

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



LÊ NGỌC TÚ

NGHIÊN CỨU, THIẾT KẾ VÀ CHẾ TẠO THIẾT BỊ VI LƯU
TÍCH HỢP MÔ ĐUN KHUẤY TRỘN VÀ BẦY HẠT NANO TỪ
ỨNG DỤNG PHÂN TÍCH Y SINH

LUẬN ÁN TIẾN SĨ VẬT LÝ

Hà Nội – 5/2023

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

LÊ NGỌC TÚ

NGHIÊN CỨU, THIẾT KẾ VÀ CHẾ TẠO THIẾT BỊ VI LƯU
TÍCH HỢP MÔ ĐUN KHUẤY TRỘN VÀ BẦY HẠT NANO TỪ
ỨNG DỤNG PHÂN TÍCH Y SINH

Chuyên ngành: Vật lý chất rắn

Mã số: 9440104

LUẬN ÁN TIẾN SĨ VẬT LÝ

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

- GS. TS. Trần Đại Lâm
- TS. Cao Hồng Hà

Hà Nội – 5/2023

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi, dưới sự hướng dẫn của GS.TS. Trần Đại Lâm và TS. Cao Hồng Hà. Các số liệu, kết quả sử dụng trong luận án được trích dẫn từ các bài báo đã được sự đồng ý của các đồng tác giả. Các số liệu, kết quả này là trung thực và chưa từng được ai công bố trong bất kỳ công trình nào khác.

Tác giả luận án

Lê Ngọc Tú

LỜI CẢM ƠN

Trước hết, tôi xin bày tỏ lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc nhất của mình tới GS.TS. Trần Đại Lâm và TS. Cao Hồng Hà - những người Thầy hướng dẫn đã dành cho tôi sự động viên, giúp đỡ tận tình và những định hướng khoa học hiệu quả trong suốt quá trình thực hiện luận án.

Bản luận án này sẽ không thể hoàn thành nếu không có sự giúp đỡ của các đồng nghiệp tại cơ quan nơi tôi công tác. Tôi xin được cảm ơn sự cộng tác và giúp đỡ đầy hiệu quả của các cán bộ Viện Vật lý - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VHLKHCNVN), vì sự giúp đỡ thực hiện các phép đo và sự quan tâm động viên hết sức quý báu với tôi trong quá trình thực hiện luận án.

Tôi xin được gửi lời cảm ơn tới cán bộ Bộ môn Hoá lý Viện Kỹ thuật Hoá học, Trường Đại học Bách Khoa Hà Nội, Viện Kỹ thuật Nhiệt Đới – Viện Hàn Lâm KHCN Việt Nam, Trung tâm Nano và Năng lượng (NEC) – Trường Đại học Khoa học Tự nhiên – Đại học Quốc Gia Hà Nội vì những hợp tác nghiên cứu trong các ứng dụng y sinh, chế tạo thiết bị và đo đạc các thống số.

Tôi xin trân trọng cảm ơn sự giúp đỡ và tạo điều kiện thuận lợi của cơ sở đào tạo là Học viện Khoa học và Công nghệ trong quá trình thực hiện luận án.

Tôi xin trân trọng cảm ơn sự hỗ trợ kinh phí từ đề tài nghiên cứu Nafosted mã số 104.99-2018.357 đã hỗ trợ tôi thực hiện luận án này.

Tôi cũng xin được cảm ơn tới Ban lãnh đạo Bệnh Viện Tâm thần đã luôn tạo điều kiện thuận lợi nhất cho tôi trong quá trình thực hiện bản luận án.

Sau cùng, tôi muốn gửi tình cảm yêu thương nhất và sự biết ơn tới vợ, con, bố, mẹ, cũng như tất cả những người thân trong gia đình và bạn bè đã luôn cổ vũ, động viên để tôi vượt qua khó khăn hoàn thành tốt nội dung nghiên cứu trong bản luận án này.

Hà Nội, ngày 19 tháng 5 năm 2023

Tác giả luận án

Lê Ngọc Tú

MỤC LỤC

MỤC LỤC	v
BẢNG CÁC CHỮ VIẾT TẮT	1
DANH MỤC HÌNH VẼ	3
DANH MỤC BẢNG	9
MỞ ĐẦU	10
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN	14
1.1. Hệ vi lưu.....	14
1.2. Các ưu điểm của hệ vi lưu trong các ứng dụng phân tích hóa/sinh học	18
1.3. Các bộ phận cấu thành nên hệ microfluidics	19
1.3.1. Vi kênh (<i>micro/nano channel</i>)	20
1.3.2. Đế (<i>bottom substrate</i>)	21
1.3.3. Hoàn thiện hệ vi lưu – <i>Packing microfluidic system</i>	23
1.4. Ứng dụng hệ vi lưu trong kỹ thuật ELISA.....	24
1.4.1. Hệ vi lưu trong xét nghiệm miễn dịch sử dụng hạt nano từ.....	26
1.5. Hệ vi lưu tích hợp cảm biến điện hóa	31
1.6. Giới thiệu thuốc kháng sinh Sulfamethoxazole và phương pháp phân tích hàm lượng kháng sinh	34
1.6.1. Giới thiệu chung về kháng sinh nhóm Sulfamid	34
1.6.2. Phân loại Sulfamid	35
1.6.3. Giới thiệu về kháng sinh Sulfamethoxazole	36
1.6.4. Phương pháp phân tích hàm lượng nhóm Sulfamid	38
1.6.4.1. Phương pháp sắc ký lỏng.....	38
1.6.4.2. Phương pháp xét nghiệm miễn dịch ELISA và quang học	38
1.6.4.3. Phương pháp điện hóa.....	39
CHƯƠNG 2. THỰC NGHIỆM VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	43
2.1. Hoá chất và thiết bị.....	43
2.1.1. Hoá chất.....	43
2.1.2. Thiết bị sử dụng trong chế tạo hệ vi lưu và các mô đun chức năng.....	44
2.2. Quy trình chế tạo hệ vi lưu	45
2.2.1. Thiết kế và chế tạo dạng vi kênh bằng vật liệu PDMS.	46
2.2.1.1. Thiết kế và chế tạo mặt nạ (<i>mask</i>).	46
2.2.1.2. Chế tạo khuôn và vi kênh.....	47
2.2.2. Hoàn thiện hệ vi lưu và thử nghiệm độ kín của hệ vi lưu	50
2.2.2.1. Hoàn thiện hệ vi lưu bằng kỹ thuật ghép cơ khí	50
2.2.2.2. Thử nghiệm độ kín của hệ vi lưu.....	52

CHƯƠNG 3. THIẾT KẾ VÀ CHẾ TẠO HỆ VAN CƠ ĐIỀU KHIỂN DÒNG CHẤT LỎNG	53
3.1. Thiết kế và chế tạo hệ van cơ khí bằng vật liệu PDMS	53
3.1.1. Mô tả cấu tạo hệ thống van điều khiển.....	53
3.1.2. Chế tạo van điều khiển cơ.....	54
3.1.3. Lắp ghép và hoàn thiện hệ van.....	55
3.2. Thử nghiệm kiểm soát dòng chất lỏng trong thiết bị vi lỏng	56
CHƯƠNG 4. THIẾT KẾ VÀ CHẾ TẠO HỆ VI LƯU TÍCH HỢP MÔ ĐUN BẦY HẠT NANO TỪ	60
4.1. Mô hình tính toán, thiết kế và chế tạo mô đun bẫy hạt nano từ⁰	61
4.1.1. Tính toán từ trường trong cuộn dây	62
4.1.2. Mối quan hệ giữa lực từ và cường độ từ trường của cuộn dây.....	64
4.1.3. Mô hình tính toán từ trường của cuộn dây phẳng.....	65
4.2. Kết quả tính toán và mô phỏng từ trường tạo ra từ cuộn dây phẳng	67
4.2.1. Kết quả tính toán từ trường với kích thước của dây dẫn: $L = 10 \mu\text{m}$	68
4.2.2. Kết quả tính toán từ trường với kích thước của dây dẫn: $L = 15 \mu\text{m}$	70
4.2.3. Kết quả tính toán tiêu thụ năng lượng trong cuộn dây.....	72
4.3. Chế tạo các cuộn dây phẳng cho mô đun bẫy hạt nano từ.	73
4.3.1. Thiết kế cuộn dây phẳng.....	74
4.3.1.1. Thiết kế cấu trúc cuộn dây.....	74
4.3.1.2. Thiết kế mặt nạ.....	74
4.3.2. Chế tạo cuộn dây phẳng theo kỹ thuật chế tạo MEMs.	75
4.4. Kết quả nghiên cứu khả năng bắt giữ hạt nano từ của cuộn dây được tích hợp vào hệ vi lưu	78
4.4.1. Ảnh hưởng của cường độ dòng điện đến nhiệt độ trong hệ vi lưu	78
4.4.2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của cường độ dòng điện đến khả năng bắt giữ hạt nano từ.	82
4.4.2.1. Khảo sát sơ bộ khả năng bắt giữ hạt nano từ.....	82
4.4.2.2. Ảnh hưởng của lưu lượng dòng bơm vào vi kênh đến khả năng bắt giữ hạt nano từ.....	85
CHƯƠNG 5. TÍCH HỢP CẢM BIẾN ĐIỆN HOÁ VÀO HỆ VI LƯU ỨNG DỤNG CHO PHÂN TÍCH KHÁNG SINH.	87
5.1. Thiết kế hệ vi lưu tích hợp điện cực mạch in biến tính	87
5.1.1. Thiết kế chip vi lỏng.....	87
5.1.2. Tích hợp chip vi lưu vào hệ thống thí nghiệm phân tích	89
5.2. Chế tạo cảm biến điện hoá biến tính trên nền điện cực cacbon dạng mạch in phẳng (Screen-printed electrode – SPE)	90

5.2.1. Thiết kế hệ vật liệu cho biến tính bề mặt điện cực làm việc của hệ điện cực mạch in cacbon.....	90
5.2.2. Kết quả khảo sát điều kiện chế tạo hệ vật liệu rGO/PDA-CuNPs trên điện cực glassy cacbon (GCE).....	93
5.2.2.1. Tổng hợp rGO trên bề mặt điện cực bằng phương pháp điện hóa.....	93
5.2.2.2. Tổng hợp màng polydopamin lên điện cực GCE/rGO.....	96
5.2.2.3. Tổng hợp CuNPs trên điện cực GCE/rGO/PDA.....	99
5.2.3. Biến tính bề mặt điện cực carbon dạng mạch in SPE bằng hệ vật liệu rGO/PDA-CuNPs.....	101
5.2.3.1. Tổng hợp rGO bằng phương pháp điện hóa trên bề mặt điện cực SPE....	101
5.2.3.2. Tổng hợp PDA bằng phương pháp điện hóa trên bề mặt điện cực SPE/rGO.....	102
5.2.3.3. Tổng hợp hạt nano Cu bằng phương pháp điện hóa trên bề mặt điện cực SPE/rGO/PDA.....	103
5.2.4. Đặc trưng điện hóa của hệ vật liệu rGO/PDA-CuNPs trên bề mặt điện cực SPE.....	103
5.2.5. Đặc trưng hình thái học và cấu trúc của hệ vật liệu rGO/PDA-CuNPs trên bề mặt điện cực SPE.....	105
5.3. Ứng dụng hệ chip vi lưu tích hợp điện cực mạch in biến tính trong phân tích hàm lượng thuốc kháng sinh sulfamethoxazole.....	108
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....	111
DANH MỤC CÔNG TRÌNH CỦA TÁC GIẢ.....	113
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	114

BẢNG CÁC CHỮ VIẾT TẮT

Chữ viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
CAGR	Compound Annual Growth Rate	Tỷ lệ tăng trưởng kép hàng năm
CNC	Computer numerical control	Phương pháp cắt được điều khiển bằng phần mềm máy tính
CV	Cyclic Voltammetry	Quét thế vòng
DNA	Deoxyribonucleic acid	
EDX	Energy dispersive X-ray spectroscopy	Phổ tán sắc năng lượng tia X
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent assay	Phép phân tích xét nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết với enzym
FT-IR	Fourier-transform infrared spectroscopy	Phổ hồng ngoại
GC	Glassy Carbon	Thủy tinh cacbon
GO	Graphene oxide	Graphen oxit
HLPC	High-performance liquid chromatography	Phổ sắc ký lỏng hiệu năng cao
LoC	Lab-on-a-Chip	Phòng thí nghiệm trên một con chip
MEMS/NEMS	Micro/Nano Electronic Mechanic Systems	Hệ vi cơ điện tử
MS	Mass spectrometry	Phổ khối lượng
NMR	Nuclear magnetic resonance	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân
PABA	Para amino benzoic acid	
PDA	Polydipamin	
PDMS	Poly(dymethyl siloxane)	
PDV	Differential Pulse Voltammetry	Quét thế xung vi phân
rGO	Reduced graphene Oxide	Graphen oxit dạng khử
SEM	Scanning Electron Microscope	Kính hiển vi điện tử quét
SMX	Sulfamethoxazole	
SPE	Screen printed electrode	Điện cực cacbon dạng mạch in
Su-8	Epoxy based negative photoresist	Chất cảm quang âm họ epoxy
SWV	Square Wave Voltammetry	Quét thế song vuông

Chữ viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
UV	Ultra violet	Tia cực tím
μ TAS	Micro Total Analysis System	Tổng số vi phân tích hệ thống
Ab, Abs	Antibody, antibodies	Kháng thể
Ag, Ags	Antigen, antigens	Kháng nguyên
BSA	Bovine serum albumin	Huyết tương từ bò
PBS	Phosphate buffered saline	Đệm phot phát
PCR	Polymerase chain reaction	Phản ứng khuếch đại gen
mNP/mNPs	Magnetic nano particle/particles	Hạt nano từ
EDC	1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride	
DPV	Differential pulse voltammetry	Quét thế xung vi phân

DANH MỤC HÌNH VẼ

Hình 1.1. Lịch sử phát triển khái niệm, nghiên cứu ứng dụng của hệ vi lưu trên thế giới, Copyright by Elveflow.com (Elvesys Group)	14
Hình 1.2. Tốc độ tăng trưởng của thị trường hệ vi lưu (thiết bị, chi phí nghiên cứu và ứng dụng) phân bố theo các khu vực trên thế giới, (Nguồn Yole Développement).....	15
Hình 1.3. Một số hệ vi lưu sử dụng cho nghiên cứu và ứng dụng, Hãng Technicolor (trái) và Hãng Lab on Chip (phải).....	16
Hình 1.4. Số lượng công bố khoa học về hệ vi lưu (Microfluidics và nanofluidics) từ năm 2001 đến 2020 (source: Web of science) ⁰	16
Hình 1.5. Chíp phân tích xét nghiệm miễn dịch sử dụng hạt nano từ trong phát hiện Alzheimer's biomarker được xác định bằng phương pháp điện hóa sử dụng chấm lượng tử để đánh dấu, [10].	18
Hình 1.6. Hệ vi lưu và các thành phần cơ bản của hệ vi lưu (Nguồn: FMN Laboratory, Bauman Moscow State Technical University).....	20
Hình 1.7. Một sản phẩm của hãng Workshop of Photonics (https://wophotonics.com) với tổ hợp vi kênh phức tạp dùng cho khuấy trộn đa dòng chất lỏng có thể tích siêu nhỏ cỡ μL	20
Hình 1.8. Hệ thống vi phản ứng trong microfluidics sử dụng trong tối ưu hóa phản ứng trong hệ sinh học [14].	21
Hình 1.9. Hệ microfluidics dạng 3D sử dụng cho nuôi cấy tế bào dùng trong xác định bệnh ung thư [15].	21
Hình 1.10. (a) Hệ vi lưu đơn giản sử dụng để thủy tinh để gắn vi kênh (một sản phẩm của hãng Fluigent – fluigent.com); (b) Hệ vi lưu sử dụng để vừa để gắn vi kênh vừa chứa các bộ phận chức năng là loại cảm biến cho phân tích điện hóa [16].	22
Hình 1.11. Hình ảnh hệ vi lưu được tích hợp các hệ thống xử lý chất lỏng điều khiển bằng điện thoại thông minh dùng trong xét nghiệm miễn dịch sandwich điện hình. Kích thước của thiết bị là $6 \times 10,5 \times 16,5$ cm. Hệ vi lưu sử dụng các vi kênh bằng PDMS nhiều lớp có van điều khiển, [18].	23
Hình 1.12. Ví dụ về các kỹ thuật phân tích ELISA. Trong đó, kháng nguyên quan tâm được cố định trực tiếp lên đế nhờ hấp phụ (ELISA trực tiếp) hoặc bằng cách gắn lên một kháng thể đã được cố định lên đế (ELISA gián tiếp), (Nguồn: https://www.lifetechnologies.com)	25
Hình 1.13. Quá trình phân tích miễn dịch sử dụng hạt nano từ được thực hiện trong hệ vi lưu có tích hợp cảm biến điện hóa trong xác định apolipoprotein A1 (APOA1) đạt nồng độ giới hạn là 12,5 ng/mL, [43].	27

Hình 1.14. Các định dạng nhận biết bằng kỹ thuật ELISA sử dụng hạt nano từ trong hệ vi kênh: phát hiện trực tiếp (a), xét nghiệm dạng “sandwich” với sự khuếch đại bằng kháng thể phát hiện (b) và hạt nano từ MNP-dAb không có từ trường (c) và có từ trường tác dụng (d). Định dạng phát hiện bao gồm tiền tạo liên kết giữa MNP-dAb với β hCG, tiếp theo là nhận biết dạng “sandwich” dựa trên độ dốc từ trường được đặt vào hệ vi lưu (e) [44].	27
Hình 1.15. Ảnh chụp hệ thống vi lưu để bắt giữ và phát hiện protein trực tiếp bằng cách sử dụng hạt từ tính [45].	28
Hình 1.16. Thiết kế và kích thước của vi cuộn dây. Hình ảnh chụp trong vi kênh trong các thao tác bắt giữ và nhả hạt nano từ một cách liên tiếp [47].	30
Hình 1.17. Sơ đồ minh họa hệ thống vi điện từ/vi l trên chip; (a) vi điện từ trên chip, (b) hệ thống vi lỏng, (c) mặt trước của hệ thống.	30
Hình 1.18. Hệ phân tích điện hoá đa năng AutoLab (PGSTAT302N) của Hà Lan.	31
Hình 1.19. (A) Điện cực dạng mạch in của hãng Dropsens/Metrohm, Hà Lan. (B) Điện cực dạng mạch in dạng màng của hãng Nanochemazone (Canada). (C) Số lượng công bố với từ khoá điện cực mạch in (SPE) từ dữ liệu Web of Science trong giai đoạn 2000-2022, theo thống kê của Silva R. M. và cộng sự [56].	32
Hình 1.20. Hệ microfluidic đơn giản tích hợp điện cực mạch in SPE trong phân tích prostate-specific antigen (PSA), [57].	33
Hình 1.21. (A – B). Thiết kế hệ vi lưu tích hợp điện cực SPE tự chế tạo. Hình ảnh thiết bị DEP vi lưu [58].	33
Hình 1.22. (a) Một sơ đồ đại diện của một cảm biến sinh học với quá trình truyền điện hóa, [59]. (b) Sơ đồ minh họa phản ứng trên cảm biến sinh học [60].	34
Hình 1.23. Công thức cấu tạo của Sulfamethoxazole.	36
Hình 1.24. Các lớp thiết bị LTCC (ở bên trái; các đường chấm chấm biểu thị tiếp điểm điện với thiết lập bên ngoài và các đường liền nét thể hiện các kết nối thủy lực; trong đó (a) đầu vào dung dịch đệm; (b) dung dịch chất mang; (c) đầu vào KCl; (d) đầu ra; (e) và (f) khoang lắng đọng màng; (g, h) và (i) kết nối điện với thiết lập bên ngoài. Ảnh chụp thiết bị tương ứng (trên, bên phải) và Cơ chế nhận biết SMX với ligand (dưới, bên phải).	42
Hình 2.1. Các bước chế tạo hệ vi lưu	45
Hình 2.2. (a) Thiết kế mặt nạ (mask) cho vi kênh bằng phần mềm Inkscape và được in trên vật liệu polycarbonate. (b – c) Vi kênh chứa mô đun khuấy trộn và vị trí bắt hạt nano từ.	46
Hình 2.3. Một loại thiết kế các mô đun chức năng của hệ vi kênh.	46

Hình 2.4. Quy trình chế tạo khuôn SU-8 cho vi kênh theo kỹ thuật in ảnh (replica molding) thực hiện tại Trung tâm Nano và Năng lượng, NEC – HUS (VNU).	47
Hình 2.5. Quy trình chế tạo vi kênh bằng phương pháp đúc nguyên khối bằng vật liệu PDMS (PDMS rapid prototyping)	49
Hình 2.6. Khuôn bằng vật liệu SU-8 và Vi kênh bằng PDMS sau khi chế tạo	49
Hình 2.7. (a) Quy trình lắp ghép vi kênh với đế bằng kết cấu cơ khí; (b) Hình ảnh hệ vi lưu hoàn thiện	50
Hình 2.8. Mô tả vi kênh PDMS được đóng kín bằng lớp PDMS	51
Hình 2.9. Mô tả vi kênh PDMS không đóng kín bằng lớp PDMS	51
Hình 2.10. Thí nghiệm kiểm tra độ kín của hệ vi lưu được lắp ghép theo kỹ thuật ghép cơ khí sử dụng hai tấm kẹp bằng Plexiglas® (a). Sơ đồ thí nghiệm; (b). Hệ vi lưu với đầu ra và đầu vào trong thử nghiệm này.	52
Hình 3.1. Thiết kế hệ thống van để điều khiển nhiều dòng chất lỏng vào hệ thống vi lưu: (a) - (b) Các mặt cắt của van (tại một van điều khiển); (c) - (d) Thiết kế chi tiết cơ cấu điều khiển đa dòng chất lỏng.	53
Hình 3.2. Chế tạo khuôn SU-8 cho các kênh của van. (a) Chuẩn bị lớp chất cảm quang âm SU-8 trên đế Si 4 inch; (b) Chiếu UV và sử dụng mặt nạ tạo kênh; (c) khuôn chính SU-8 thu được sau bước cuối cùng.	54
Hình 3.3. Chế tạo các bộ phận bằng PDMS nhờ kỹ thuật đúc nguyên khối. (a) Đổ PDMS mới lên khuôn SU-8; (b) Tách kênh PDMS khỏi khuôn SU-8 sau khi đóng rắn; (c) Tạo đầu vào và đầu ra của kênh bằng bộ công cụ tạo lỗ; (d) Đóng kín kênh PDMS lên màng PDMS; (e) Bộ phận bằng PDMS của van sau khi chế tạo.	55
Hình 3.4. Mô tả thiết kế tấm kẹp bằng Plexiglas và cách lắp ráp hệ thống van. (a) - (b): Tấm kẹp trên và dưới của van; (c) Việc lắp ráp các kênh van PDMS với các kẹp Plexiglas®. (d) Van PDMS hoàn thiện.	56
Hình 3.5. Thiết kế thí nghiệm kiểm tra khả năng khuấy trộn và điều khiển dòng chất lỏng của hệ van điều khiển.	56
Hình 3.6. Kết quả kiểm tra quá trình trộn ba dòng chất lỏng. (a), (b) mô đun khuấy trộn, (c) Khu vực chứa chất lỏng.	58
Hình 3.7. Mô tả cấu tạo một vi kênh của van khi làm việc	59
Hình 4.1. (a). Cường độ từ trường H tại điểm P do phần tử mang dòng Idl gây ra. (b). Cường độ từ trường tổng hợp H tại điểm P do N phần tử I mang dòng điện song song.	62
Hình 4.2. Cường độ từ trường H tại điểm P tạo bởi dây dẫn thẳng (a), và bởi một cuộn dây vuông (b). Trong đó: I : cường độ dòng điện; h : khoảng cách từ dây dẫn đến điểm P ; r : khoảng cách từ dây đến điểm P ; l : độ dài cạnh của các vòng dây hình vuông.	63

