloedt. Iedere soort oplossing vereist daardoor zijn eigen spannings-schakelprotocol, en iedere kleine verandering in bijvoorbeeld de zoutsterkte maakt een nieuwe kalibratie noodzakelijk.

Dat was onacceptabel voor de toepassing in Leiden, waarbij de onderzoekers in elk van de nano-druppeltjes verschillende oplossingen in een reeks van onderlinge verhoudingen wilden kunnen mengen. "Hoewel het dus theoretisch allemaal wel kan, is het voor ons niet de beste oplossing gebleken", zegt Maxim Kuil, terugkijkend op het onderzoek. De aansturing van het systeem en de ontwikkelde visualisatieprogrammatuur bleken echter wel bijzonder waardevol voor hergebruik in andere onderzoeksprojecten van de afdeling Biofysische Structuurchemie, bijvoorbeeld op het gebied van microfluidica.

Ook in Delft wordt voortgeborduurd op de opgedane kennis. Jan Marijnissen: "Tot dit IOP-project waren we met het schakelen van de spanning niet eerder zo diepgaand bezig geweest. Eigenlijk maak je met electrosprayen geen echte druppels, maar je vernevelt kleine druppeltjes die pas op het substraat samen een druppel vormen. Voor de toepassing in Leiden was dat goed genoeg, maar wij raakten geïnteresseerd in de ontwikkeling van een echt 'drop-on-demand' systeem. Daar zijn we in 2005, in het kader van een Marie Curie project samen met de industrie, mee doorgegaan. De eerste resultaten daarvan zijn veelbelovend." Verrassend was ook dat electro spraying werkt op een substraat van - bepaalde soorten - glas. In Delft waren tot dan toe alleen proeven gedaan met geleidende substraten. Van de fluorescentiemethode om de hoeveelheid verspoten vloeistof nauwkeurig te bepalen, wordt in Delft nu veel gebruik gemaakt om het proces te kunnen karakteriseren. "Al met al heeft het IOP-project ons een heel verfijnd systeem opgeleverd met een geweldige potentie voor de toekomst", vindt Jan Marijnissen.

Hoewel het project nog niet heeft geleid tot een industrieel toepasbaar systeem, hadden twee leden van de begeleidingscommissie de ervaring toch niet willen missen. Flip Hoedemaeker is CEO van Key Drug Prototyping en wilde net als de Leidse onderzoeksgroep eiwitbevattende oplossingen met verschillende samenstellingen kunnen verspuiten. "Het is jammer dat electro sprayen voor die toepassing niet bruikbaar is. Voor situaties waarin steeds met dezelfde vloeistof wordt gewerkt, zou het bijvoorbeeld wel een oplossing kunnen zijn. Wat het IOP-project voor ons waardevol maakte, is dat we veel hebben geleerd over allerlei technieken om kleine hoeveelheden vloeistoffen te doseren en wat daarbij de bottlenecks zijn."

Leon Bezemer, manager Research & Development van lijmlieferancier Intercol, is ook enthousiast over zijn deelname aan de begeleidingscom-



Opstelling Universiteit Leiden, fluorescentiemicroscoop met ingebouwde electro spray unit

missie: "Wanneer je lijm verspuit, ontstaan er als bijproduct kleine druppels die de lijmkoppen vervuilen. Dat wil je voorkomen. De stabiele druppels die electro sprayen oplevert, zijn misschien een stap op weg naar de oplossing van dit probleem. Ik heb nu veel meer inzicht in het gedrag van viskeuze vloeistoffen en rechtstreeks contact gelegd met onderzoekers bij de universiteiten. Bovendien heb ik kennis gemaakt met een unieke methode om beheerst kleine druppels te verspuiten." Tot slot is het goed om op te merken, dat er voor het deponeren van niet-viskeuze vloeistoffen andere goede oplossingen bestaan. Maar alle oplossingen lijden onder het probleem van vervuiling van de gebruikte spuitmondjes. In het project 'Design and Realization of Microfluidic Jet Systems' ligt het accent op die vervuiling. Onder supervisie van hoogleraar Rob Munnig Schmidt van de Technische Universiteit Delft wordt een MEMS-sensor ontwikkeld, die de hoeveelheid geleverde vloeistof meet met nanoliter nauwkeurigheid. De meting is onafhankelijk van de wijze van druppelvorming (thermisch, piëzo of verneveling). Hierbij kan een gelijkspanning tussen spuitmond en substraat een complicerende factor zijn.

PROJECTINFORMATIE

Project: Nano-dispensing met electrospray technieken

Doelstelling: Een schakelende electrosprayopstelling, ingebouwd in een microscoop, met een vloeistofstroom van 0,2 tot 100 nl per seconde, schakelbaar met een frequentie van 10 kHz met een doeloppervlak van de spray in het micronbereik (1 tot 50 micrometer)

Resultaten: Een prototype met lage doorvoersnelheid is ingebouwd in een fluorescentiemicroscoop. Er zijn drie elektronische schakelmethoden ontwikkeld. Aangetoond is dat door het verschuiven van de microscopoptafel met micrometerresolutie vloeistof gedispenseerd kan worden in het nanoliterbereik. Ook is electrospraken met meerdere parallel geplaatste sproeinaaldjes gedemonstreerd.

Er is visualisatiesoftware ontwikkeld om met grote snelheid beelden op te slaan. Kennisoverdracht: 3 lezingen, 7 publicaties

Publicaties en meer informatie: www.precisieportaal.nl, disciplines: chemische technologie, precisietechnologie

Contactpersoon: Maxim Kuil, m.kuil@leidenuniv.nl, telefoon (071) 527 44 16