Hình 4.3. (a). Mô hình mô đun bẫy từ sử dụng cuộn dây phẳng; (b). Vị trí sẽ tính toán từ trường theo khoảng cách đến bề mặt của cuộn dây.....	65
Hình 4.4. Mô hình mô phỏng: (a). Mô hình cuộn dây; (b). Tính toán từ tính tại các vị trí sẽ được hiển thị trong kết quả mô phỏng: L = chiều rộng của dây Cu; s = khoảng trống giữa hai dây Cu; h = chiều cao của dây Cu; R_c : bán kính trong của cuộn dây; R_{ex} : bán kính ngoài của cuộn dây.....	66
Hình 4.5. Mô hình thiết kế cuộn dây phẳng cho mục đích bẫy từ hai vị trí (a) và toàn bộ bề mặt của cuộn dây.....	67
Hình 4.6. (a). Mật độ từ thông tạo ra trên bề mặt cuộn dây; (b) Từ trường tính tại các đường a, b, c, d tương ứng với các thông số ($L = 10 \mu\text{m}$; $I = 1 \text{ A}$; $R_{ex} = 5 \text{ mm}$; $h = 15 \mu\text{m}$, $s = 10 \mu\text{m}$; $N = 50; 75; 100; 120; 150$ vòng).	69
Hình 4.7. Mô tả lớp bảo vệ cuộn dây phẳng khi hoàn thiện hệ vi lưu.....	70
Hình 4.8. (a). Mật độ từ thông tạo ra trên bề mặt cuộn dây; (b) Từ trường tính tại các đường a, b, c, d tương ứng với các thông số ($L = 15 \mu\text{m}$; $I = 1 \text{ A}$; $R_{ex} = 5 \text{ mm}$; $h = 15 \mu\text{m}$, $s = 10 \mu\text{m}$; $N = 50; 75; 100; 120; 150$ vòng).	71
Hình 4.9. Mô tả kết nối cuộn dây phẳng với nguồn bên ngoài.....	72
Hình 4.10. Bố trí các cuộn dây trên mặt nạ để thuận tiện cho quá trình chế tạo.	74
Hình 4.11. (a) Thiết kế mặt nạ dung cho chế tạo các cuộn dây. (b) Bố trí các cuộn dây với số vòng khác nhau trên mặt nạ; (1) Các vị trí định vị khác.	75
Hình 4.12. Quy trình rửa và tạo lớp SiO_2 trên đến Si.....	75
Hình 4.13. Quy trình chế tạo cuộn dây phẳng bằng phương pháp quang khắc.(1). Tạo lớp đế Ti/Cu (seed layers) trên nền tấm Si. (2). Tạo khuôn (mould) cho cuộn dây. (3). Rửa hiện hình của khuôn (development).....	76
Hình 4.14. Các cuộn dây phẳng đã hoàn thiện và ghép nối với đế.....	78
Hình 4.15. Xác định kích thước hình học của dây dẫn Cu của cuộn dây bằng phương pháp đo Stylus Profilometry.	78
Hình 4.16. Mô tả việc đặt cảm biến nhiệt độ trên đỉnh của vi kênh	79
Hình 4.17. Sơ đồ thí nghiệm khảo sát sự biến đổi nhiệt độ của cuộn dây phẳng khi áp dòng điện một chiều (DC) vào hệ.	79
Hình 4.18. Ảnh hưởng của cường độ dòng điện đặt vào cuộn dây đến nhiệt độ trong vi kênh khi hệ vi lưu làm việc.	81
Hình 4.19. Cấu trúc lõi vỏ (Core – Shell) của hạt nano từ Dynabeads® MyOne™ Carboxylic Acid	82
Hình 4.20. Sơ đồ thí nghiệm bắt thử nghiệm giữ hạt nano từ	84
Hình 4.21. Bắt giữ các hạt nano từ trong vi kênh $250 \mu\text{m}$ của chip vi lưu với dòng điện đặt vào các cuộn dây phẳng (I): (a) $I = 0 \text{ mA}$; (b) $I = 100 \text{ mA}$; (c) $I = 300 \text{ mA}$, (d) $I = 0 \text{ mA}$. (e) Hệ vi lưu, với vi kênh rộng $250 \mu\text{m}$, cao $50 \mu\text{m}$ và dài $4,5 \text{ cm}$. Lưu lượng bơm vào vi kênh: $2 \mu\text{L/phút}$	84

Hình 4.22. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của lưu lượng dòng chất lỏng đến khả năng bắt giữ hạt nano từ trong vào hệ vi lưu. Điều kiện khảo sát: vi kênh rộng 250 μm , cao 50 μm và dài 4,5 cm.	86
Hình 5.1. Thiết Mask cho chip vi lỏng có kết cấu gồm khu vực có chức năng khuấy trộn, vị trí tích hợp cảm biến điện hoá.	88
Hình 5.2. Hệ vi kênh bằng vật liệu PDMS sử dụng cho việc tích hợp cảm biến điện hoá. (a) Vi kênh chứa thêm modul khuấy trộn. (b). Vi kênh chỉ chứa modul tích hợp điện cực.	88
Hình 5.3. Mô tả ghép cảm biến điện hoá vào hệ vi lưu	89
Hình 5.4. Hệ máy đo điện hoá đa năng cầm tay Palmsens3 TM	89
Hình 5.5. Chip vi lưu tích hợp điện cực SPE và hệ thống đo điện hoá đa năng.....	90
Hình 5.6. Cấu trúc điện cực cacbon DropSens của hãng Metrohm.....	90
Hình 5.7. Sơ đồ các bước tiến hành biến tính bề mặt điện cực SPE bằng hệ vật liệu rGO/PDA-CuNPs.....	92
Hình 5.8. Sơ đồ thí nghiệm sử dụng hệ đo điện hoá đa năng AutoLab (của hãng Metrohm).	93
Hình 5.9. Phổ CV quá trình khử GO của điện cực GCE/GO trong dung dịch đệm PB 0,2M, tốc độ quét 50mV/s, 5 vòng.....	94
Hình 5.10. Mô tả quá trình khử GO thành rGO bằng phương pháp điện hoá. Các nhóm chức ở các vị trí khác nhau trong cấu trúc của GO (tại vị trí a, b, c) bị khử theo cơ chế và điện thế khác nhau [87].....	94
Hình 5.11. Tín hiệu SWV của các điện cực: (a) GCE/rGO, (b) GCE/GO, và (c) GCE khi với SMX 40 μM , (d) điện cực GCE/rGO trong đệm PB 0,2M.	95
Hình 5.12. Tín hiệu CV quá trình trùng hợp màng PDA trên điện cực GCE/rGO với 9 vòng quét, tốc độ quét 50 mV/s, nồng độ DA 10 mM trong đệm PB 0,2 M.	97
Hình 5.13. Tổng hợp polydopamine xảy ra thông qua hai con đường: A) con đường liên kết cộng hóa trị hình thành trong quá trình trùng hợp oxy hóa và B) con đường được đề xuất theo quá trình tự ghép nối vật lý của dopamine (PA) và 5,6-dihydroxyindole (DHI) [89].....	97
Hình 5.14. Tín hiệu SWV của điện cực GCE/rGO/PDA với SMX 40 μM +PB và đệm PB có số vòng tổng hợp màng PDA là 3,6,9 vòng; khoảng quét thế từ -0,4 V đến 1,2 V; tốc độ quét thế 50 mV/s.....	98
Hình 5.15. Đường tín hiệu CV của quá trình tổng hợp CuNPs lên điện cực GCE/rGO/PDA trong dung dịch CuSO ₄ 3mM + H ₃ BO ₃ 0,1M ở khoảng thế -1.2 V đến + 1,0 V; 5 vòng quét, tốc độ quét 30 mV/s.	99
Hình 5.16. Tín hiệu dòng điện theo phương pháp xung sóng vuông (SWV) của điện cực (a) GCE/rGO/PDA-CuNPs, (b) GCE/CuNPs và (c) điện cực trần GCE	

	với SMX 40 μ M, (d) đệm PB 0,2 M; Khoảng quét thế từ -0,4 V đến 1,2 V; tốc độ quét thế 50 mV/s; số vòng quét = 3 vòng.	100
Hình 5.17.	Phổ CV quá trình khử GO của điện cực SPE/GO trong dung dịch đệm PB 0,2M, Na ₂ SO ₄ 0,1 M. Tốc độ quét 50mV/s, 10 vòng.	101
Hình 5.18.	Tín hiệu CV quá trình trùng hợp màng PDA trên điện cực SPE/rGO với 8 vòng quét, tốc độ quét 50 mV/s, nồng độ DA 10 mM trong dung dịch đệm PB 0,2 M (pH = 6), Na ₂ SO ₄ 0,1 M.	102
Hình 5.19.	Đường tín hiệu CV của quá trình tổng hợp CuNPs lên điện cực SPE/rGO/PDA trong dung dịch CuSO ₄ 3mM + H ₂ SO ₄ 0,1M ở khoảng thế -1.2 V đến + 1,0 V; 5 vòng quét, tốc độ quét 30 mV/s.	103
Hình 5.20.	(A) Đường phân cực CV của điện cực GCE/rGO/PDA-CuNPs trong dung dịch K ₃ Fe(CN) ₆ / K ₄ Fe(CN) ₆ 5 mM pha trong KNO ₃ 1M tại các tốc độ quét thế (10-120mV/s). (B) Đường hồi quy sự phụ thuộc cường độ peak anot I _{pa} và peak catot vào tốc độ quét thế v ^{1/2}	104
Hình 5.21.	Phổ tán sắc năng lượng tia X (EDX) của hệ điện cực SPE/rGO/PDA-CuNPs.	105
Hình 5.22.	Ảnh SEM của bề mặt các điện cực (A) SPE/rGO/PDA-CuNPs; (B) SPE/rGO/PDA; (C)SPE/rGO; và (D) SPE.....	106
Hình 5.23.	Phổ hồng ngoại FTIR của các hệ vật liệu rGO/PDA/CuNPs, rGO/CuNPs, rGO/PDA và GO	107
Hình 5.24.	Góc tiếp xúc θ (góc thấm ướt) của các bề mặt điện cực (a)SPE trần, (b) SPE/rGO, (c) SPE/rGO/PDA, (d) SPE/rGO/PDA-CuNPs.	107
Hình 5.25.	Thiết lập đường chuẩn cường độ dòng điện – nồng độ SMX (I – C) by phương pháp xung sóng vuông (SWV) của điện cực SPE/rGO/PDA-CuNPs với nồng độ thay đổi từ 1 đến 1000 μ M trong đệm PB 0,2 M; Khoảng quét thế từ 0,2 đến 1 V; tốc độ quét thế 50 mV/s.	108
Hình 5.26.	Tín hiệu dòng điện theo phương pháp xung sóng vuông (SWV) của điện cực SPE/rGO/PDA-CuNPs xác định thử nghiệm SMX với hai nồng độ 20 và 40 μ M pha từ mẫu thuốc T.T.S Năm Thái trong đệm PB 0,2 M; Khoảng quét thế từ 0,2 đến 1,5 V; tốc độ quét thế 50 mV/s.	109

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Một số ưu điểm đáng chú ý của hệ vi lưu trong các ứng dụng, [12].....	19
Bảng 1.2. Công thức cấu tạo của một số sulfamid phổ biến.....	35
Bảng 3.1. Các chế độ vận hành van trong thử nghiệm trộn ba dòng chất lỏng khác nhau.....	57
Bảng 3.2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của số vòng quay của vít đến thể tích chất lỏng ở đầu ra của vi lỏng, (Ốc vít được sử dụng là loại có bước ren là 0,5 mm)	59
Bảng 4.1. Các thông số đầu vào để tính toán mô phỏng từ trường của cuộn dây	66
Bảng 4.2. Bảng tính công suất tiêu thụ trong cuộn dây: $\rho_{Cu} = 1,68.10^{-8}$ ($\Omega.m$); $L = 10$ và $15 \mu m$; $I = 0,05$ và 1 A tương ứng với $J = 6,67.10^9$ và $5,00.10^8$ A/m ² .	73
Bảng 4.3. Cường độ dòng điện lớn nhất khi đặt vào các cuộn dây khác nhau để ổn định nhiệt độ làm việc tối đa là 37°C trong vi kênh.....	82
Bảng 4.4. Các đặc trưng cơ bản của hạt nano từ Dynabeads® MyOne™ Carboxylic Acid (Catalog number: 65012 (10 mL) của hãng ThermoFisher Scientific).	83
Bảng 4.5. Thông số thí nghiệm cho thử nghiệm ảnh hưởng của lưu lượng dòng chất lỏng bơm vào vi kênh đến khả năng bắt giữ hạt nano từ.	85
Bảng 5.1. Quy trình biến tính điện cực làm việc của điện cực SPE bằng hệ vật liệu rGO/PDA-CuNPs.....	91
Bảng 5.2. Diện tích bề mặt điện hoạt của các điện cực trên nền điện cực SPE.....	105
Bảng 5.3. Kết quả đo EDX của các hệ điện cực SPE/rGO; SPE/rGO/PDA và SPE/rGO/PDA-CuNPs.....	105

MỞ ĐẦU

Trong xu hướng nghiên cứu hiện nay, các nhà khoa học đang nhận thấy các hệ vi lưu (microfluidics) đã và đang được coi là yếu tố thay đổi quan trọng trong nghiên cứu và khoa học đời sống, sự thay đổi này hướng tới các thiết bị nhỏ gọn, sử dụng lượng rất nhỏ mẫu trong phân tích và thời gian cho kết quả ngắn hơn. Thời gian qua, đã có rất nhiều công trình nghiên cứu trong vài thập kỷ qua (từ những năm 1990), nhưng các nghiên cứu đó vẫn đang trong giai đoạn hoàn thiện, phát triển các ý tưởng và bước đầu triển khai các hệ thống thử nghiệm trên các loại quy mô khác nhau. Cũng nhờ đó, các kết quả nghiên cứu đạt được là dấu hiệu cho sự tiến bộ khoa học vượt bậc trong lĩnh vực hệ vi lưu và hệ vi lưu tích hợp. Hiện nay, thuật ngữ microfluidics được sử dụng để mô tả các hệ thống thiết bị/phần tử có chiều rộng/chiều cao trong khoảng từ 100 nm đến 1000 μm , với chiều dài tùy theo mục đích sử dụng (có thể đến vài chục cm). Cho đến nay, các hệ vi lưu và vi lưu tích hợp đã có rất nhiều kết quả nghiên cứu chứng tỏ khả năng hoạt động tốt và có độ ổn định cao. Các hệ thiết bị này cho phép thực hiện chức năng mới và nghiên cứu các hiện tượng khó có thể thực hiện trong các thiết bị quy mô lớn. Có thể nói, những tính chất quan trọng nổi bật của hệ vi lưu là sự tác động đến các đối tượng trong hệ vi lưu ở cấp độ tác động vi mô của các dòng chất lỏng và hỗn hợp bên trong các vi kênh siêu nhỏ (cỡ nano hay micromet). Những hiệu ứng này được cho là sẽ tạo ra nhiều ưu điểm về thời gian phản ứng nhanh hơn và động học đơn giản. Ngoài ra, khi các hệ vi lưu được tích hợp với các vi cơ điện tử, vi cảm biến sẽ tạo ra các hệ vi lưu tích hợp với nhiều tính năng tốt trong xu thế thu nhỏ hệ thống. Đồng thời các hệ vi lưu có nhiều chức năng hơn nhờ sự linh động trong việc tích hợp các mô đun khác nhau trong hệ thiết bị này. Điều này có được là nhờ sự tiến bộ vượt bậc trong công nghệ vi chế tạo và đặc biệt là công nghệ mới trong chế tạo hệ vi lưu với sự đa dạng về vật liệu. Đặc biệt, với sự sáng tạo trong công nghệ đúc bản sao (đúng nguyên khối), dập nổi và ép phun,... làm cho việc chế tạo hệ vi kênh ngày càng phù hợp hơn với nhu cầu sử dụng trong hoá học, sinh học và y học.

Một trong những ứng dụng quan trọng của hệ vi lưu là ứng dụng trong phân tích y sinh. Bằng việc tích hợp các mô đun chức năng mô phỏng các nhiệm vụ trong phòng thí nghiệm vào trong hệ vi lưu sẽ cho phép thực hiện gần như toàn bộ các bước của quy trình phân tích trong một hệ vi lưu duy nhất. Hệ vi lưu này được đặt tên là hệ Lab-on-a-chip (hay còn gọi phòng thí nghiệm trong chip). Trong nội

dung nghiên cứu của luận án này, kỹ thuật phân tích ELISA sử dụng hạt nano từ và tích hợp cảm biến điện hoá được thực hiện trong một chip tích hợp sẽ được nghiên cứu, chế tạo và ứng dụng thử nghiệm. Đối với kỹ thuật ELISA, khi thực hiện kỹ thuật này trong hệ vi lưu, thì mô đun bắt giữ hạt nano là công đoạn quan trọng nhất. Vì vậy, hệ nam châm điện dạng phẳng được chế tạo và tích hợp trực tiếp vào hệ vi lưu, các nam châm này được dùng để bắt giữ các hạt nano từ tại một số thời điểm mà trong quy trình phân tích theo kỹ thuật ELISA cần tiến hành. Mục tiêu đặt ra đối với hệ vi lưu này là thao tác nhanh, tiêu tốn ít hoá chất, có thể tạo ra tín hiệu đủ để nhận biết với lượng mẫu rất nhỏ trong phân tích. Ngoài ra, hệ vi lưu có thể thực hiện các thao tác trên một tiến trình thông suốt từ đầu đến cuối, không rời rạc từng công đoạn.

Một ứng dụng khác đáng chú ý là sử dụng hệ vi lưu tích hợp cảm biến có thể tháo rời để thực hiện các phép phân tích hoá học, sinh học khác. Trong nội dung nghiên cứu của luận án này, hệ vi lưu tích hợp cảm biến điện hoá đã biến tính được nghiên cứu và chế tạo để ứng dụng trong phân tích hàm lượng kháng sinh. Kháng sinh trong luận án này đề cập tới là kháng sinh sulfamethoxazole thuộc nhóm kháng sinh sulfonamide sử dụng trong điều trị bệnh đường ruột trong chăn nuôi gia súc, gia cầm. Do hiện nay, việc lạm dụng kháng sinh (ví dụ: nhóm sulfonamide) dẫn đến dư lượng cao trong chăn nuôi đang là vấn đề báo động và có ảnh hưởng xấu đến sức khỏe người tiêu dùng. Việc lạm dụng kháng sinh thường bắt nguồn từ lý do giá thành rẻ và việc quản lý việc sử dụng còn chưa chặt chẽ, nên kháng sinh được sử dụng không theo quy định về liều lượng và thời gian. Vì vậy, việc tiến hành các phân tích dư lượng kháng sinh này là cần thiết để tầm soát và đưa ra khuyến nghị cho người tiêu dùng và các nhà quản lý. Trong công tác kiểm nghiệm chất lượng, việc phân tích theo các phương pháp thường quy như: sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), phổ khối (MS), cộng hưởng từ proton (NMR), ... đã được sử dụng và cho kết quả tốt. Tuy nhiên nhưng phương pháp này có một số nhược điểm khó có thể cải thiện như: hệ thiết bị lớn, đắt tiền, tiêu tốn nhiều mẫu và vật tư hoá chất khác, thời gian thường kéo dài, không thuận tiện cho các phép kiểm tra nhanh và phân tích tại hiện trường. Vì vậy, sự phát triển hoàn thiện các hệ vi lưu tích hợp các mô đun chức năng: buồng vi phản ứng, cảm biến sinh học, điện hóa, ... đang là xu thế và được nhiều nhà khoa học quan tâm. Đặc biệt, khi sử dụng cảm biến điện hoá trên cơ sở hệ điện cực dạng phẳng (VD: các hệ điện cực của hãng Dropsens, dạng điện cực mạch in – SPE) kết hợp với

hệ đo điện hoá cầm tay (VD hệ PalmSen3[®] của hãng Dropsens[®]) cho phép thực hiện phép phân tích với hàm lượng khá nhỏ, chỉ một vài giọt mẫu là có thể thực hiện được. Việc tích hợp hệ điện cực này vào các hệ vi lưu bằng các kỹ thuật ghép khác nhau sẽ trở nên thuận tiện hơn so với việc thực hiện phép phân tích trên các hệ phân tích điện hoá chuẩn trên hệ phân tích điện hoá đa năng thông thường (VD. Hệ AutoLab của hãng Metrohm). Hệ điện cực phẳng này được biến tính bằng các hệ vật liệu đặc biệt sẽ cho phép cải thiện rất đáng kể về độ nhạy tín hiệu, độ đặc hiệu và độ lặp lại của phép đo.

Trên cơ sở ý tưởng trên, tôi lựa chọn đề tài “**Nghiên cứu, thiết kế và chế tạo thiết bị vi lưu tích hợp mô đun khuấy trộn và bẫy hạt nano từ ứng dụng phân tích y sinh**” để thực hiện nghiên cứu và thử nghiệm ứng dụng hệ vi lưu tích hợp cho hai mục tiêu:

1. Mục tiêu:

Chế tạo thiết bị vi lưu tích hợp các mô đun chức năng: khuấy trộn các dòng vật chất; bẫy các hạt từ bằng nam châm điện dạng phẳng được tích hợp ngay trong kênh.

Chế tạo hệ chip vi lưu tích hợp cảm biến điện hoá có thể thực hiện phân tích hàm lượng kháng sinh trong thuốc điều trị bệnh trong chăn nuôi.

2. Nội dung chính:

Nội dung 1: Nghiên cứu thiết kế, chế tạo và hoàn thiện hệ vi lưu tích hợp mô đun bẫy hạt nano từ bằng hệ cuộn dây phẳng. Bao gồm các nội dung chính sau:

- Thiết kế cấu trúc tổng thể của chip vi lưu bằng vật liệu polyme tương tích sinh học cao (Poly(dimethylsiloxane) – PDMS, Poly(methyl methacrylate) – PMMA) phù hợp với yêu cầu dùng trong phân tích sinh học.
- Thiết kế, chế tạo mô đun khuấy trộn bao gồm các vi kênh dạng zíc zắc, chia dòng và vùng ổn định lưu lượng.
- Thiết kế, chế tạo hệ van điều chỉnh lưu lượng dòng chất lỏng bơm vào hệ vi lưu trên cơ sở vật liệu PDMS.
- Thiết kế, chế tạo mô đun bẫy hạt nano từ bằng các cuộn dây dạng phẳng (nam châm điện), từ đó các cuộn dây phẳng này được tích hợp vào hệ vi lưu và có thể

linh hoạt việc kích hoạt từ trường bằng điều khiển dòng điện, dễ dàng gắng vào và tháo ra khỏi hệ vi lưu.

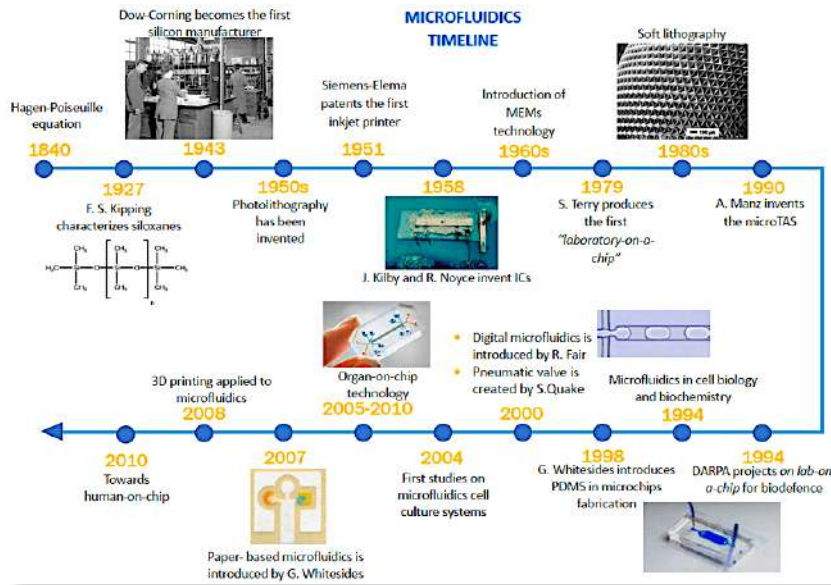
Nội dung 2: Thiết kế và chế tạo và hoàn thiện hệ thiết bị vi lưu tích hợp cảm biến điện hoá dạng phẳng trên cơ sở điện cực carbon mạch in (SPE) được biến tính bằng hệ vật liệu tiên tiến. Bao gồm các nội dung sau:

- Chế tạo các hệ cảm biến điện hóa bằng các vật liệu composit tiên tiến đặc hiệu cho phân tích kháng sinh trong dung dịch bằng các phương pháp tổng hợp điện hóa trực tiếp trên bề mặt điện cực.
- Thử nghiệm phân tích hàm lượng kháng sinh sulfomethaxazone trong thuốc kháng sinh T.T.S Năm Thái điều trị bệnh đường ruột của hãng dược phẩm thú ý Năm Thái.
- Phát triển kỹ thuật ghép vi kênh với đế của hệ vi lưu tích hợp cảm biến điện hoá bằng kỹ thuật ghép cơ khí, nhờ đó cho phép tái sử dụng nhiều lần hệ vi kênh và hệ điện cực mạch in.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

1.1. Hệ vi lưu.

Lịch sử phát triển của các nghiên cứu và ứng dụng liên quan đến các hệ vi lưu (microfluidic/nanofluidic systems) được tóm lược như sau:



Hình 1.1. Lịch sử phát triển khái niệm, nghiên cứu ứng dụng của hệ vi lưu trên thế giới, Copyright by Elveflow.com (Elvesys Group)

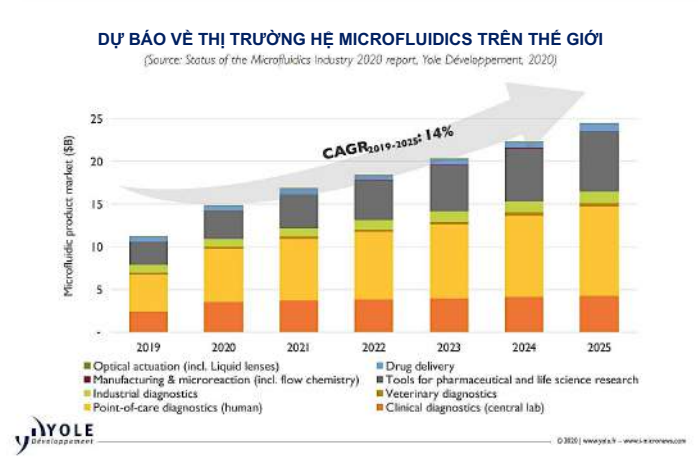
Sự phát triển của khái niệm và nghiên cứu ứng dụng hệ vi lưu được diễn giải theo dòng thời gian như mô tả trong Hình 1.1 (Copyright by Elvesys Group):

- (1) Cấu trúc hóa học vật liệu Polydimethylsiloxane (PDMS) được nghiên cứu;
- (2) Dow Corning được thành lập tại Midland (1943) để làm việc về silicon;
- (3) IC germanium hoạt động đầu tiên được tạo ra bởi Jack Kilby (1958) (Texas Instruments);
- (4) Hình ảnh SEM của vi cấu trúc PDMS bằng phương pháp đúc nguyên khối;
- (5) Chip vi lưu PDMS. PDMS được giới thiệu là vật liệu cho chế tạo chip vi lưu do Whitesides (1998) [1] đề xuất;
- (6) Chip vi lưu kỹ thuật số để thao tác và kiểm soát các giọt lỏng và bóng khí;
- (7) Chip nuôi cấy tế bào, chip có thể tái tạo vi môi trường và vi kiến trúc của một mô hoặc cơ quan cụ thể của con người;

(8) Thiết bị vi lưu dạng giấy có thể được sử dụng như một công cụ chẩn đoán di động với chi phí thấp, nên rất hữu ích trong các điều kiện khẩn cấp và ở các khu vực hạn chế.

Hình 1.1 cho thấy, Hệ vi lưu được xem là một lĩnh vực công nghệ quan trọng và có nhiều sự khác biệt rất đặc thù so với các lĩnh vực nghiên cứu khác. Mốc lịch sử quan trọng của các hệ vi lưu thực sự phát triển rõ nét nhất từ những năm 2000. Quá trình phát triển của các hệ vi lưu có liên hệ chặt chẽ đến những tiến bộ trong phát triển các trong phương pháp chế tạo và phát triển vật liệu. Trong đó, sự phát triển của các phương pháp chế tạo đã định hướng cho sự phát triển thiết kế và ứng dụng các hệ vi lưu trong các lĩnh vực khác nhau: hóa học, y học, sinh học. Ngày nay, hệ vi lưu đã định hình thành một lĩnh vực và thuật ngữ riêng trong nghiên cứu và ứng dụng.

Theo báo cáo của Tập đoàn Markets and Markets (Markets and Markets™ Inc.) chuyên đánh giá và phân tích thị trường, giá trị thị trường (bao gồm chi tiêu cho nghiên cứu và giá trị ứng dụng) về hệ vi lưu và các ứng dụng liên quan trên thế giới đã đạt giá trị trên 10 tỷ USD trong năm 2019, khoảng 18 tỷ USD trong năm 2022. Dự đoán tốc độ tăng trưởng thị trường bình quân đạt 14 %/năm, đến năm 2025 tổng giá trị đạt ngưỡng khoảng gần 25 tỷ USD, Hình 1.2. Với nhận định như vậy, lĩnh vực hệ vi lưu đang là vấn đề hấp dẫn các nhà khoa học nghiên cứu cũng như các công ty phát triển ứng dụng hệ vi lưu và các sản phẩm liên quan (bao gồm nguyên liệu, các hệ thống hỗ trợ và các ứng dụng).



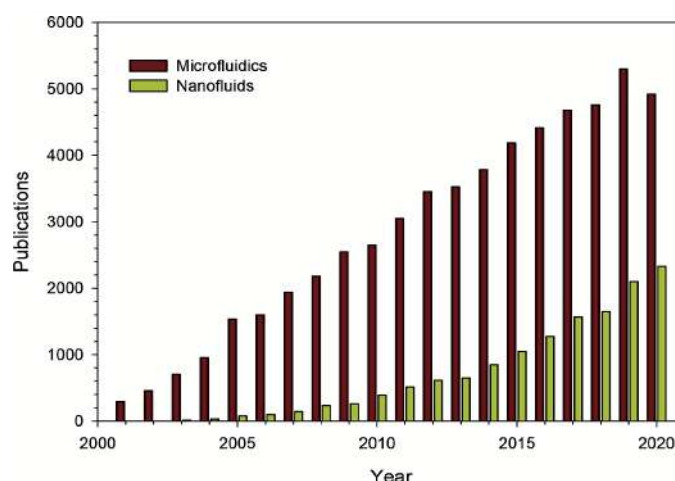
Hình 1.2. Tốc độ tăng trưởng của thị trường hệ vi lưu (thiết bị, chi phí nghiên cứu và ứng dụng) phân bố theo các khu vực trên thế giới, (Nguồn Yole Développement).

Hệ vi lưu có nhiều triển vọng trên cả thị trường chi tiêu cho nghiên cứu và ứng dụng dựa trên các nhận định về ưu điểm nổi bật của hệ vi lưu đó là hiệu ứng tương tác vật chất trong không gian hẹp trong các vi kênh. Do hệ vi lưu được cấu trúc bởi các hệ vi kênh (micro-channels) có kích thước nhỏ cỡ từ nm đến μm và độ dài của các vi kênh có thể tùy chỉnh trên diện tích nhỏ (chiều rộng và chiều cao của vi kênh có thể từ 100 nm đến 100 μm [2]). Vì vậy, các hệ vi lưu có tỷ lệ diện tích tiếp xúc/thể tích (surface - to - volume) rất cao, dẫn đến bề mặt trao đổi chất rất lớn trong không gian hẹp, Hình 1.3. Với xu hướng thu nhỏ các thiết bị và tăng cường tính cơ động của hệ thống, thì các hệ vi lưu rất phù hợp trong việc hiện thực hóa thu nhỏ các thiết bị phân tích và chuyển đổi thành các thiết bị có thể bỏ túi.



Hình 1.3. Một số hệ vi lưu sử dụng cho nghiên cứu và ứng dụng, Hãng Technicolor (trái) và Hãng Lab on Chip (phải).

Cùng với sự đầu tư và nghiên cứu ứng dụng các hệ vi lưu, các nghiên cứu về các công bố khoa học liên quan đến hệ vi lưu (bao gồm các hệ microfluidics và nanofluidics) tăng mạnh từ những năm 2000. Số liệu này được thể hiện trên Hình 1.4.



Hình 1.4. Số lượng công bố khoa học về hệ vi lưu (Microfluidics và nanofluidics) từ năm 2001 đến 2020 (source: Web of science)⁽¹⁾.

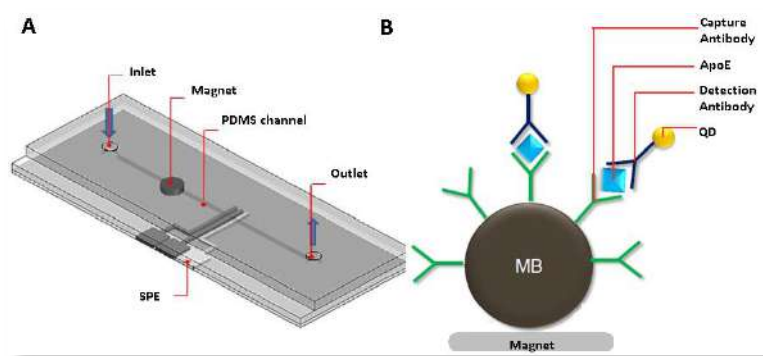
⁽¹⁾ Trích nguồn từ topic “microfluidic” in Web of Sciences on 10th May 2021.

Trong phân tích sinh học dựa trên nguyên tắc cơ bản của các phương pháp phân tích truyền thống (Phân tích ELISA, xét nghiệm miễn dịch – Immunoassay,...), thì hiện nay, các hệ thống vi lưu đã và đang phát triển thành các hệ thống có tính cơ động, dễ thực hiện trong các phân tích nhanh tại hiện trường, có độ chính xác và độ nhạy cao ngay cả với các đối tượng có nồng độ thấp. Đặc biệt hệ vi lưu có thể sử dụng trong phân tích với lượng mẫu rất nhỏ cỡ micro lít. Ngoài ra, với sự phát triển của các phòng thí nghiệm công nghệ cao (phòng sạch) và kết hợp các kỹ thuật vi chế tạo của công nghệ điện tử và vi cơ khí chính xác (hệ vi cơ điện tử - MEMS hay NEMS) trong chế tạo các chip vi lưu sinh học (Microfluidic bio-chip), đã cho phép tạo ra các thiết bị có cho thử nghiệm rất nhanh và có thể thương mại hóa dễ dàng với giá hợp lý. Các quy trình mới trong thiết kế và chế tạo có tính linh động cao và tương thích với các điều kiện và mục tiêu trong phân tích.

Trong các ứng dụng của hệ vi lưu, thì khuấy trộn vật chất (các dòng chất lỏng) là một trong những vấn đề cơ bản và khó đạt được nhất. Điều này do khi vật chất được bơm vào trong vi kênh, thì không có can thiệp nào bên ngoài đáng kể để có thể khuấy trộn được các dòng vật chất này. Trong năm năm qua, kể từ khi hai công bố khoa học của hai tác giả Hessel và cộng sự 2005, Nguyen và cộng sự 2005, đánh giá tốt [3, 4] về trộn vi lỏng, thì rất nhiều các công bố khoa học khác đã được xuất bản về chủ đề này. Ngoài ra, trong các ứng dụng của vi lưu đều liên quan đến các dòng chất lỏng, nên việc trộn chất lỏng trong vi kênh và trong hệ vi lưu là đối tượng quan tâm trong phần tổng quan này. Đối với các dòng chất lỏng được trộn trong hệ vi kênh thì thường có chỉ số Reynolds thấp và nhỏ hơn 1. Cá biệt có một số trường hợp chỉ số Reynolds cao hơn đến 10 hoặc 100. Đây là các trường hợp vận tốc dòng trong vi kênh rất lớn và thường ít áp dụng cho quá trình vận hành các hệ vi lưu với vi kênh cỡ vài chục đến vài trăm micromet [5].

Từ những năm 2000 trở lại đây, việc sử dụng hệ vi lưu tích hợp cảm biến trong phân tích y sinh, hóa học đã thu hút sự quan tâm của nhiều nhà khoa học. Điều này có được là nhờ những ưu điểm như: giảm tiêu hao tác nhân phân tích trong buồng vi phản ứng do vi kênh có thể tích nhỏ, tăng độ nhạy nhờ vào việc tăng diện tích bề mặt tiếp xúc và tăng sự chuyển khối khi vi kênh giảm xuống kích thước μm và nm [6, 7]. Ngoài ra, với sự phát triển vượt bậc trong công nghệ nano, công nghệ chế tạo vi cơ điện tử (MEMS, NEMS), nên việc tích hợp và chế tạo các hệ vi lưu trở nên thuận

tiên. Đây cũng là cơ sở để phát triển các hệ thống mô phỏng các phòng thí nghiệm trên một chip (Lab-on-a-chip), và cho phép tích hợp các mô đun chức năng như bắt giữ hạt nano từ, khuấy trộn, cảm biến, quan sát kết quả,... trên cùng một chip tích hợp [8-10]. Hình 1.5 mô tả hệ vi lưu tích hợp hai mô đun chức năng (bẫy hạt nano từ, cảm biến điện hoá - SPE) cho quá trình phát hiện sinh học Alzheimer's biomarker được xác định bằng phương pháp điện hóa [10].



Hình 1.5. Chip phân tích xét nghiệm miễn dịch sử dụng hạt nano từ trong phát hiện Alzheimer's biomarker được xác định bằng phương pháp điện hóa sử dụng cảm lượng tử để đánh dấu, [10].

Ngày nay, các hệ vi lưu được sử dụng nhiều trong các phép phân tích trong y sinh như: các phân tích DNA, tế bào, PCR,... tạo ra hướng phát triển trong tương lai và cho phép tạo ra những hệ thống có tính cơ động cao, và chi phí giảm dần [11]. Ngoài ra, các phép phân tích sử dụng các hệ vi lưu còn hứa hẹn những ưu điểm nổi trội về thời gian ngắn và thực hiện được với những mẫu phân tích nhỏ về lượng mẫu và nhỏ về nồng độ tác nhân. Vì vậy, việc nghiên cứu phát triển các hệ vi lưu định hướng ứng dụng trong phân tích hóa học, môi trường và y sinh là những vấn đề được quan tâm của nhiều nhóm nghiên cứu hiện nay.

1.2. Các ưu điểm của hệ vi lưu trong các ứng dụng phân tích hóa/sinh học

Các hệ vi lưu được xem là mục tiêu có nhiều tiềm năng ứng dụng trong lĩnh vực hóa học, sinh học, y dược, vật lý,... Điều này được khẳng định bằng những kết quả nghiên cứu về lĩnh vực này ngày càng mạnh trên các tạp chí chuyên ngành có uy tín trên thế giới, Hình 1.4. Đồng thời thị trường ứng dụng hệ vi lưu cũng tăng mạnh về giá trị và dự đoán trong những năm tới có thể phát triển với tốc độ > 14%, Hình 1.2. Đây cũng là cơ sở để sự phát triển hệ vi lưu đến các ứng dụng thực tế trong các lĩnh vực khác nhau.

Các ưu điểm nổi trội của hệ vi lưu được thể hiện là nhờ hiệu ứng tương tác vật chất trong không gian hẹp của hệ thống. Điều này giúp ích cho việc thu nhỏ các thiết bị và tăng cường tính cơ động của hệ thống, đồng thời các thiết bị sẽ có thể trở thành thiết bị bỏ túi. Các ưu điểm chính của hệ vi lưu được thể hiện qua Bảng 1.1.

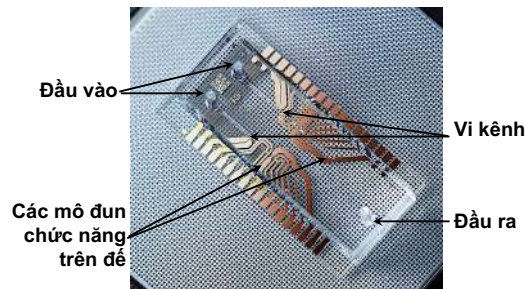
Bảng 1.1. Một số ưu điểm đáng chú ý của hệ vi lưu trong các ứng dụng, [12].

Ưu điểm của hệ vi lưu	Mô tả ưu điểm chi tiết các ưu điểm đạt được
Lượng mẫu dung cho phân tích nhỏ	Thông thường chỉ cần sử dụng lượng mẫu rất nhỏ nhiều so với các phép phân tích thông thường.
Sự trao đổi nhiệt được tăng cường.	Bên trong các vi kênh của hệ vi lưu có tỷ lệ diện tích tiếp xúc : thể mẫu rất cao, vì vậy bề mặt trao đổi nhiệt lớn trong không nhỏ của hệ vi kênh.
Có thể phân tách các hạt từ kích thước nano dễ dàng	Bằng cách sử dụng điện trường có cường độ phù hợp và có tính tập trung cao làm cho các hạt từ dễ dàng định hướng và bị bắt giữ ngay trong kênh.
Chất lỏng chảy trong các vi kênh được điều khiển ở chế độ chảy dòng.	Chỉ số Reynolds nhỏ do các vi kênh có kích thước nhỏ nên dòng chảy thường là chảy dòng và thuận tiện cho các nhiệm vụ khuấy trộn và tách dòng chất lỏng.
Điều khiển được các hiện tượng điện động trong phạm vi nhỏ.	Các dòng điện thấm cho phép bơm chất lỏng với vận tốc ổn định và tương ứng với điện trường áp vào hệ vi kênh.
Năng lượng tiêu tốn cho các hệ vi lưu nhỏ.	Lượng vật chất bơm vào ít, tro đổi nhiệt tốt, và tương tác giữa các dòng vật chất trong hệ vi lưu tốt. Do vậy năng lượng cấp cho hệ nhỏ.
Cho phép tiến hành đồng thời nhiều quá trình ngay trong không gian hẹp của hệ vi kênh.	Các quá trình phân tích có thể đồng thời chạy cùng một lúc trong một hệ thống giống như vận hành của chip đa năng (Lab-on-a-chip) được tích hợp nhiều mô đun chức năng trong hệ vi lưu.
Tạo ra hệ thiết bị có tính di động cao	Hệ thống được tích hợp, năng lượng tiêu thụ rất thấp, cho phép tiến hành các quá trình phân tích nhanh và nhỏ gọn. Điều này cho phép tạo ra các hệ thiết bị có di động như các thiết bị cầm tay thông thường.

1.3. Các bộ phận cấu thành nên hệ microfluidics

Các hệ vi lưu thường được cấu tạo từ hai phần chính: các vi kênh và đế. Ngoài ra, để hỗ trợ cho hệ vi lưu làm việc trong các ứng dụng thực tế thì hệ vi lưu cần có

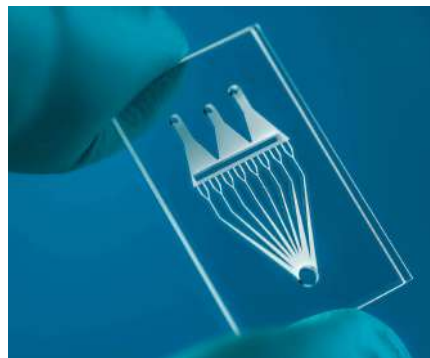
thêm các thiết bị phụ trợ khác như: hệ điều khiển dòng vào, các thiết bị giám sát, các chi tiết cơ khí, cụm tương tác vật lý,... để tạo ra những thiết bị có chức năng chuyên biệt.



Hình 1.6. Hệ vi lưu và các thành phần cơ bản của hệ vi lưu (Nguồn: *FMN Laboratory, Bauman Moscow State Technical University*)

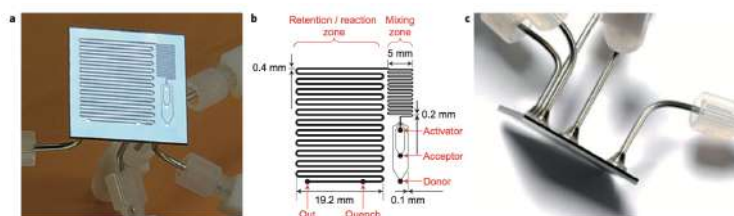
1.3.1. Vi kênh (*micro/nano channel*)

Vi kênh thường gồm các đường dẫn nhỏ bao gồm các phần như: hướng dòng chảy, các cụm chức năng khuấy trộn, chia dòng, tiết lưu, bắt giữ các phần tử nhỏ,... Các phần chức năng này thường phải được thiết kế chi tiết và là một phần quan trọng trong thiết kế vi kênh. Hình 1.7



Hình 1.7. Một sản phẩm của hãng Workshop of Photonics (<https://wophotonics.com>) với tổ hợp vi kênh phức tạp dùng cho khuấy trộn đa dòng chất lỏng có thể tích siêu nhỏ cỡ μL .

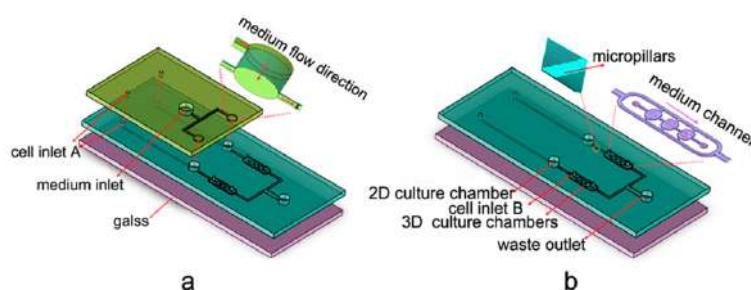
Các vi kênh trong hệ vi lưu có nhiệm vụ quan trọng đối với việc dẫn hướng các dòng chất lỏng và tạo ra các vị trí tương tác của các tác nhân trong hệ vi lưu. Trong đó, có những vùng mà các tác nhân phản ứng được lưu lại ở đây nhiều hơn và thực hiện các tương tác chính cho quá trình theo các yêu cầu đặt ra. Vì vậy, khi thiết kế các vi kênh cần tính toán các thông số hình học và hình dạng của kênh dẫn để có thể thực hiện chế độ làm việc của các tác nhân trong vi kênh một cách hoàn chỉnh nhất [13].



Hình 1.8. Hệ thống vi phản ứng trong microfluidics sử dụng trong tối ưu hóa phản ứng trong hệ sinh học [14].

Ratner, D. M. và cộng sự đã thiết kế hệ microfluidics cho tối ưu hóa phản ứng glycosyl [14], trong hệ thống phản ứng này được thực hiện nhanh chóng ở nhiều điều kiện như khác nhau, tới 44 điều kiện khác nhau. Các điều kiện bao gồm: nhiệt độ khác nhau, tốc độ dòng, tỷ lệ khuấy trộn cũng như thời gian phản ứng khác nhau.

Ngoài ra, vi kênh còn là được phát triển ở các loại cấu trúc khác nhau, 2D hoặc 3D. Những dạng khác nhau này có những ứng dụng rộng rãi trong phân tích hóa học, sinh học và quang học. Hao Yuanyuan và cộng sự [15] đã thiết kế hệ vi lưu dạng 3D được mô tả trên Hình 1.9, hệ vi lưu gồm hai lớp sử dụng trong nuôi cấy tế bào khối ung trực tiếp ngay trong kênh. Tại đây, các tế bào ung thư phổi được nuôi ở lớp phía trên (dạng 2D) và các dịch dinh dưỡng có thể trực tiếp trao đổi với lớp ở dưới mà không bị ảnh hưởng bởi dòng chảy lấy đi mất tế bào.

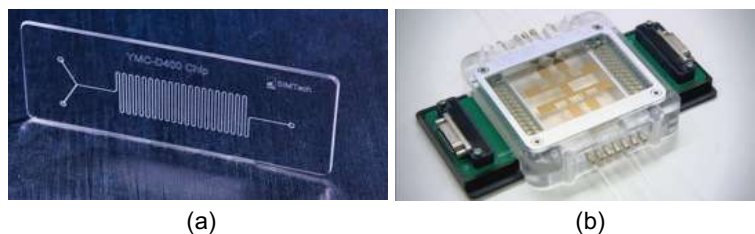


Hình 1.9. Hệ microfluidics dạng 3D sử dụng cho nuôi cấy tế bào dùng trong xác định bệnh ung thư [15].

1.3.2. Đế (bottom substrate)

Đế là mô đun quan trọng trong cấu trúc của hệ vi lưu để tạo ra các hệ vi lưu có các chức năng khác nhau mà không thể thực hiện được trên các vi kênh. Cấu trúc của đế ở dạng đơn giản nhất là những đế chỉ dùng để gắn vi kênh lên với vai trò làm kín hệ vi kênh. Các đế thuộc dạng này thường là các tấm vật liệu làm từ thủy tinh hoặc các tấm silicon. Ngoài ra, các tấm đế có cấu trúc phức tạp hơn thường được chế tạo với các mô đun chức năng để sử dụng trong các ứng dụng quan trọng khác như: các

mô đun chứa các hệ cảm biến cho phân tích điện hóa, sinh học, hoặc chứa các mô đun có thể điều khiển bằng các vi mạch điện tử trong các nhiệm vụ như nam châm điện cho bẫy các hạt nano từ tính, hệ van điều khiển dòng chảy, hệ màng thấm thấu,...
Hình 1.10.



Hình 1.10. (a) Hệ vi lưu đơn giản sử dụng để thủy tinh để gắn vi kênh (một sản phẩm của hãng Fluigent – fluigent.com); (b) Hệ vi lưu sử dụng để vừa để gắn vi kênh vừa chứa các bộ phận chức năng là loại cảm biến cho phân tích điện hóa [16].

Trong chế tạo các hệ vi lưu, phần đế thường là bộ phận quan trọng của hệ vi lưu thường được dùng để tích hợp các mô đun có chức năng khác nhau để tạo ra các hệ vi lưu tích hợp. Với sự phát triển của công nghệ vi chế tạo như MEMs, NEMs (micro/nano electromechanical systems), các phòng thí nghiệm công nghệ cao có thể chế tạo ra các mô đun chức năng này một cách dễ dàng và tích hợp trên đế ngày càng đa dạng. Các mô đun chức năng phổ biến hiện nay thường gồm: cảm biến nhiệt độ, các bộ điều khiển nhiệt độ cho quá trình gia nhiệt, hệ thống phân tích điện hóa và quang học,... [17]. Ngoài ra, các hệ vi lưu tích hợp được hoàn thiện nhờ lắp đặt thêm các hệ điều khiển điện tử đa chức năng và tạo ra các thiết bị được mô tả như các phòng thí nghiệm thu nhỏ giống một chip xử lý trung tâm trong máy tính, và còn được gọi với thuật ngữ là: IC microfluidics systems, Hình 1.10.b. Ngoài ra, để hệ vi lưu có thể hoạt động một cách hiệu quả thì các thiết bị phụ trợ khác cũng được sử dụng như một thiết bị riêng biệt độc lập hoặc tích hợp một cách linh hoạt vào hệ vi lưu như: các hệ bơm, van tự động hoặc bán tự động dùng cho điều khiển dòng chất lỏng; cấp nguồn điện, kết nối các cảm biến và thiết bị đo,... Baichen Li và cộng sự (2014), [18] đã trình bày thiết kế và chế tạo hệ vi lưu (dạng cầm tay) điều khiển tự động các dòng chất lỏng bằng điện thoại thông minh. Hệ điều khiển sẽ điều khiển các van thông qua một hệ thống khí nén nhỏ gọn. Hệ thống này được áp dụng trong điều tiết chất lỏng của xét nghiệm miễn dịch dạng “sandwich” trong nhận biết HIV1 p24 trong hệ chip bằng vật liệu PDMS đa lớp. Quá trình này được thực hiện một cách tự

động và không cần bất kỳ sự can thiệp nào của con người. Kích thước của hệ thống là $6 \times 10,5 \times 16,5$ cm và tổng trọng lượng là 829 g bao gồm cả pin.



Hình 1.11. Hình ảnh hệ vi lưu được tích hợp các hệ thống xử lý chất lỏng điều khiển bằng điện thoại thông minh dùng trong xét nghiệm miễn dịch sandwich điện hình. Kích thước của thiết bị là $6 \times 10,5 \times 16,5$ cm. Hệ vi lưu sử dụng các vi kênh bằng PDMS nhiều lớp có van điều khiển, [18].

1.3.3. Hoàn thiện hệ vi lưu – Packing microfluidic system

Hoàn thiện hệ vi lưu là quá trình gắn vi kênh lên phần đế đã được tích hợp các phần chức năng như: cảm biến điện hóa, nam châm điện,... Công đoạn này đóng một vai trò rất quan trọng đối với các hệ vi lưu tích hợp nhiều khu vực chức năng. Thông thường, các vi kênh được chế tạo bằng các vật liệu đơn giản như PDMS hay PMMA thì việc gắn kênh lên đế (silic hoặc thủy tinh) tương đối đơn giản bằng các kỹ thuật hoạt hóa bề mặt bằng plasma, UV/ozon, tích điện, hay tự dính [19-21].

Tuy nhiên, việc gắn này chỉ cho phép hệ vi lưu làm việc một lần và không thể bóc ra và gắn lại. Điều đó dẫn tới chi phí chế tạo phần đế sẽ rất tốn thời gian và chi phí cao. Để khắc phục điều này, các hướng phát triển kỹ thuật đóng kênh có thể bóc ra để thay thế phần vi kênh hay thực hiện các thao tác phức tạp tạo như rửa, thay kênh được dễ dàng. Các kỹ thuật gắn kênh này cho phép hệ vi lưu làm việc được trong điều kiện áp suất cao: trên 30 kPa và đến 200 kPa hoặc lưu lượng dòng chảy qua kênh từ vài chục đến vài trăm $\mu\text{L}/\text{phút}$ [22, 23].

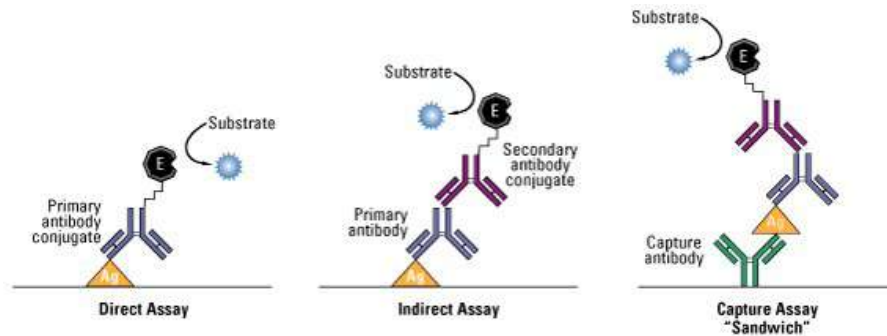
Hiện nay, chưa có nhiều các công bố về việc hoàn thiện hệ vi lưu bằng kỹ thuật có thể tháo ra gắn vào nhiều lần (reversible bonding) các vi kênh chế tạo bằng vật liệu poly(dimethylsiloxane) – PDMS và cho phép hệ vi lưu có thể hoạt động ở áp lực/lưu lượng dòng lỏng cao. Một trong những kỹ thuật đơn giản nhất là sử dụng kẹp

vi kênh và đế giữa một kết cấu cơ ký được làm từ hai tấm vật liệu thủy tinh hữu cơ (Plexiglas®) [24, 25]. Với thiết kế này, vi kênh thường bị biến dạng do ép bằng một áp lực mạnh dẫn đến thay đổi kích thước hoặc bị tắc kênh. Ngoài ra, việc gắn kênh bằng cách hút chân không giữa đế và vi kênh (vi kênh được chế tạo đặc biệt với kết cấu rãnh ở mặt tiếp xúc với phần đế) cũng có thể tạo ra độ kín nhất định [26]. Nam châm cũng có thể được sử dụng để giữ hai phần đế và vi kênh. Theo Rafat et al. [27] thử nghiệm cho thấy áp suất làm việc lên đến 145 kPa bằng kỹ thuật dùng nam châm, nhưng kỹ thuật này không tương thích với các hệ vi lưu có sử dụng hạt từ bên trong kênh. Một kỹ thuật khác được sử dụng cho việc gắn kênh lên đế bằng băng keo 2 mặt đặc biệt. Trong kỹ thuật này, Ser Choong và cộng sự [28] đã sử dụng một băng keo tương thích sinh học/hóa học để liên kết nắp kênh với nền đáy. Kết quả thu được hệ vi lưu có thể làm việc ở áp lực dòng lỏng lên đến 100 kPa ở trong kênh. Mặt khác, kênh có thể tháo rời khỏi đế dễ dàng. Vézy và cộng sự [29] đã sử dụng một lớp mỏng chất kết dính Dimethyl-methylphenylmethoxy siloxane (DMPMS) tương tự như PDMS để giữa kênh và đế. Kỹ thuật này cho phép tái sử dụng chip và áp suất làm việc cao (100 kPa) mà không bị rò rỉ. Tuy nhiên, các kỹ thuật dùng băng dính hay lớp mỏng kết dính trung gian đều làm cho việc xử lý bề mặt trước khi gắn kênh và đế rất khó thực hiện.

1.4. Ứng dụng hệ vi lưu trong kỹ thuật ELISA

Trong phân tích sinh học, kỹ thuật phân tích miễn dịch ELISA được sử dụng rộng rãi như một công cụ chẩn đoán thường quy trong y học, sinh học và bệnh lý. Kỹ thuật này được biết đến và phát triển dựa trên phương pháp xét nghiệm miễn dịch phóng xạ (radioimmunoassay). Đây là một kỹ thuật sử dụng các kháng nguyên hoặc các kháng thể được đánh dấu phóng xạ để tạo ra tín hiệu nhận biết và được phát hiện lần đầu tiên vào năm 1960 bởi Rosalyn Sussman Yalow và Solomon Berson [30]. Từ những năm 70 của thế kỷ 20, kỹ thuật ELISA đã được phát triển và trở thành một trong những phương pháp đặc hiệu nhất trong xét nghiệm miễn dịch (ví dụ: xét nghiệm HIV, Alzheimer hoặc biomarker ung thư [31, 32]), và thuật ngữ ELISA đã trở thành thuật ngữ khoa học trong ngành xét nghiệm. Về cơ bản, kỹ thuật ELISA dựa trên sự hình thành cấu trúc phức hợp dạng “sandwich” của kháng thể chính (Ab) - kháng nguyên (Ag) – thứ cấp (được đánh dấu). Việc phát hiện của Ab hoặc Ag, được thực hiện theo hai cách phổ biến: ELISA trực tiếp và ELISA gián tiếp, trong đó,

tín hiệu đo được nhờ sử dụng huỳnh quang, điện hóa huỳnh quang,... phương pháp này mang lại nhiều lợi thế như độ nhạy cao và xét nghiệm đa đối tượng [33].



Hình 1.12. Ví dụ về các kỹ thuật phân tích ELISA. Trong đó, kháng nguyên quan tâm được cố định trực tiếp lên để nhờ hấp phụ (ELISA trực tiếp) hoặc bằng cách gắn lên một kháng thể đã được cố định lên đế (ELISA gián tiếp), (Nguồn:

<https://www.lifetechnologies.com>)

Hình 1.12 mô tả ba định dạng phổ biến của kỹ thuật ELISA. Đối với kỹ thuật phân tích ELISA trực tiếp, kháng thể đầu dò được gắn trực tiếp với kháng nguyên có sẵn trên đế sau đó kháng thể nhận biết được đánh dấu gắn trực tiếp lên kháng nguyên hoặc thông qua một kháng thể trung gian. Tuy nhiên, phương pháp trực tiếp này không được sử dụng rộng rãi trong kỹ thuật ELISA (và chủ yếu chúng được dùng trong nhận biết tế bào được nhuộm màu). Đối với kỹ thuật ELISA gián tiếp thì kháng nguyên cần xác định không gắn trực tiếp lên các đế mà chúng được gắn trên các kháng thể dò đặc trưng, sau đó một kháng thể thứ hai được đánh dấu sẽ gắn trực tiếp lên kháng nguyên này hoặc thông qua một kháng thể trung gian thứ 2. Kỹ thuật ELISA gián tiếp có tính đặc hiệu cao hơn nhờ tìm được các kháng thể đầu dò đặc hiệu, các kháng thể đặc hiệu này thường dễ chế tạo từ các vật chủ khác nhau (ví dụ như kháng thể IgG từ chuột hoặc thỏ).

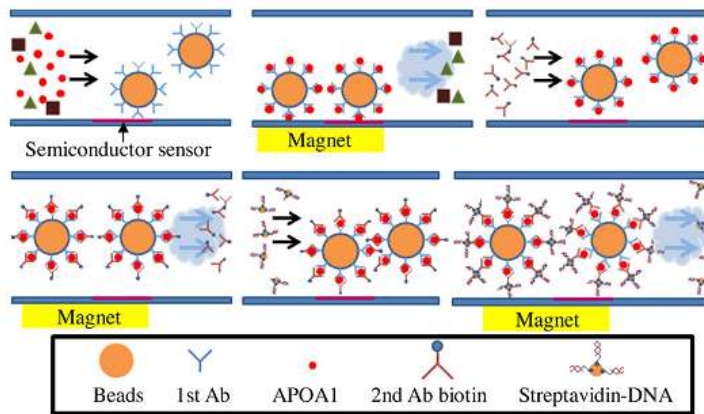
Gần đây, các kỹ thuật phân tích ELISA sử dụng các hạt nano từ được phát triển và có nhiều lợi thế về thời gian phân tích và độ nhạy, đặc hiệu. Các hạt nano sử dụng trong phân tích sinh học thường được chế tạo với cấu trúc lõi - vỏ. Vỏ bọc của các hạt này được chức năng hóa bằng các nhóm chức hữu cơ hay thậm chí đã được gắn các kháng thể sinh học. Theo các nghiên cứu được công bố, kỹ thuật ELISA này cho phép phát hiện nồng độ phân tích rất nhỏ (zepto-gram) của các đối tượng (protein, tế bào) và với lượng siêu nhỏ (vài μL) [34-38]. Trong xu hướng phát triển từ những năm 2000, các hệ vi lưu (microfluidic system) dùng cho phân tích ELISA sử dụng

các hạt nano từ được chức năng hóa (kỹ thuật "snapshot") đã và đang được nhiều nhóm nghiên cứu phát triển và hoàn thiện công nghệ chế tạo và điều kiện làm việc. Việc phân tích ELISA trong các hệ vi lưu này đã cho thấy độ nhạy cao hơn so với các kỹ thuật ELISA thường quy nhờ sử dụng các hạt nano từ tính nhằm tăng tính tương tác trong không gian hẹp. Trong hệ vi lưu, các hạt nano từ được bắt giữ bằng từ trường tạo ra từ các nam châm vĩnh cửu [39, 40] hoặc nam châm điện [36].

1.4.1. Hệ vi lưu trong xét nghiệm miễn dịch sử dụng hạt nano từ

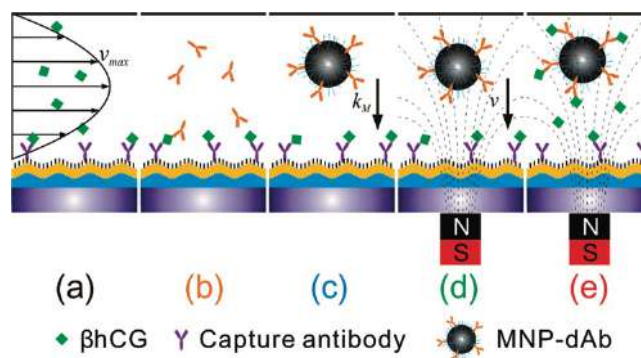
Trong những năm gần đây, hệ vi lưu kết hợp với hạt nano từ sinh học trong xét nghiệm miễn dịch đang quan tâm và phát triển mạnh từ những nhóm nghiên cứu trên thế giới. Tương tự như kỹ thuật ELISA truyền thống được thực hiện trong đĩa petri chuyên dụng, quá trình xét nghiệm được tiến hành trực tiếp trong vi kênh được thiết kế các vùng chức năng. Trong vi kênh, các hạt nano từ tương tác với các dòng vật chất (kháng nguyên, kháng thể...) trong suốt quá trình di chuyển dọc vi kênh và được giữ lại tại một khu vực nhất định nhờ lực từ trường của nam châm vĩnh cửu [39, 40] hoặc nam châm điện [36]. Các kháng thể, kháng nguyên được cố định trên bề mặt của hạt nano từ sẽ được xác định bằng các phương pháp khác nhau như đánh dấu huỳnh quang hoặc điện hóa. Ngoài ra, giai đoạn cố định kháng thể lên bề mặt hạt còn có thể được thực hiện bên ngoài vi kênh [41, 42].

Lin và cộng sự [43] đã tiến hành phân tích miễn dịch dựa trên hạt nano từ sử dụng một kháng thể đầu dò đặc trưng để gắn các đoạn DNA có điện tích âm để khuếch đại tín hiệu. Thiết bị vi lưu chế tạo đã tích hợp một từ trường ngoài (nam châm) gắn phía dưới kênh để giữ các hạt nano từ (đường kính 120 nm) tại vị trí tích hợp các vi điện cực điện hóa, quy trình phân tích này được thể hiện trong Hình 1.13, [43]. Kết quả nghiên cứu cho thấy khả năng xác định apolipoprotein A1 (APOA1) đạt nồng độ giới hạn là 12,5 ng/mL. Tuy nhiên, qua trình bắt giữ hạt nano bằng nam châm vĩnh cửu nên việc thay đổi một cách linh động cường độ lực từ cũng như đóng ngắt lực từ phải tiến hành thủ công và không tức thời.



Hình 1.13. Quá trình phân tích miễn dịch sử dụng hạt nano từ được thực hiện trong hệ vi lưu có tích hợp cảm biến điện hóa trong xác định apolipoprotein A1 (APOA1) đạt nồng độ giới hạn là 12,5 ng/mL, [43].

Wang Yi và cộng sự, 2011, [44] trình bày trong nghiên cứu của mình về việc sử dụng các hạt nano từ (MNP) vai trò là “phương tiện” để phân phối nhanh tác nhân đích dùng cho phân tích trong mẫu đến bề mặt cảm biến, nhờ đó làm tăng các biến đổi về chỉ số khúc xạ đo được có liên quan đến liên kết của chất phân tích đích. Mô tả quá trình phân tích được thể hiện trên Hình 1.14.



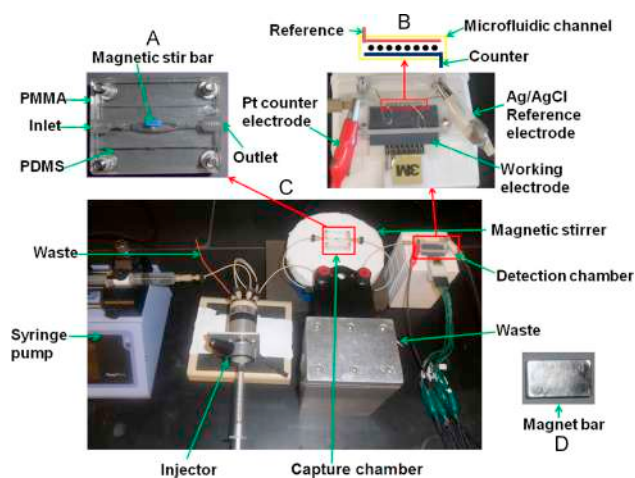
Hình 1.14. Các định dạng nhận biết bằng kỹ thuật ELISA sử dụng hạt nano từ trong hệ vi kênh: phát hiện trực tiếp (a), xét nghiệm dạng “sandwich” với sự khuếch đại bằng kháng thể phát hiện (b) và hạt nano từ MNP-dAb không có từ trường (c) và có từ trường tác dụng (d). Định dạng phát hiện bao gồm tiền tạo liên kết giữa MNP-dAb với β hCG, tiếp theo là nhận biết dạng “sandwich” dựa trên độ dốc từ trường được đặt vào hệ vi lưu (e) [44].

Trong đó, cơ chế của quá trình phân tích dựa trên kỹ thuật ELISA kết hợp với hạt nano từ được chức năng hoá bởi các kháng thể (MNP-dAb), việc bắt giữ hạt nano từ được thực hiện bằng nam châm vĩnh cửu. Kết quả nghiên cứu cho thấy, việc phát hiện tác nhân β -gonadotropin ở người (β hCG) dựa trên xét nghiệm miễn dịch đã được triển khai để đánh giá độ nhạy của sơ đồ cảm biến sinh học dạng quang học dựa trên

cộng hưởng plasmon bề mặt kết hợp với cách tử (GC-SPR). Kết quả cho thấy độ nhạy của phát hiện β hCG được cải thiện 4 bậc độ lớn so với cảm biến cộng hưởng plasmon bề mặt có độ nhạy cao (SPR) thông thường, và có thể phát hiện trực tiếp với giới hạn phát hiện nhỏ hơn pM.

Khi thực hiện kỹ thuật ELISA bằng hệ vi lưu, thì các kháng thể và kháng nguyên có thể được cố định trên bề mặt của các vi kênh hoặc hạt nano từ được chức năng hoá. Tuy nhiên, việc cố định các kháng nguyên/kháng thể trên các bề mặt của vi kênh cần tiến hành thêm các bước trong quá trình chế tạo hệ vi kênh. Các bước chế tạo này có thể dẫn đến làm hỏng bề mặt của vi kênh hoặc làm giảm độ nhạy, khả năng tái tạo và độ tin cậy khi tiến hành phân tích. Vì vậy, việc cố định tác nhân là kháng nguyên và kháng thể trên bề mặt hạt nano từ có ưu thế hơn. Ngoài ra, các tác nhân này có thể được cố định trên bề mặt các hạt nano từ được chức năng hoá ở bên ngoài hoặc ngay bên trong hệ vi kênh, [41, 42].

Otieno B.A. và cộng sự, 2014 [45], mô tả sự kết hợp của một buồng phản ứng trực tiếp để thu giữ các protein đánh dấu sinh học các tế bào ung thư trên các hạt từ.



Hình 1.15. Ảnh chụp hệ thống vi lưu để bắt giữ và phát hiện protein trực tiếp bằng cách sử dụng hạt từ tính [45].

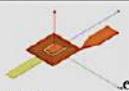
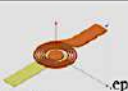
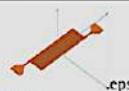
Nghiên cứu này được thực hiện với khoảng 300.000 enzyme được đánh dấu và 40.000 kháng thể miễn dịch trong hệ vi lưu (Hình 1.15): (A) Buồng phản ứng: trong đó các protein mục tiêu từ mẫu được cố định trên bề mặt hạt nano từ được gắn kháng thể HRP đã đánh dấu để tạo liên hợp sinh học hạt nano từ - protein. Các hạt từ này được rửa sạch, sau đó được bơm vào khu vực nhận biết (B) trong hệ thống vi lưu (C) riêng biệt. Nam châm vĩnh cửu (D) được dùng để bẫy các hạt nano từ - protein

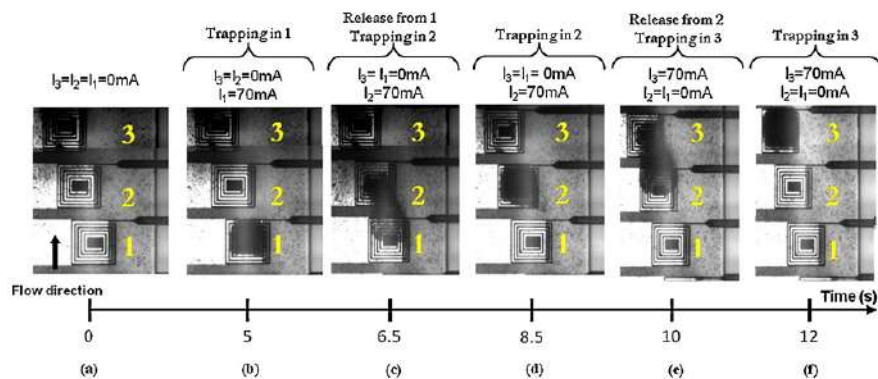
trong vi kênh khi thực hiện quá trình bơm và rửa mẫu, đồng thời các hạt từ này được lấy ra để chuyển các hạt vào khu vực nhận biết (B).

Việc sử dụng nam châm điện có thể là một giải pháp tiềm năng thay thế cho các nam châm vĩnh cửu vì các nguồn từ trường của am châm điện có thể được kiểm soát và có thời gian đáp ứng rất nhanh. Ngoài ra, nam châm điện có thể tích hợp vào hệ vi lưu thường dễ dàng nhờ có cấu trúc cuộn dây có hoặc không có lõi từ đi kèm và kích thước nhỏ. Tuy nhiên, nam châm điện tạo ra từ trường yếu hơn từ trường được tạo ra từ nam châm vĩnh cửu cùng kích thước. Do vậy, để tăng cường độ từ trường cần dòng điện có cường độ lớn đặt vào cuộn dây hoặc chúng phải được thiết kế đặc biệt với các bộ phận hỗ trợ [46]. Trong thực tế, các nam châm điện được thiết kế dựa trên một số dạng hình học như cuộn dây phẳng/xoắn ốc, cuộn dây 3D, cuộn dây có lõi vật liệu từ tính (ví dụ oxit sắt từ, Permalloy) [7, 46-48]. Cuộn dây đơn hoặc phối hợp nhiều cuộn dây đã được tích hợp trong chip vi lưu để bẫy, trộn hoặc di chuyển các hạt từ tính [47, 49, 50]. Trong trường hợp cuộn dây phẳng (được chế tạo từ cuộn dây một lớp hoặc cuộn dây nhiều lớp để cải thiện mật độ từ thông [17, 47, 51]), là hình dạng phổ biến nhất của nam châm điện. Tuy nhiên, các cuộn dây phẳng này thường có mật độ từ thông tạo ra thường thấp từ vài mT đến vài trăm mT tùy thuộc vào thông số của cuộn dây và cường độ dòng điện [52, 53]. Khi thiết kế cuộn dây, ngoài việc tạo ra mật độ từ thông hoặc lực từ cực đại, thì mức tiêu thụ điện năng/hiệu suất năng lượng và khả năng sinh nhiệt của cuộn dây cần được đánh giá cẩn thận.

R. Fulcrand và cộng sự, [47] đã thiết kế hệ Lab-on-a-Chip trên cơ sở hệ vi lưu tích hợp các cuộn dây phẳng với nhiều đầu vào và kết hợp nhiều cuộn dây phẳng siêu nhỏ. Hình 1.16 trình bày mô hình trong mô phỏng, tính toán và thiết kế các vi cuộn được đề xuất bao gồm: kết quả tính toán từ trường, lực từ của cuộn dây phẳng để bẫy và điều khiển các hạt nano từ trong chip vi lưu: (a) Dòng chất lỏng chứa các hạt nano được bơm vào hệ vi kênh chính, các cuộn dây khi mà không có dòng điện được cấp vào các cuộn dây; (b) Cuộn dây số 1 được cấp dòng điện $I = 70$ mA, và hình ảnh các hạt nano từ bị giữ lại; (c) Cuộn dây số 1 ngắt dòng điện trong khi cuộn dây số 2 được cấp dòng điện với $I = 70$ mA, hình ảnh các hạt nano từ được chuyển từ cuộn dây số 1 sang cuộn dây số 2; (d) Các hạt nano từ bị giữ lại ở trên cuộn dây 2, các cuộn dây khác không cấp dòng điện vào và các hạt nano từ được giải phóng khỏi cuộn dây, (e)

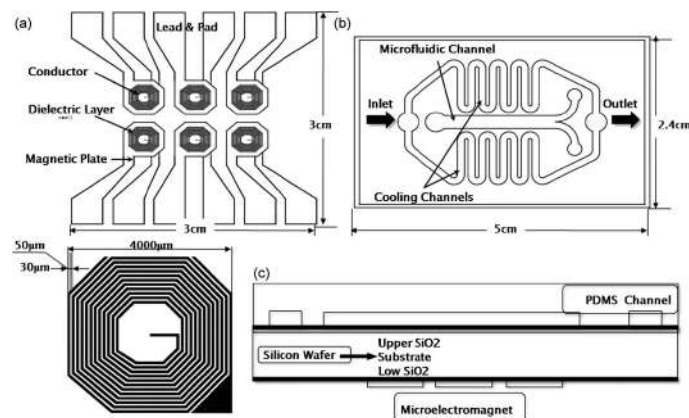
và (f) tương tự như tác động trong (d) với thứ tự cấp dòng điện và ngắt dòng điện theo tuần tự.

Microcoil design	Square	Circular	Serpentine
3D overview			
Number of turns	5,10,20	5,10,20	9,19
Wire section ($\mu\text{m} \times \mu\text{m}$)	5 x 5	5 x 5	5 x 5
Wire space (μm)	5	5	5



Hình 1.16. Thiết kế và kích thước của vi cuộn dây. Hình ảnh chụp trong vi kênh trong các thao tác bắt giữ và thả hạt nano từ một cách liên tiếp [47].

Một nhược điểm quan trọng khi sử dụng nam châm điện là sinh nhiệt do hiệu ứng Joule [50, 54]. Việc đánh giá mức tăng nhiệt độ là cần thiết đối với các chip vi lưu sử dụng trong các phép phân tích sinh học: Khoảng nhiệt độ hoạt động tùy thuộc vào hệ sinh học hoặc nhiệt độ cần được giữ dưới các giới hạn nhất định để không phá hủy các hệ sinh học. Sự gia tăng nhiệt độ bắt nguồn từ các cuộn dây có thể được khắc phục bằng một số phương án khác nhau. Song S. H. và cộng sự (2009), [55] trình bày kết quả nghiên cứu về mạng kênh làm mát được tích hợp vào chip vi lưu theo kiểu nhiều lớp để có thể thoát nhiệt từ cuộn dây, Hình 1.17.



Hình 1.17. Sơ đồ minh họa hệ thống vi điện từ/vi l trên chip; (a) vi điện từ trên chip, (b) hệ thống vi lỏng, (c) mặt trước của hệ thống.

Trong hệ thiết bị này, nước làm mát được bơm vi lượng bơm liên tục vào các vi kênh ở phía dưới cuộn dây và nhờ đó nhiệt độ của hệ được duy trì ở điều kiện thích hợp với các hệ sinh học.

Ngoài ra, một số giải pháp khác được sử dụng để giảm nhiệt độ cần thiết của hệ vi lưu khi tích hợp các cuộn dây nhằm mục đích tạo từ trường. Trong nghiên cứu của Lee H. Y và cộng sự (2006), [17] chip vi lưu tích hợp chip điện tử phức tạp dạng IC với một loạt các vi cuộn dây được lắp ráp với mô-đun Peltier (bộ làm mát nhiệt điện) để giữ nhiệt độ hệ thống ở khoảng 37°C. Đây là một ý tưởng rất hay để hạn chế sự tăng nhiệt độ trong hệ vi lưu do sự tỏa nhiệt của các cuộn dây. Yushan Z. và cộng sự (2013), [50] trình bày các phương pháp kiểm soát dòng điện chạy qua các vi cuộn dây (được bố trí dạng mảng) để hạn chế sự tăng nhiệt của chip với giá trị hợp lý. Trong đó, thay vì sử dụng các vật liệu thông thường để chế tạo hệ vi lưu (PDMS, PMMA, thủy tinh, silic,...) thì nhóm nghiên cứu đề xuất và thực hiện chế tạo hệ vi lưu từ vật liệu polyimide (vật liệu nhựa nhiệt dẻo có chứa imide). Vật liệu này có hệ số dẫn nhiệt tốt hơn (4 W/m.K) so với các polyme thông thường (PDMS: 0,16 W/m.K, PMMA: 0,19 W/m.K).

1.5. Hệ vi lưu tích hợp cảm biến điện hóa

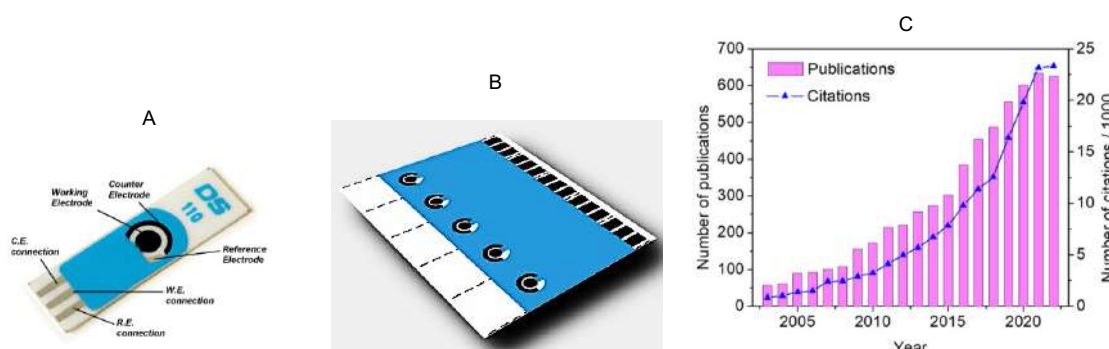
Hiện nay, các hệ phân tích điện hoá đa năng, Hình 1.18, được sử dụng như một công cụ đa năng trong xác định hàm lượng các chất với hàm lượng rất nhỏ. Trong đó, các hệ máy phân tích điện hoá này sử dụng các hệ điện cực đặc thù (thường là dạng hình trụ) và đa dạng về hình dạng. Điều này dẫn đến một số loại điện cực không phù hợp cho việc tích hợp phân tích trong hệ vi lưu.



Hình 1.18. Hệ phân tích điện hoá đa năng AutoLab (PGSTAT302N) của Hà Lan

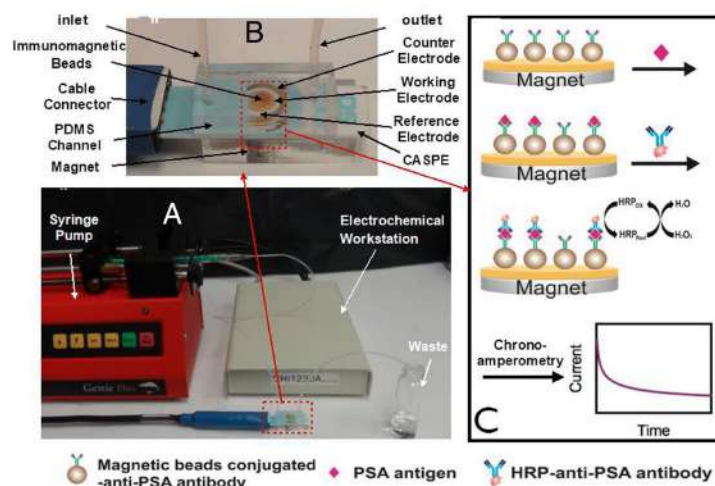
Chính vì vậy, một số hãng đã thiết kế ra các dạng điện cực đặc thù cho các ứng dụng. Để có thể tích hợp các hệ điện cực có chức năng tương tự như hệ phân tích được

mô tả trong Hình 1.19.A thì các hãng đã phát triển các hệ điện cực dạng phẳng (điện cực dạng mạch in - screen printed electrode (SPE)) được tích hợp cả ba điện cực (điện cực làm việc - working electrode; điện cực đối - counter/auxiliary electrode; điện cực so sánh - reference electrode). Ngoài ra, các SPE này còn được phát triển thành các hệ phân tích điện hoá đa kênh với sự kết hợp nhiều điện cực đơn lẻ trong một phép đo, Hình 1.19.B. Nhờ đó, phân tích điện hoá có thể thực hiện nhiều mẫu đo đồng thời trên hệ máy đa kênh, đồng thời tiết kiệm thời gian và cho kết quả đánh giá nhanh hơn. Do cấu trúc điện cực là dạng phẳng (có độ dày từ vài chục đến vài trăm μm) nên việc tích hợp chúng vào các hệ vi lưu để thực hiện các phép phân tích điện hoá trở nên dễ dàng hơn. Chính vì vậy, hệ vi lưu tích hợp cảm biến điện hóa dạng mạch in sẽ là đối tượng nghiên cứu chính của luận án này. Hình 1.19.C cho thấy sự phát triển mạnh mẽ trong chế tạo và ứng dụng hệ SPE đã và đang được phát triển rất nhanh, đặc biệt trong lĩnh vực cảm biến điện hoá cho phân tích hoá học hoặc sinh học.



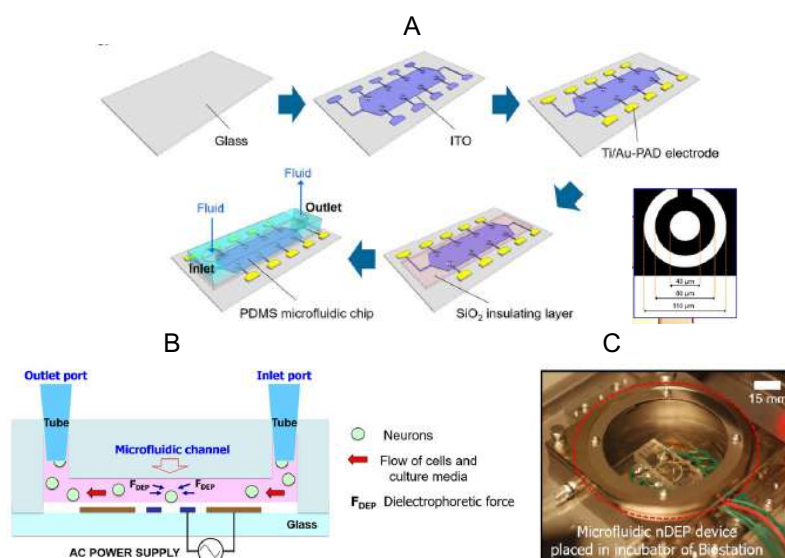
Hình 1.19. (A) Điện cực dạng mạch in của hãng Dropsens/Metrohm, Hà Lan. (B) Điện cực dạng mạch in dạng mảng của hãng Nanochemazone (Canada). (C) Số lượng công bố với từ khoá điện cực mạch in (SPE) từ dữ liệu Web of Science trong giai đoạn 2000-2022, theo thống kê của Silva R. M. và cộng sự [56].

Shouhui Chen và cộng sự (2019), [57] phát triển hệ vi lưu tích hợp cảm biến điện hoá là điện cực SPE thương mại (DS 220AT). Hình 1.20 mô tả hệ thiết bị vi lưu và phép phân tích kháng nguyên đặc hiệu tuyến tiền liệt (PSA) bằng cảm biến điện hoá tích hợp vào hệ vi lưu. So với các quy trình chế tạo vi mô truyền thống, phương pháp này đơn giản, nhanh chóng, chi phí thấp và cũng phù hợp để sản xuất hàng loạt. Thiết bị vi lưu tích hợp điện cực SPE này có thể thực hiện phép phân tích với giới hạn phát hiện là 0,84 pg/mL (25,8 fM) và độ tuyến tính tốt với nồng độ PSA nằm trong khoảng từ 0,001 đến 10 ng/mL .



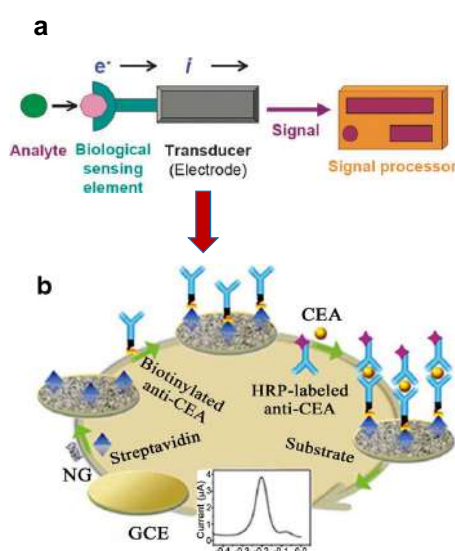
Hình 1.20. Hệ microfluidic đơn giản tích hợp điện cực mạch in SPE trong phân tích prostate-specific antigen (PSA), [57].

Ngoài các hệ SPE đã được thương mại hoá trên thị trường, các hệ SPE có thể tự chế tạo nhằm thực hiện các quá trình biến tính bề mặt điện cực SPE cơ bản phục vụ cho các mục đích nghiên cứu và phát triển riêng. Việc biến tính bề mặt các điện cực SPE cơ bản nhằm tăng cường tính hiệu và độ đặc hiệu của điện cực ban đầu. Việc này rất hữu ích khi cần nâng cao giải nhận biết, độ lặp lại, hay giới hạn của phép đo. Thiết bị điện di (dielectrophoresis - DEP) vi lưu trong suốt được thiết kế và chế tạo mới nhóm Kim, H. và cộng sự (2018), [58], sử dụng hệ đa điện cực (electrode array) để theo dõi không xâm lấn các tế bào sinh học trong khoảng thời gian dài các thông số điện sinh lý cũng như một kỹ thuật khó quan sát và không phá hủy trong quá trình kiểm soát tế bào thần kinh, Hình 1.21.



Hình 1.21. (A – B). Thiết kế hệ vi lưu tích hợp điện cực SPE tự chế tạo. Hình ảnh thiết bị DEP vi lưu [58].

Như đã đề cập, việc sử dụng điện cực SPE và hệ vi lưu trong chế tạo cảm biến sinh học và chip vi lưu phân tích sinh học đã và đang có những thành tựu rất khả quan. Trong thực tế, có rất nhiều các dạng cảm biến hoặc cảm biến sinh học khác nhau dựa trên nền điện cực SPE được dụng trong các lĩnh vực khác nhau. Đối với cảm biến sinh học, khi thực hiện các phép đo xác định nồng độ của một chất trong một chất nền khác thường rất phức tạp. Việc nhận biết thường dựa trên hai thành phần chủ đạo trong mẫu đo bao gồm hai phần chính: phần tử nhận biết sinh học xác định có chọn lọc chất phân tích quan tâm và đầu dò ghi nhận và chuyển đổi thành một tín hiệu có thể đo được, Hình 1.22 [59].



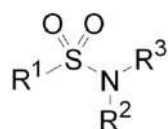
Hình 1.22. (a) Một sơ đồ đại diện của một cảm biến sinh học với quá trình truyền điện hóa, [59]. (b) Sơ đồ minh họa phản ứng trên cảm biến sinh học [60].

Tóm lại: đối với đối tượng nhận biết là kháng sinh, các nghiên cứu cho thấy: ngoài các phương pháp truyền thống như GC; GC-MS; HPLC,... thì phân tích bằng điện hoá là một trong những kỹ thuật cho kết quả đáng khích lệ và có thể tiến tới những kỹ thuật chuẩn có thể cho các kết quả đáng tin cậy. Phần sau đây sẽ trình bày kỹ hơn về kháng sinh và các phương pháp phân tích kháng sinh hiện nay.

1.6. Giới thiệu thuốc kháng sinh Sulfamethoxazole và phương pháp phân tích hàm lượng kháng sinh

1.6.1. Giới thiệu chung về kháng sinh nhóm Sulfamid

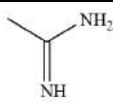
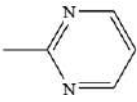
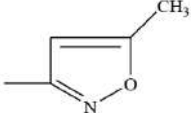
Các sulfamid kháng khuẩn là dẫn chất của p- aminobenzensulfonamid (sulfonamid gọi tắt là sulfamid), có công thức cấu tạo chung là:



Trong đó R₂ thường là H, nhóm chức khi đó là amin và tạo ra hoạt tính kháng khuẩn. Khi R₂ ≠ H được gọi là tiền thuốc; Gốc R₁ và R₃ = mạch thẳng hoặc dị vòng với 2 - 3 dị tố (thường có tính kháng khuẩn mạnh hơn), [61].

Thuốc kháng sinh nhóm Sulfamid có vai trò quan trọng trong việc tranh chấp/ngăn cản hợp chất *para* - amino benzoic axit cần thiết cho vi khuẩn phát triển, đồng thời, gây ức chế dihydrofolat synthetase (enzym tham gia tổng hợp axit folic). Phổ kháng khuẩn của sulfamid rất rộng (về lý thuyết): hầu hết các cầu khuẩn, trực khuẩn gram (+) và (-). Tuy nhiên, do hiện nay tỷ lệ kháng thuốc và kháng chéo giữa các sulfamid rất cao dẫn đến cần phải hạn chế sử dụng sulfamid trong tương lai. Trong thực tế, kháng sinh nhóm này thường được kết hợp với kháng sinh thay thế thay vì sử dụng dạng đơn (thường dùng dạng phối hợp sulfamethoxazole với trimethoprim) để tăng khả năng điều trị của thuốc. Bảng 1.2 tổng hợp một số công thức cấu tạo của sulfamid phổ biến.

Bảng 1.2. Công thức cấu tạo của một số sulfamid phổ biến

Stt	Tên	Công thức	R ₁	R ₂
1	Sufaguanidin	C ₇ H ₁₀ N ₄ O ₂ S		-H
2	Sulfadiazin	C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O ₂ S		-H
3	Sulfamethoxazole	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S		-H

1.6.2. Phân loại Sulfamid

Kháng sinh nhóm sulfamid là kháng sinh nhóm có tác dụng kháng/ức chế vi khuẩn. Các sulfamid thường được chia thành 4 loại chính, [61]:

- Nhóm sulfamid hấp thu nhanh, thải trừ nhanh: nồng độ tối đa trong máu sau uống là 2 - 4 giờ. t/2 = 6 - 8 giờ, thải trừ 95% trong 24 giờ. Gồm sulfadiazin, sulfisoxazol (Gantrisin), sulfamethoxazole (Gantazol). Dùng điều trị nhiễm khuẩn theo đường máu.

- Nhóm sulfamid hấp thu rất ít: dùng chữa viêm ruột, viêm loét đại tràng. Gồm sufaguanidin (Ganidan), salazosulfapyridin (Salazopyrin).

- Nhóm sulfamid thải trừ chậm: duy trì được nồng độ điều trị trong máu lâu, t/2 có thể tới 7 – 9 ngày nên chỉ cần uống một lần ngày. Hiện dùng sulfadoxin (Fanasil), phối hợp với pyrimethamin trong Fansidar để dự phòng và điều trị sốt rét kháng cloroquin.

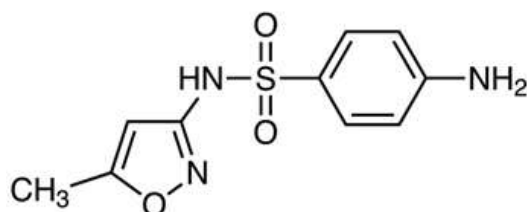
- Nhóm sulfamid để dùng tại chỗ: ít hoặc khó tan trong nước. Dùng điều trị các vết thương tại chỗ (mắt, vết bỏng) dưới dạng dung dịch hoặc kem. Có sulfacetamid, silver sulfadiazin, mafenid.

Do các chủng vi khuẩn dễ kháng với dòng đơn kháng sinh sulfamid, nên kháng sinh dòng này ít được sử dụng dưới dạng đơn kháng sinh mà thường dùng sulfamid ở dạng phối hợp với các kháng sinh khác. Trên thị trường, kháng sinh là dạng kết hợp giữa sulfamethoxazole và trimethoprim với tỉ lệ 1 trimethoprim và 5 sulfamethoxazol tăng hiệu quả điều trị và giảm tỉ lệ kháng thuốc của vi khuẩn, thuốc hấp thu tốt qua đường tiêu hóa.

1.6.3. Giới thiệu về kháng sinh Sulfamethoxazole

Như đã trình bày ở trên, trong số những kháng sinh nhóm sulfamid đã được tổng hợp thì Sulfamethoxazole (SMX) là một trong những hoạt chất được sử dụng phổ biến nhất hiện nay trong điều trị các bệnh nhiễm khuẩn đường tiêu hoá, có tác động trung gian dùng trị nhiễm trùng đường tiểu, sinh dục, nhiễm trùng da, có phổ kháng khuẩn rộng, tác động trên vi khuẩn Gram âm và dương. Đặc biệt được sử dụng nhiều trong chăn nuôi.

Sulfamethoxazole có công thức hoá học: $C_{10}H_{11}N_3O_3S$, và công thức cấu tạo dạng:



Hình 1.23. Công thức cấu tạo của Sulfamethoxazole

SMX được sản xuất ở dạng bột ít hoặc không tan trong nước và dễ tan trong dung môi aceton, tan ít trong ethanol, tan trong dung dịch natri hydroxyd loãng và dung dịch acid loãng, [62].

Tuy nhiên, do giá rẻ, sử dụng dễ dàng và vẫn chưa bị cấm sử dụng trong chăn nuôi (theo Thông tư 10/2016/TT-BNNPTNT) nên liều lượng thuốc kháng sinh cũng như quy trình sử dụng cần phải được kiểm soát để tránh hiện tượng kháng thuốc và dư lượng kháng sinh cao trong sản phẩm chăn nuôi. Hiện nay, theo luật chăn nuôi có hiệu lực từ 01/01/2020 và nghị định 46/2022/NĐ-CP đã quy định không được phép bổ sung kháng sinh trong thức ăn chăn nuôi. Do vậy, kháng sinh chỉ được phép sử dụng dưới dạng thuốc kê đơn theo quy định của Cục Thú y. Việc lạm dụng kháng sinh trong điều trị và phòng bệnh vẫn khó kiểm soát, điều này sẽ ảnh hưởng trực tiếp và nghiêm trọng đến sức khỏe của con người. Vì vậy, Tổ chức y tế thế giới (WHO) và các nước phát triển ở Châu Âu và Châu Mỹ đã có những quy định nghiêm ngặt trong việc sử dụng các loại kháng sinh trong chăn nuôi khác với các loại kháng sinh dùng cho người. Ở Việt Nam, việc giám sát dư lượng các chất độc hại (bao gồm cả dư lượng kháng sinh) trong động vật và sản phẩm động vật thủy sản nuôi được quy định rõ trong thông tư 31/2015/TT-BNNPTNT. Không chỉ ở Việt Nam, tại Mỹ theo Cục quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Mỹ (FDA), 80% tổng số sử dụng kháng sinh ở Hoa Kỳ là trong nông nghiệp, với lợn và gia cầm nhận được từ 5 - 10 lần thuốc kháng sinh nhiều hơn bò và cừu. Mặc dù không có trường hợp nào được báo cáo về tác dụng phụ ở người khi tiêu thụ thực phẩm có chứa dư lượng sulfonamide, dư lượng sulfonamide trong thực phẩm vẫn là một loại thuốc được cơ quan quản lý trên toàn thế giới quan tâm vì nhiều lý do. Các cơ quan quản lý dược phẩm, thực phẩm tại các quốc gia đã đánh giá dữ liệu độc chất có sẵn cho sulfonamid và xác định mức dung sai hoặc giới hạn dư lượng tối đa (maximum residue limits - MRL) là 0,1 µg/g (0,1 ppm) đối với dư lượng sulfonamide trong thực phẩm chế biến thành các món ăn. Ở người, các tác dụng phụ đã biết liên quan đến sulfonamid bao gồm buồn nôn, tiêu chảy, chán ăn, rối loạn đường tiết niệu, rối loạn chuyển hóa porphyrin và phản ứng quá mẫn cảm, [63]. Đào thải kháng sinh SMX dùng đường uống được hấp thu tốt qua đường tiêu hóa và phân phối đến mô qua máu và thải trừ chủ yếu qua thận và một số qua phân, [64].

1.6.4. Phương pháp phân tích hàm lượng nhóm Sulfamid

1.6.4.1. Phương pháp sắc ký lỏng

Trong kiểm định thuốc, thì dược điển Việt Nam và dược điển Mỹ quy định: các hoạt chất kháng sinh trong nhóm sulfamid được xác định bằng phương pháp tiêu chuẩn là sắc ký lỏng (LC) hoặc sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) kết hợp quang phổ tử ngoại (UV) hoặc khối phổ (MS) với pha động là hỗn hợp của 700 ml nước, 200 ml acetonitril và 1 ml triethylamin. Điều kiện sắc ký gồm cột thép không gỉ (30 cm x 3,9 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 μ m) với detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm, tốc độ dòng là 2,0 ml/phút, thể tích tiêm mẫu 20 μ l (dược điển Việt Nam) và cột C18 (250 x 4,6 mm; 5 μ m), detector UV 254 nm, tốc độ dòng là 1,8 ml/phút, thể tích tiêm 20 μ l (dược điển Mỹ). Nhóm tác giả Phạm Thị Thanh Yên và cộng sự (2015), [65] trình bày các kết quả nghiên cứu phân tích các kháng sinh sulfathiazole (STZ), sulfamethazine (SMZ), sulfamethoxazole (SMX), sulfamerazine (SMR) trong nước mặt bằng phương pháp LC/MS/MS. Kết quả cho thấy giới hạn phát hiện và định lượng được tính cho tất cả các hợp chất lần lượt trong khoảng từ 0,05 – 0,16 μ g/L và 0,14 -0,49 μ g/L.

1.6.4.2. Phương pháp xét nghiệm miễn dịch ELISA và quang học

Kỹ thuật ELISA là một trong những kỹ thuật phổ biến được biết đến trong xác định dư lượng thuốc kháng sinh trong chăn nuôi. Đây là kỹ thuật khá nhạy và đơn giản, cho phép xác định kháng nguyên hoặc kháng thể ở nồng độ rất thấp (khoảng 0,1 ng/ml). So với kỹ thuật phóng xạ thì kỹ thuật này kinh tế và an toàn hơn mà vẫn đạt độ chính xác như nhau. Hiện nay, kỹ thuật phân tích ELISA dùng để xác định dư lượng kháng sinh đã được quy định như một phương pháp tiêu chuẩn dùng để đánh giá dư lượng kháng sinh trong sản phẩm chăn nuôi.

Bingyao Du và cộng sự (2019), [66], trình bày kết quả nghiên cứu và kỹ thuật sử dụng ma trận chip sinh học (microarray chip) trong phân tích miễn dịch ELISA để phát hiện đồng thời nhiều phân tử mục tiêu. Trong nghiên cứu này, kỹ thuật đo màu được sử dụng để quan sát kết quả trực tiếp hoặc có thể được phát hiện bằng cách sử dụng máy quét vi bản thương mại thông thường. Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng giới hạn phát hiện (LOD) được tính lần lượt là 3,30; 3,39; 2,42 và 4,88 μ g.kg⁻¹ và giới hạn định lượng (LOQ) được xác định lần lượt là 8,97; 8,43; 5,36 và 10,97 μ g.kg⁻¹ đối

với các kháng sinh quinolone, tetracycline, lincomycin và streptomycin. Độ chính xác của phương pháp cũng phù hợp với bốn chất này với tỷ lệ thu hồi nằm trong khoảng từ 77,6% đến 116,4% đối với các mẫu thực là sữa.

Phương pháp phát hiện quang là phương pháp phát hiện phổ biến nhất, trong đó phát hiện dựa trên tín hiệu huỳnh quang được sử dụng rộng rãi do tính chất đơn giản của kỹ thuật này. Các thiết bị vi lưu có thể dễ dàng kết hợp với các chế độ phát hiện và kích thích huỳnh quang cũng như có khả năng phát hiện các mẫu có thể tích nhỏ. Một vài kỹ thuật phát hiện sử dụng huỳnh quang gần đây được phát triển để đưa vào thiết bị vi lưu như: ảnh thời gian sống huỳnh quang (fluorescence lifetime - imaging (FLIM)), chụp ảnh đơn phân tử sử dụng thông lượng cao (high - throughput single - molecule imaging), phân tích đa màu (multicolor analyses), phổ Raman tăng cường bề mặt (surface - enhanced Raman spectroscopy) và phát hiện cộng hưởng plasmon bề mặt (surface plasmon resonance detection = SPR).

Phương pháp có ưu điểm độ chính xác cao và độ chọn lọc cao, nhanh chóng. Nhược điểm là chỉ có thể áp dụng với các chất có tính chất quang học, khoảng nồng độ tuyến tính nhỏ và phải sử dụng các chất tạo màu, phải đảm bảo các điều kiện phân tích như pH, dung môi phù hợp cho các thí nghiệm. Đây là phương pháp sử dụng trong phòng thí nghiệm tiêu chuẩn.

1.6.4.3. Phương pháp điện hóa

a. Xác định hàm lượng sulfonamid bằng điện cực không biến tính

Các điện cực không biến là các điện cực nguyên bản không qua các biến tính bề mặt bằng các vật liệu khác, các điện cực này vẫn thường được sử dụng rộng rãi để phát hiện điện hóa các sulfonamid trong các công thức dược phẩm, nước môi trường và thực phẩm. Trong số các điện cực thường được sử dụng: than – thủy tinh (glassy carbon), điện cực kim loại quý (Au, Pt,..) thì cảm biến điện hóa dựa trên vật liệu carbon được sử dụng rộng rãi để xác định sulfonamid do các tính năng độ dẻo của chúng so với các điện cực khác [67]. Điện cực phủ carbon (dạng phẳng) thường có tính trơ hóa học nhất định, chi phí thấp, dễ chuẩn bị, độ bền cao, điện trở thấp, phản ứng ổn định và khả năng tái tạo, [67, 68]. Những đặc điểm này làm cho điện cực dán carbon trở thành công cụ thích hợp để cảm nhận điện hóa với nhiều ứng dụng.

Kết quả nghiên cứu khác công bố rằng: khi so sánh về hiệu suất phân tích của các điện cực dán dựa trên than chì, muội than, muội than axetylen, thuốc nano cacbon, ống nano cacbon đa vách và bột cacbon thủy tinh cho sulfonamid. Các điện cực dán dựa trên bột nano cacbon được cho là nhạy cảm nhất với sulfamethoxazole. Điện cực này đã được ứng dụng thành công để định lượng sulfamethoxazole trong viên dược phẩm và nước, [67]. Các ấn phẩm trước đây đã báo cáo việc sử dụng các cảm biến điện hóa dựa trên kim cương pha tạp chất boron để phát hiện điện hóa các sulfonamid, [68, 69], để định lượng sulfadiazine và sulfamethoxazole trong công thức dược phẩm.

b. Xác định hàm lượng sulfonamid bằng điện cực biến tính

Các công bố gần đây đã tập trung vào việc sử dụng vật liệu nano, nanocompozit, polyme dẫn điện và polyme in dấu phân tử (MIP) để biến tính các điện cực làm việc (working electrode) nhằm phát hiện chọn lọc các sulfonamid ở nồng độ thấp. Trên thực tế, việc sử dụng vật liệu nano cho phép tăng cường tín hiệu điện và cải thiện tính chọn lọc liên quan đến quá trình oxy hóa sulfonamid. Đặc biệt, các ống nano cacbon nhiều vách cải thiện sự truyền điện tử giữa các loại điện cực và bề mặt điện cực và do đó thể hiện các đặc tính xúc tác cao. Do đó, chúng đã được sử dụng rộng rãi trong nhiều ứng dụng.

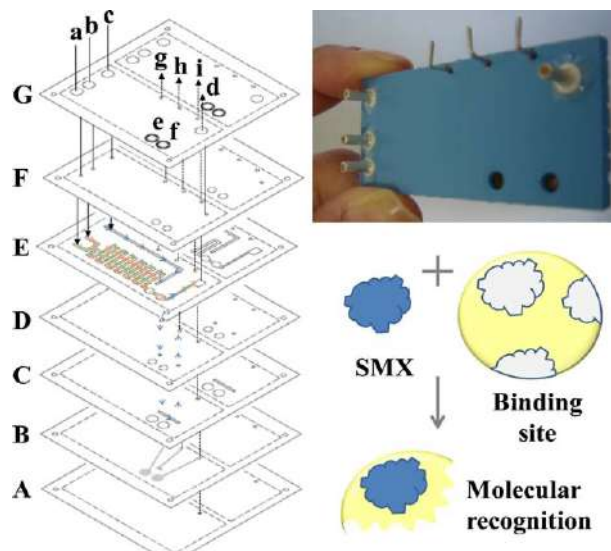
Các ống nano carbon cung cấp độ dẫn điện cao, ổn định hóa học và độ bền cơ học. Các ống nano cacbon nhiều thành, ống nano cacbon nhiều thành có chức năng và hỗn hợp với nanocompozit được sử dụng rộng rãi do tính chất dẫn điện cao của chúng để sửa đổi bề mặt của điện cực cacbon thủy tinh cho sulfonamid trong các mẫu thực [70, 71]. Sogobi và cộng sự (2016), [72], đã phát triển một cảm biến được biến tính mới để phát hiện sulfonamide. Cảm biến này dựa trên các điện cực in trên màn hình được biến tính bằng các ống nano carbon đa vách và phủ một lớp ống nano Prussian để cung cấp xúc tác điện hoá cho quá trình oxy hóa sulfonamide. Cảm biến được phát triển đã được áp dụng để xác định đồng thời độ nhạy và chọn lọc của sulfamethoxazole và trimethoprim với giới hạn phát hiện là 60,0 nM đối với trimethoprim và 38,0 nM đối với sulfamethoxazole. Hơn nữa, phương pháp đã phát triển cho thấy hiệu quả tốt để xác định sulfamethoxazole và trimethoprim trong nước tiểu nhân tạo.

c. Xác định kháng sinh trên cơ sở hệ vi lưu

Theo nhận định của các công bố về việc xác định hàm lượng kháng sinh tồn dư trong các sản phẩm nông nghiệp, chăn nuôi đang là vấn đề cấp bách. Đồng thời cần thiết phải phát triển các phương pháp mới có tính linh động cao hơn so với các phương pháp truyền thống, trong đó các hệ thiết bị sử dụng hệ vi lưu đang được quan tâm và phát triển [73].

Các công bố về các mô đun cơ bản của một hệ thống phân tích vi lưu trong khoa học thực phẩm đã được giới thiệu trong công bố của Atalay và cộng sự (2011), [74], trong đó những thách thức từ sự phức tạp của các vấn đề liên quan trong các sản phẩm thực phẩm. Một thách thức khác đến từ chi phí cao của vật liệu sản xuất và các kỹ thuật thu nhỏ kích thước. Trong những năm gần đây kể từ 2010, kỹ thuật phân tích vi lưu đã được cải tiến rất nhiều cho phép thực hiện quá trình phân tích nhanh các chất độc hại trong thực phẩm, bao gồm một số loại nấm độc (Guo và cộng sự (2015), [75]), dư lượng các chất thuốc trừ sâu (Yang và cộng sự (2017), [76]) và các chất hóa học nguy hiểm khác (Hua và cộng sự (2018), [77]). Kỹ thuật phân tích dòng chảy bằng hệ vi lưu cũng được áp dụng để thiết kế hệ thống vận chuyển độc hại trong thực phẩm (Feng và cộng sự (2019), [78]), và phân tích nhanh kháng sinh kháng cự ở mức độ tế bào đơn hoặc phân tử đơn (Perebikovskiy và cộng sự (2021), [79]; Zhang và cộng sự (2020), [80]).

Trong đó, sử dụng hệ vi lưu trong phân tích kháng sinh dòng Sulfonamide và cụ thể là kháng sinh sulfomethaxazone (SMX), Almeida và cộng sự, 2011, [81] đã tạo ra thiết bị đo điện thế vi lưu bằng gốm được nung ở nhiệt độ thấp (LTCC). Trong hệ thiết bị này một lớp vật liệu cảm quan dựa trên các kháng thể nhựa được thiết kế bằng phương pháp Sol-gel và sử dụng kỹ thuật in dấu phân tử cho mục đích phân tích. Trên cơ sở các hạt silica được biến đổi bằng hợp chất amin và liên kết với SMX thông qua biến đổi glutaraldehyde. Trong các điều kiện tối ưu phân tích, cảm biến SMX có thể phát hiện được trong phạm vi từ 12,7 đến 250 $\mu\text{g/mL}$ và giới hạn phát hiện là 3,85 $\mu\text{g/mL}$. Hệ phân tích này cho kết quả nhanh, thời gian phân tích ngắn và có thể đạt công suất lấy mẫu là 36 mẫu/h. Hệ thiết bị vi lưu sử dụng cho phân tích được mô tả trong Hình 1.24.



Hình 1.24. Các lớp thiết bị LTCC (ở bên trái; các đường chấm chấm biểu thị tiếp điểm điện với thiết lập bên ngoài và các đường liền nét thể hiện các kết nối thủy lực; trong đó (a) đầu vào dung dịch đệm; (b) dung dịch chất mang; (c) đầu vào KCl; (d) đầu ra; (e) và (f) khoang lắng đọng màng; (g, h) và (i) kết nối điện với thiết lập bên ngoài. Ảnh chụp thiết bị tương ứng (trên, bên phải) và Cơ chế nhận biết SMX với ligand (dưới, bên phải).

CHƯƠNG 2. THỰC NGHIỆM VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Hoá chất và thiết bị.

2.1.1. Hoá chất.

a. Hoá chất cho chế tạo hệ vi lưu:

- Poly(dimethylsiloxane) - PDMS Sylgard[®] 184 từ hãng Dow Corning, Mỹ.
- Chất cảm quang âm (negative photoresist) SU - 8 3050 và dung dịch SU-8 developer từ hãng MicroChem, phân phối qua hãng Kayaku Advanced Materials, Inc., Mỹ.
- Chất cảm quang dương (positive photoresist) AZ4562 và dung dịch AZ 400K developer của hãng Microchemicals GmbH, Đức.
- Đê silicon (loại P-100) và thủy tinh (loại BK-7), của hãng UniversityWafer Inc. US.
- Đồng (II) sunfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) tinh khiết (PA), Trung Quốc.
- Điện cực Cu (99,99 %), Việt Nam.
- Acetone, ethanol, isopropanol (IPA), H_2SO_4 (98%); HNO_3 (65%); HF (40%); H_2O_2 (30%) (tinh khiết, PA) Trung Quốc.

b. Hoá chất cho thử nghiệm bắt giữ hạt nano từ, và các ứng dụng phân tích.

- Hạt nano từ Dynabeads[®] MyOne[™] Carboxylic Acid (Catalog number: 65012 (10 mL) kích thước hạt trung bình 1,05 μm của hãng ThermoFisher Scientific).
- Dopamine Hydrochloride (DA) ($(\text{HO})_2\text{C}_6\text{H}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{HCl}$), Merck.
- Axit boric (H_3BO_3) tinh khiết (PA), Trung Quốc.
- Kali ferricyanat ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$) tinh khiết (PA), Trung Quốc.
- Kali ferrocyanat ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$) tinh khiết (PA), Trung Quốc.
- Đồng (II) sunfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) tinh khiết (PA), Trung Quốc.
- Graphit vẩy loại tinh khiết >99%, Lào Cai, Việt Nam
- Natri nitrat (NaNO_3), Trung Quốc.
- Axit sunfuric (H_2SO_4) 98%, Trung Quốc.
- Hydro peoxit (H_2O_2) 30%, Trung Quốc

- Kali pemanganat (KMnO₄), Trung Quốc
- Graphen oxit (GO) được điều chế theo phương pháp Hummers sử dụng hỗn hợp H₂SO₄, NaNO₃, KMnO₄ và H₂O₂
- Dung dịch đệm photphat 0,2 M (PB 0,2 M), được điều chế từ Na₂HPO₄.H₂O và NaH₂PO₄.H₂O
- Sulfamethoxazole (SMX) C₁₀H₁₁N₃O₃S, CAS No. 723-46-6, Trung Quốc
- Thuốc kháng sinh T.T.S Năm Thái (Sulfamethoxazole: 20,0 g; Trimethoprim: 4,0 g; Dung môi vừa đủ: 100 ml), Công ty Thú y Năm Thái, Việt Nam.

2.1.2. Thiết bị sử dụng trong chế tạo hệ vi lưu và các mô đun chức năng

- Các quy trình chế tạo hệ vi lưu và các mô đun chức năng tích hợp trong hệ vi lưu được thực hiện tại:

(1). Phòng sạch thuộc Trung tâm Nano và Năng lượng, Trường Khoa học Tự nhiên (VNU – NEC), Đại học Quốc gia Hà Nội;

(2). Phòng sạch thuộc trung tâm Khoa học Nano và Công nghệ Nano (Centre for Nanoscience and Nanotechnology), Đại học Paris Saclay, Pháp.

(3). Phòng thí nghiệm Hoá lý, Viện Kỹ thuật Hoá học, Trường Đại học Bách Khoa Hà Nội.

- *Các thiết bị chính được sử dụng trong chế tạo:*

+ Hệ quang khắc Lithography OAI (các thiết bị phụ trợ khác: hệ phủ quay (spincoating), lò ủ nhiệt mở (hot plate). Tủ sấy Memmert UN55.

+ Hệ cắt phiến silic (wafer dicing);

+ Hệ phún xạ Syskey (Cathode Sputtering deposition);

+ Hệ ăn mòn khô (ion beam etching – IBE (Roth & Rau IonSys 500);

+ Hệ điện phân có điều khiển dòng điện AutoLab + Booster 10A, Metrohm.

- *Thiết bị hỗ trợ trong khảo sát độ kín của vi kênh và hệ vi lưu.*

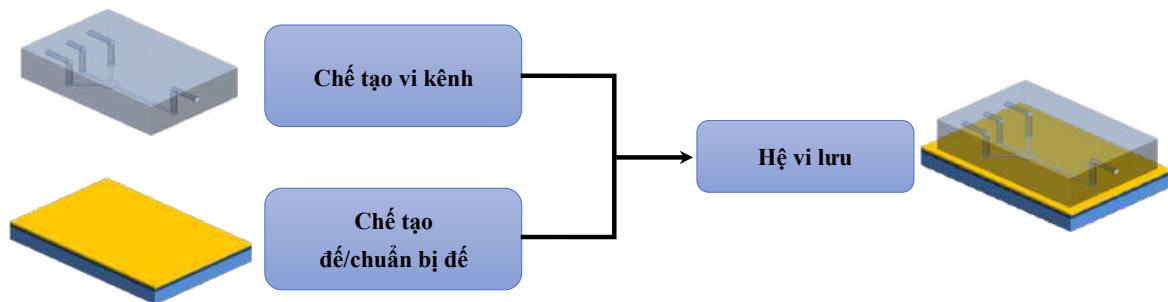
+ Hệ bơm vi lượng (micro syringe pump) RaZEL™ R99-FMZ

+ Kính hiển vi soi nổi kết nối máy tính Labomed.

2.2. Quy trình chế tạo hệ vi lưu

Trong phần kết quả nghiên cứu ở các chương sau đều sử dụng các hệ vi kênh được chế tạo từ vật liệu PDMS. Mặt khác, các hệ vi kênh này có quy trình chế tạo giống nhau và chỉ khác ở thiết kế dạng và kích thước của vi kênh. Vì vậy tác giả trình bày quy trình chế tạo vi kênh chung để từ đó áp dụng cho các nội dung nghiên cứu sau và tránh sự lặp lại trong từng phần. Trong luận án này sử dụng kỹ thuật kẹp vi kênh lên đế bằng kế cấu cơ khí với mục tiêu tái sử dụng nhiều lần phần đế. Vì vậy quy trình gắn vi kênh lên đế được trình bày chung và sử dụng cho các phần nghiên cứu trong Chương 4; Chương 5; Chương 6.

Đối với vi kênh sử dụng vật liệu PDMS thì quy trình chế tạo hệ vi lưu bao gồm ba công đoạn chính, các bước chế tạo được mô tả trong Hình 2.1:



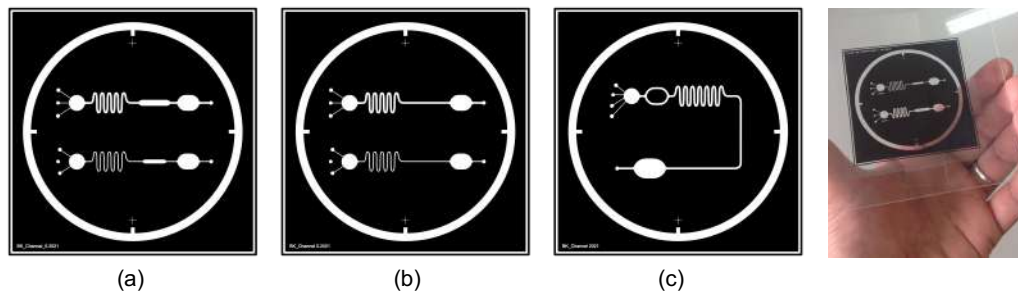
Hình 2.1. Các bước chế tạo hệ vi lưu

- ✓ *Quy trình chế tạo vi kênh bằng vật liệu PDMS gồm các bước:*
 - + Thiết kế dạng vi kênh và chế tạo mặt nạ (Mask) cho vi kênh.
 - + Chế tạo khuôn đúc vi kênh bằng chất cảm quang SU-8 3050 theo kỹ thuật quang khắc (Lithography).
 - + Đúc vi kênh theo kỹ thuật đúc nguyên khối (replica molding process).
 - + Gỡ vi kênh ra khỏi khuôn, cắt, đục lỗ theo thiết kế hệ vi lưu
- ✓ *Chuẩn bị đế đế (có thể chứa hoặc không chứa các mô đun chức năng):*
- ✓ *Gắn vi kênh lên đế (Packaging):*
 - + Gắn vi kênh lên đế bằng kỹ thuật ghép cơ khí.

2.2.1. Thiết kế và chế tạo dạng vi kênh bằng vật liệu PDMS.

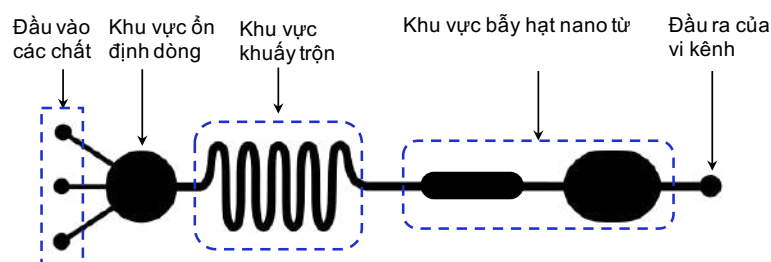
2.2.1.1. Thiết kế và chế tạo mặt nạ (mask).

Đầu tiên, vi kênh được thiết kế bằng các phần mềm vẽ vector chuyên dụng Inkscape Ver. 1.2.2. Phần mềm này phù hợp cho thiết kế các kênh có thiết kế đơn giản kích thước không quá nhỏ ($> 20 \mu\text{m}$). Mặt nạ được thiết kế và được in lưới hoặc in phun mật độ cao trên các tấm polyme (thường là polycarbonate). Hình 2.2 mô tả thiết kế một loại mặt nạ điển hình bằng phần mềm Inkscape và in trên nền tấm polycarbonate.



Hình 2.2. (a) Thiết kế mặt nạ (mask) cho vi kênh bằng phần mềm Inkscape và được in trên vật liệu polycarbonate. (b – c) Vi kênh chứa mô đun khuấy trộn và vị trí bắt hạt nano từ.

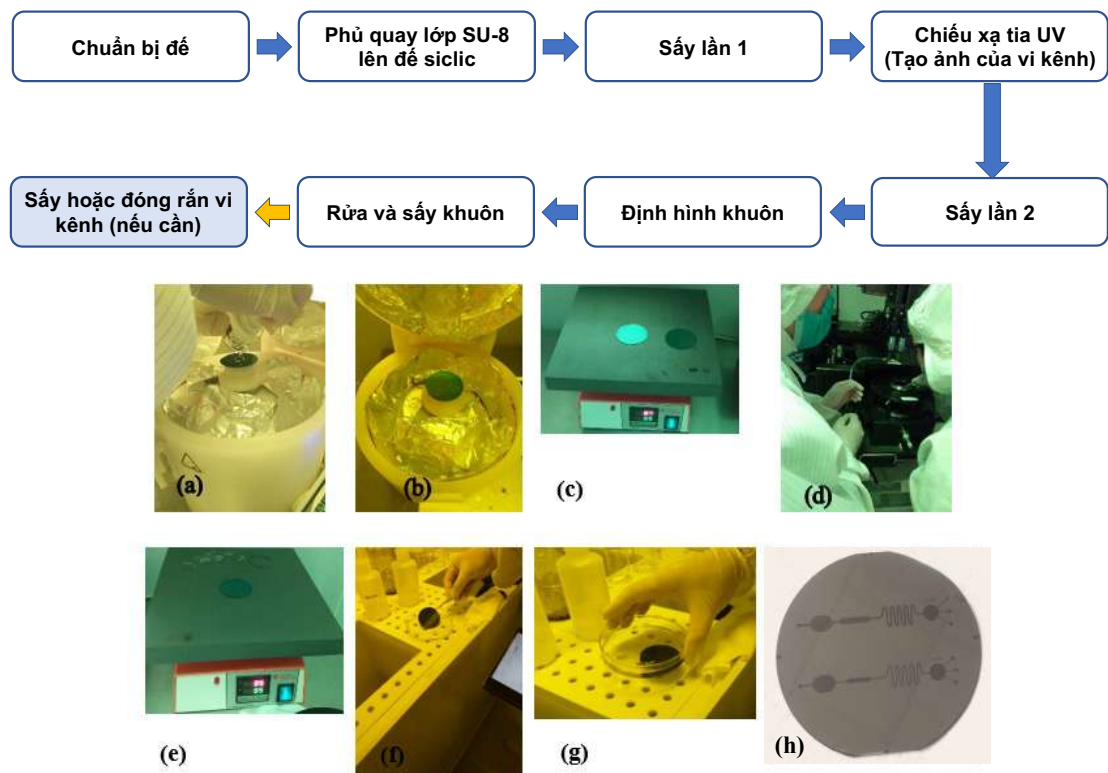
Trong luận án này, các vi kênh thường có chức năng khuấy trộn nhiều dòng chất lỏng hoặc chứa các vùng giữ các hạt nano từ hoặc vùng chứa điện cực phẳng. Vì vậy, trong phần này một dạng vi kênh điển hình được lấy làm ví dụ để mô tả quá trình chế tạo. Đối với vi kênh cho mục đích khuấy trộn đa dòng chất lỏng, vi kênh sẽ gồm nhiều đầu vào cho các hoá chất khác nhau, vùng khuấy trộn sẽ thực hiện các thao tác khác nhau trong hệ vi lưu như: rửa kênh, trộn lẫn các dòng chất tham gia phản ứng hoặc các dòng chất lỏng đơn lẻ theo từng giai đoạn. Ngoài ra, khu vực khuấy trộn được thiết kế với vùng trung gian để ổn định dòng chảy sau khi được bơm vào vi kênh qua các đầu vào, Hình 2.2, Hình 2.3.



Hình 2.3. Một loại thiết kế các mô đun chức năng của hệ vi kênh

2.2.1.2. Chế tạo khuôn và vi kênh

Khuôn (master mold) được chế tạo theo kỹ thuật quang khắc (Photo – Lithography) trong phòng sạch. Hiện nay, các vi kênh thông thường được chế tạo theo phương pháp đúc khuôn, với các khuôn được làm từ chất cảm quang âm gốc epoxy SU-8 (negative photoresist) [82]. Hình 2.4 mô tả quy trình chế tạo khuôn cho vi kênh bằng vật liệu SU-8 3050, bao gồm các bước sau (các bước được thực hiện theo quy trình đề xuất của hãng cung cấp hoá chất - www.kayakuam.com and microresist.de micro resist technology):



Hình 2.4. Quy trình chế tạo khuôn SU-8 cho vi kênh theo kỹ thuật in ảnh (replica molding) thực hiện tại Trung tâm Nano và Năng lượng, NEC – HUS (VNU).

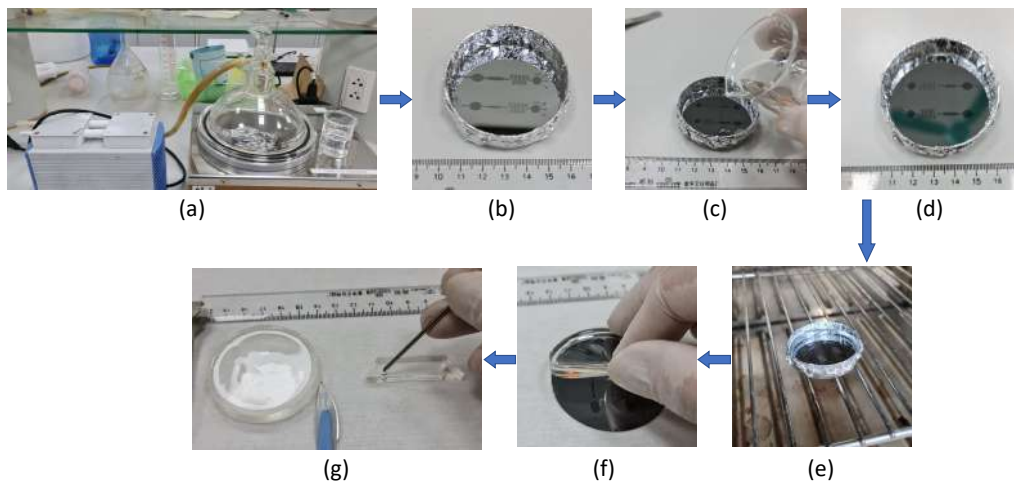
- Chuẩn bị đế - wafer preparation (đế Silic, 2 inch). Đế được rửa sạch bằng công nghệ rửa đế và oxi hóa ướt để tạo lớp silica (SiO_2) trên bề mặt. Sấy đế Si trên bếp điện ở 200°C trong 10 phút.
- (a), (b). Phủ lớp chất cảm quang lên đế bằng kỹ thuật phủ quay 2 bước (spin – coating) với độ dày $50\ \mu\text{m}$ (Bước 1: 500 vòng/phút trong 10 giây với gia tốc 100 vòng/phút/giây; Bước 2: 3000 vòng/phút trong 30 giây với gia tốc 300 vòng/phút/giây);

- (c). Sấy bước 1 (soft bake), lớp SU-8 sau khi phủ lên để được sấy trên bếp điện ở 95°C trong 20 phút. Bước sấy này sẽ giúp lớp SU – 8 cứng lại để có thể thực hiện bước quang khắc tiếp theo;
- (d). Chiếu xạ bằng tia UV (UV exposure) tạo ảnh trên lớp SU – 8 theo thiết kế của Mask cho vi kênh với năng lượng chiếu xạ là 200 mJ/cm². Khi đó hình dạng của vi kênh được tạo ảnh trên bề mặt lớp SU – 8 này.
- (e). Sấy lần 2 (post bake), Bước sấy này giúp cho phần ảnh đã bị chiếu UV được định hình và đóng rắn lại, để được sấy ở 95°C trong 4 phút.
- (f), (g). Rửa tạo khuôn (development), phần SU – 8 không bị chiếu UV sẽ bị hòa tan trong dung môi đặc biệt (SU-8 Developer) để thu được phần khuôn được định dạng theo hình dạng của mask. Để được rửa 2 lần: lần 1 được thực trong 7 phút; lần 2 (thay mới dung dịch SU-8 Developer) được thực hiện trong 3-4 phút tùy vào thực tế. Sau đó để được rửa lại bằng Iso-propanol và sấy khô bằng N₂.
- Đóng rắn lần cuối (hard bake): bước này giúp cho toàn bộ khuôn được đóng rắn sau khi hoàn thiện khuôn. Nhiệt độ bếp điện là 150°C, thời gian 10 phút, (bước này có thể được thực hiện hoặc không cần).
- (h). Kiểm tra và đưa khuôn sang bước đúc kênh.

Sau khi chế tạo được khuôn cho vi kênh, vi kênh sử dụng cho hệ vi lưu được chế tạo từ vật liệu Polydimethylsiloxane (PDMS). Hình 2.5 mô tả quy trình chế tạo vi kênh từ vật liệu PDMS bằng kỹ thuật đúc nguyên khối. PDMS được chuẩn bị từ bộ nguyên liệu gồm hai thành phần: Sylgard® 184 Silicone Elastomer Kit (bao gồm hai thành phần: Silicone elastomer và Curing agent) từ hãng DOW CORNING. Quy trình chế tạo vi kênh theo kỹ thuật đúc nguyên khối được thực hiện như sau:

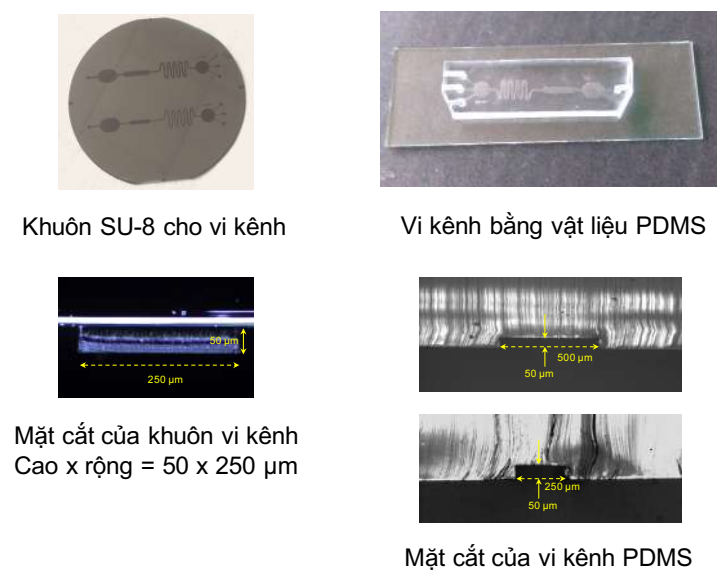
- (a). PDMS được chuẩn bị bằng cách trộn hai thành phần với tỷ lệ Silicone elastomer : curing agent là 10:1 (tỷ lệ có thể thay đổi tùy thuộc các ứng dụng khác nhau để thay đổi độ cứng của tấm PDMS). Sau đó, hỗn hợp này được khuấy đều và khử bọt bằng hút chân không trong desicator. Hỗn hợp đồng nhất sau khi khử bọt được rót lên bề mặt của khuôn với lượng thích hợp tùy theo độ dày của miếng PDMS cần thiết (thường dày khoảng 4 – 6 mm).
- (b). Cố định khuôn (đã chế tạo ở phần trên) lên đáy của đĩa petri nhựa bằng băng dính chuyên dụng, có thể lót xung quanh đĩa Petri bằng giấy bạc (Alumnum foil) để dễ dàng tách kênh và để sau khi kết thúc.

- (c). Sau khi đổ PDMS lên đế, nếu thấy xuất hiện bọt khí thì hút bọt khí thêm một lần nữa.
- (d). Kiểm tra dưới kính hiển vi một lần nữa để đảm bảo không xuất hiện bọt tại các chi tiết của khuôn.
- (e). Đóng rắn hoàn toàn PDMS trong tủ sấy ở 90°C trong 90 phút.
- (f). Tách vi kênh ra khỏi đế, dùng dao chuyên dụng cắt viền xung quanh đế và tách toàn bộ miếng PDMS ra khỏi đế.
- (g). Cắt định hình vi kênh và đục lỗ cho đường vào và ra của kênh.



Hình 2.5. Quy trình chế tạo vi kênh bằng phương pháp đúc nguyên khối bằng vật liệu PDMS (PDMS rapid prototyping)

Khuôn và vi kênh cho hệ vi lưu đã chế tạo được đo và kiểm tra các thông số hình học cơ bản như sau, Hình 2.6. Trên mỗi đế Silic chứa hai loại khuôn cho vi kênh:



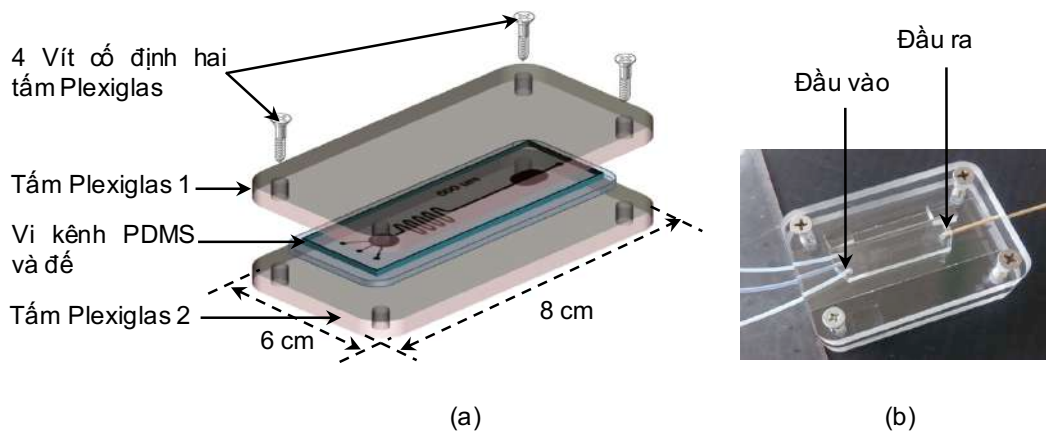
Hình 2.6. Khuôn bằng vật liệu SU-8 và Vi kênh bằng PDMS sau khi chế tạo

- Vi kênh 1: Tổng chiều dài: 3,2 cm; chiều rộng × chiều cao của kênh: 50×500 μm
- Vi kênh 2: Tổng chiều dài: 3,2 cm; chiều rộng × chiều cao của kênh: 50×250 μm

2.2.2. Hoàn thiện hệ vi lưu và thử nghiệm độ kín của hệ vi lưu

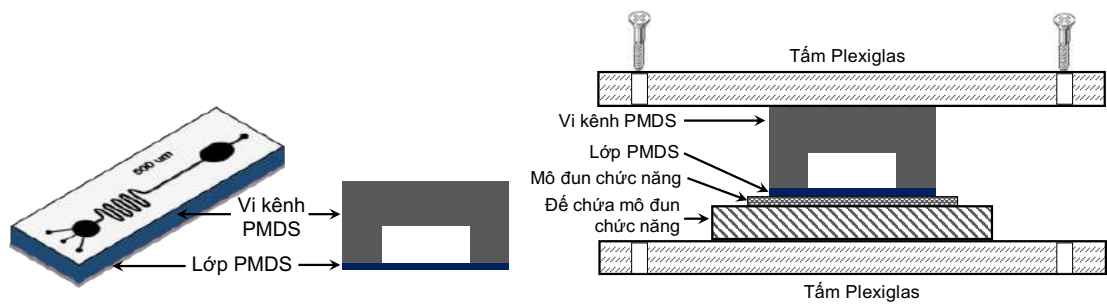
2.2.2.1. Hoàn thiện hệ vi lưu bằng kỹ thuật ghép cơ khí

Sau khi các vi kênh và phần đế được chế tạo thành công, hệ vi lưu hoàn thiện cho các ứng dụng được thực hiện theo kỹ thuật ghép không gắn cứng. Nghĩa là vi kênh bằng PDMS sẽ được cố định trên đế bằng bộ kết nối cơ khí. Kỹ thuật ghép nối này sẽ không sử dụng cách gắn chặt vi kênh PDMS lên đế bằng liên kết hoá học. Liên kết này được thực hiện bằng cách kích hoạt bề mặt của PDMS và đế bằng plasma O_2 như cách thường dùng như đã được nêu trong phần tổng quan. Phương pháp ghép cơ khí được mô tả trong Hình 2.7.



Hình 2.7. (a) Quy trình lắp ghép vi kênh với đế bằng kết cấu cơ khí; (b) Hình ảnh hệ vi lưu hoàn thiện

Đầu tiên, vi kênh PDMS được đóng kín bằng lớp PDMS mỏng với độ dày khoảng 8 μm . Lớp PDMS này được chế tạo bằng phương pháp phủ quay (spin-coating) PDMS được trộn với tỷ lệ 2,5:1 (để đảm bảo độ nhớt nhỏ) trên đế Si được phủ bằng lớp Teflon mỏng để trống dính, sau đó lớp PDMS này đóng rắn trong tủ sấy (ở 70°C trong 1 giờ). Kênh và màng PDMS được gắn với nhau bằng xử lý plasma O_2 và ủ trong tủ sấy ở 70°C trong 1 giờ, Hình 2.8.

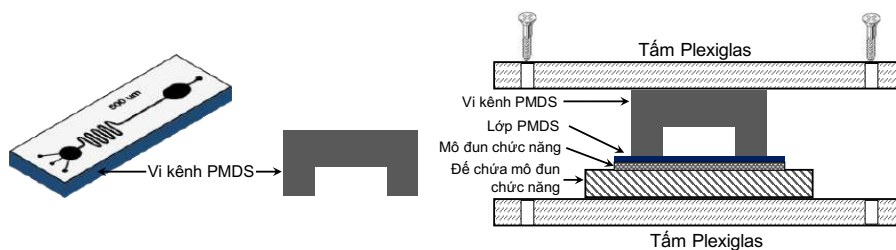


Hình 2.8. Mô tả vi kênh PDMS được đóng kín bằng lớp PDMS

Vi kênh đã đóng được tách ra khỏi đế Teflon và đưa sang ghép nối vào kết cấu cơ khí bằng hai tấm Plexiglas được cắt bằng CNC (kích thước 6 x 8 cm) và được cố định bằng ốc vít như mô tả trên hình Hình 2.7(a).

Kỹ thuật gắn kênh theo phương pháp này cho phép tạo ra hệ vi lưu có độ kín của vi kênh cao và có thể chịu được áp lực của dòng chất lỏng lớn. Tuy nhiên, việc rửa vi kênh sẽ khó khăn hơn khi kênh bị bẩn bởi các chất khó rửa, điều này do vi kênh đã bị đóng kín bằng cách hàn chặt lớp PDMS mỏng vào đáy của kênh. Ngoài ra, với loại vi kênh được đóng kín này, thì không cần sử dụng các lớp bảo vệ bề mặt của các chi tiết trên đế của hệ vi lưu bằng các lớp bảo vệ khác.

Một kỹ thuật khác được sử dụng để có thể tái sử dụng vi kênh và rửa vi kênh bằng các tác động trực tiếp vào phía trong của kênh như chổi rửa mềm. Khi đó, vi kênh có thể được rửa sạch và sử dụng lại trong trường hợp cần thiết. Kỹ thuật ghép hệ vi lưu này cũng sử dụng việc làm kín vi kênh bằng kết cấu cơ khí. Tuy nhiên, vi kênh sẽ không cần đóng kín trước. Trong kỹ thuật này, đế của hệ vi lưu có chứa các mô đun chức năng được phủ bởi lớp bảo vệ bằng PDMS, lớp PDMS này được xem như lớp đáy của hệ vi kênh. Khi đó vi kênh được làm kín bằng cách ép chặt xuống lớp PDMS này và được cố định bằng cơ cấu cơ khí như mô tả trên Hình 2.7 và Hình 2.9



Hình 2.9. Mô tả vi kênh PDMS không đóng kín bằng lớp PDMS

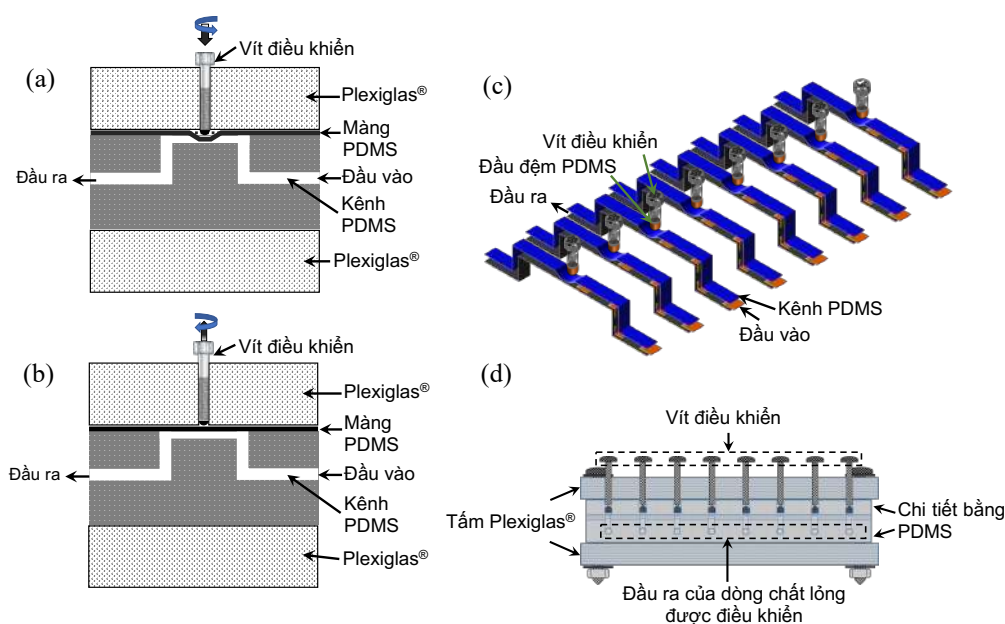
CHƯƠNG 3. THIẾT KẾ VÀ CHẾ TẠO HỆ VAN CƠ ĐIỀU KHIỂN DÒNG CHẤT LỎNG

Trong phần này, hệ micro van được thiết kế và chế tạo là một chi tiết hỗ trợ cho hệ vi lưu để điều khiển các dòng chất lỏng được bơm vào hệ vi kênh. Hệ van này là hệ van điều khiển đóng ngắt và tiết lưu nhiều dòng chất lỏng được bơm vi lượng bơm vào trong kênh trong quá trình hoạt động của hệ vi lưu. Các van này được thiết kế để điều khiển dòng mềm mại tránh hiện tượng tăng và giảm áp đột ngột. Ngoài ra, hệ van này có độ chính xác, ổn định và thời gian đáp ứng nhanh chóng trong quá trình vận hành. Nhờ một số ưu điểm này mà hệ van điều khiển thủ công có thể thay thế cho một số sản phẩm thương mại đắt tiền như: hệ thống van của Elveflow[®] hoặc Fluigent[®]. Phần chế tạo và thử nghiệm kết quả hoạt động của van được mô tả chi tiết trong công trình nghiên cứu đã được công bố, Le, T.N., et al., *Advances in Polymer Technology*, (2020).

3.1. Thiết kế và chế tạo hệ van cơ khí bằng vật liệu PDMS

3.1.1. Mô tả cấu tạo hệ thống van điều khiển.

Nguyên lý hoạt động của van dựa trên cấu trúc cơ học sử dụng vít chặn và cố định bằng vật liệu Plexiglas[®] và vật liệu PDMS như mô tả trong Hình 3.1.



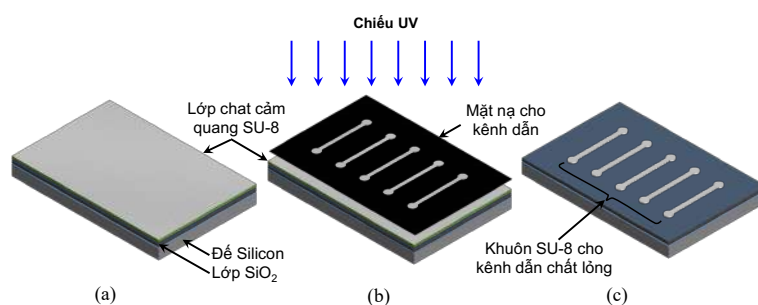
Hình 3.1. Thiết kế hệ thống van để điều khiển nhiều dòng chất lỏng vào hệ thống vi lưu: (a) - (b) Các mặt cắt của van (tại một van điều khiển); (c) - (d) Thiết kế chi tiết cơ cấu điều khiển đa dòng chất lỏng.

Bộ phận làm việc của hệ thống van bao gồm: một vi kênh và một màng mỏng làm bằng vật liệu PDMS (Hình 3.1 (a - b)). Màng PDMS được chế tạo với độ dày 100 μm và được gắn chặt trên đỉnh của kênh bằng kỹ thuật xử lý plasma O_2 . Vi kênh của van được chế tạo với kích thước $W \times D \times L$: $1 \times 0,05 \times 10$ mm bằng PDMS và sử dụng phương pháp chế tạo giống như các vi kênh của hệ vi lưu bằng PDMS (đã trình bày trong các phần trước, Hình 2.5). Cấu trúc cơ khí để đóng, mở dòng chất lỏng của van có cấu tạo gồm hai thành phần: một vít điều chỉnh (kích thước vít là M3, với bước ren 0,5 mm) được dẫn hướng bằng lỗ ren trên tấm Plexiglas. Tấm Plexiglas này được cố định với tấm thứ hai bằng hệ thống 4 ốc vít; một tấm PDMS (có độ dày $\sim 2,5$ mm) được đục lỗ nhỏ hơn đường kính của ốc vít và có thể di chuyển linh động trong lỗ này. Tấm PDMS này sẽ giúp đầu ốc vít không tác động trực tiếp lên màng PDMS của kênh. Khi tiếp xúc trực tiếp thì đầu ốc vít sẽ làm rách, hỏng màng PDMS trong quá trình làm việc, Hình 3.1 (d). Hai tấm cấu trúc này được chế tạo bằng vật liệu Plexiglas[®], bao gồm: phần đầu được thiết kế với các lỗ mảng ren (như mô tả ở trên); phần thứ hai là giá đỡ phía dưới kết hợp với phần thứ nhất. Nhờ đó, hai tấm Plexiglas[®] này tạo thành hệ kẹp để cố định tất cả các cấu trúc của hệ thống van.

3.1.2. Chế tạo van điều khiển cơ

Đầu tiên, kênh dẫn của van (làm bằng vật liệu PDMS) được chế tạo với quy trình giống như mô tả trên Hình 2.5.

Khuôn để tạo kênh dẫn chất lỏng trong van được chế tạo từ chất cảm quang âm SU-8 như mô tả trên Hình 3.2:



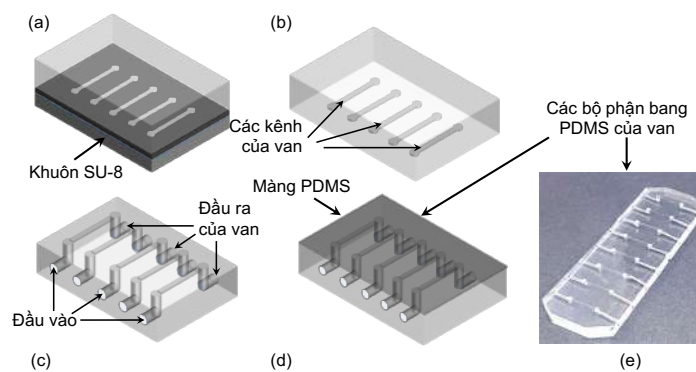
Hình 3.2. Chế tạo khuôn SU-8 cho các kênh của van. (a) Chuẩn bị lớp chất cảm quang âm SU-8 trên đế Si 4 inch; (b) Chiếu UV và sử dụng mặt nạ tạo kênh; (c) khuôn chính SU-8 thu được sau bước cuối cùng.

Kênh của van làm từ vật liệu PDMS được chế tạo theo các bước sau, Hình 3.3:

Bước 1: Chuẩn bị PDMS từ hai thành phần silicone elastomer và chất đong rắn theo tỷ lệ 10:1 (wt / wt.). Sau khi trộn, hỗn hợp được khử khí trong buồng chân không. Sau đó, đổ PDMS tươi lên khuôn và sấy ở 90°C trong 1 giờ (Hình 3.3 (a, b)). Tách kênh của van khỏi khuôn SU-8 và được cắt theo hình dạng phù hợp.

Bước 2: Tạo đầu vào và ra cho kênh của van được thực hiện bằng cách tạo lỗ trực tiếp bằng bộ công cụ tạo lỗ dạng ống (Hình 3.3 (c));

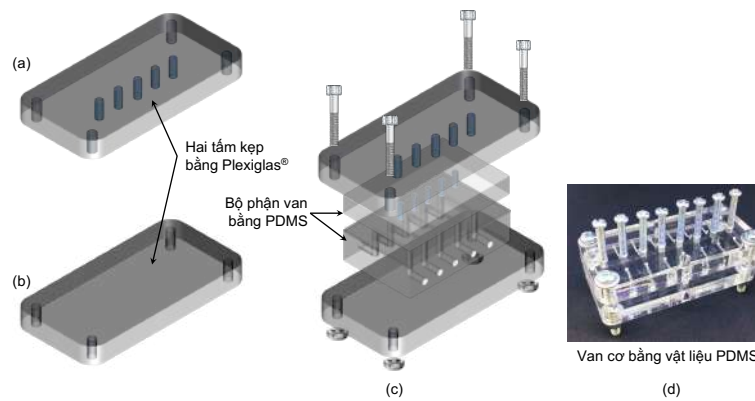
Bước 3: Các kênh của van được đóng kín bằng một lớp PDMS mỏng (20 μm) bằng cách kích hoạt bề mặt trong môi trường plasma O_2 , Hình 3.3 (c). Lớp PDMS này thu được bằng cách quay phủ lớp PDMS mới (tỷ lệ 10:1) trên tấm silicon với lớp phủ Teflon chống dính (phủ bằng hoá chất CYTOP® (AGC Chemicals Co.)). Sau đó, lớp PDMS này được sấy trong tủ sấy ở 75°C trong 1 giờ. Khi đó, lớp PDMS này sẽ dễ dàng tách ra khỏi bề mặt của đế Si do được phủ lên bề mặt Teflon.



Hình 3.3. Chế tạo các bộ phận bằng PDMS nhờ kỹ thuật đúc nguyên khối. (a) Đổ PDMS mới lên khuôn SU-8; (b) Tách kênh PDMS khỏi khuôn SU-8 sau khi đóng rắn; (c) Tạo đầu vào và đầu ra của kênh bằng bộ công cụ tạo lỗ; (d) Đóng kín kênh PDMS lên màng PDMS; (e) Bộ phận bằng PDMS của van sau khi chế tạo.

3.1.3. Lắp ghép và hoàn thiện hệ van.

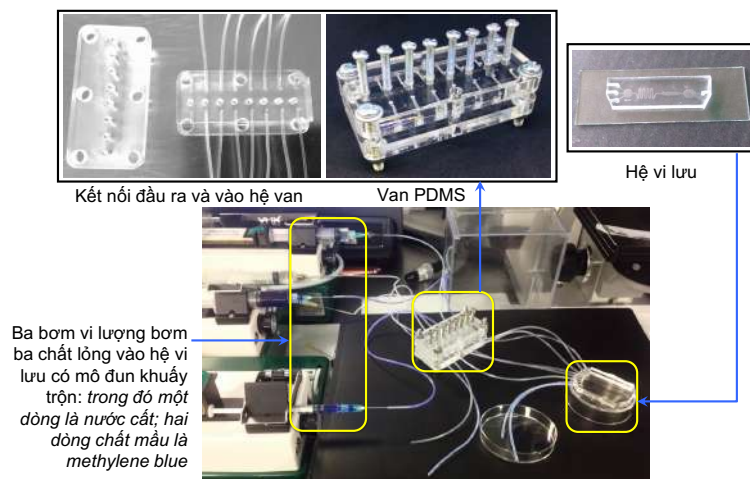
Hai tấm kẹp (vật liệu Plexiglas®) để cố định van được chế tạo bằng kỹ thuật CNC. Thông số thiết kế của hai kẹp này như sau: $W \times D \times L = 3,5 \times 0,8 \times 7 \text{ cm}$, Hình 3.4. Trong đó, tấm Plexiglas phía dưới là giá đỡ cả hệ van, Hình 3.4 (b), tấm Plexiglas phía trên được sử dụng để dẫn hướng chuyển động cho các vít đi xuống và tạo ra một lực trên lớp PDMS. Hình 3.4 (a). Bốn vít được sử dụng để cố định các bộ phận PDMS (bao gồm các kênh van và miếng hỗ trợ PDMS) và hai tấm Plexiglas. Các vít này cần được cố định vừa đủ chặt để tránh làm tắc kênh của van do khi ép mạnh sẽ dẫn đến biến dạng khối PDMS.



Hình 3.4. Mô tả thiết kế tấm kẹp bằng Plexiglas và cách lắp ráp hệ thống van. (a) - (b): Tấm kẹp trên và dưới của van; (c) Việc lắp ráp các kênh van PDMS với các kẹp Plexiglas®. (d) Van PDMS hoàn thiện.

3.2. Thử nghiệm kiểm soát dòng chất lỏng trong thiết bị vi lỏng

Hệ thống van được kết nối với hệ vi lưu với ba đầu vào để thực hiện thử nghiệm quá trình khuấy trộn ba dòng chất lỏng tại mô đun khuấy trộn. Thí nghiệm khảo sát khả năng khuấy trộn ba dòng chất lỏng trong hệ vi lưu được mô tả trong Hình 3.5.



Hình 3.5. Thiết kế thí nghiệm kiểm tra khả năng khuấy trộn và điều khiển dòng chất lỏng của hệ van điều khiển.

Khi điều khiển các van tương ứng với các dòng chất lỏng 1, 2 và 3, dòng chất lỏng trong vi kênh của van được điều khiển ở hai chế độ: chế độ đóng hoàn toàn và chế độ tiết lưu dòng chảy. Hệ thống van này được sử dụng rất hiệu quả trong các quá trình cần điều khiển đa dòng chất lỏng (ví dụ: trong các xét nghiệm y sinh, đặc biệt trong xét nghiệm miễn dịch ELISA). Ngoài ra, khi hệ vi lưu hoạt động, sự ổn định của dòng chảy bên trong vi kênh rất quan trọng. Do vậy, các tác động nhỏ đến đầu vào hoặc ra của vi kênh như: cấm/rút các ống để thay thế chất lỏng trong mỗi bước

của thí nghiệm... đều ảnh hưởng đến các quá trình bên trong hệ vi lưu (đặc biệt trong quá trình bắt, giữ các hạt nano từ). Do đó, việc sử dụng hệ thống van điều khiển kiểm đa kênh sẽ giúp cho các dòng chất lỏng được bơm vào vi kênh dễ dàng và ổn định hơn.

Hệ thống van được kết nối với bơm lưu lượng thông qua ống đường kính trong bằng 0,8 mm (bằng vật liệu PTFE – Polytetrafluoroethylene). Ba chất lỏng được bơm vào hệ vi lưu từ ba bơm lưu lượng: hai dung dịch xanh methylen (dòng thứ nhất và thứ 3) và nước cất (dòng chảy thứ 2 ở giữa).

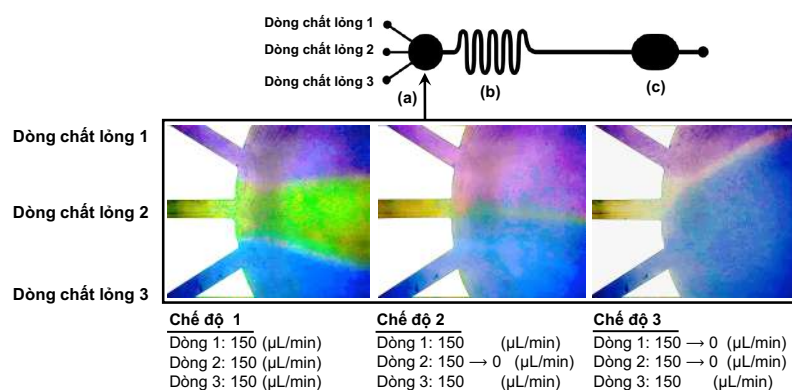
Đầu tiên, ba bơm lưu lượng được đặt ở tốc độ dòng 150 $\mu\text{L}/\text{phút}$ (tốc độ dòng lớn nhất trong thí nghiệm này) vào các vi kênh của van điều khiển. Tiếp theo, ba dòng chất lỏng này được điều khiển lưu lượng bằng cách đóng hoặc mở vít điều khiển với ba chế độ khác nhau (Bảng 3.1):

- Chế độ 1: Ba dòng được mở ở tốc độ dòng lớn nhất 150 $\mu\text{L}/\text{phút}$;
- Chế độ 2: Dòng 1 và 3 (dung dịch xanh methylen) được mở ở tốc độ dòng lớn nhất, dòng thứ 2 (nước cất) giảm từ 150 xuống 0 ($\mu\text{L}/\text{phút}$);
- Chế độ 3: Lưu lượng của dòng thứ 1 và thứ 2 giảm từ 150 xuống 0 ($\mu\text{L}/\text{phút}$); dòng thứ 3 được mở ở tốc độ dòng chảy tối đa là 150 $\mu\text{L}/\text{phút}$.

Bảng 3.1. Các chế độ vận hành van trong thử nghiệm trộn ba dòng chất lỏng khác nhau.

Chế độ làm việc	Dòng 1 (Xanh methylene), $\mu\text{L}/\text{min}$	Dòng 2 (Nước cất), $\mu\text{L}/\text{min}$	Dòng 3 (Xanh methylene), $\mu\text{L}/\text{min}$
<i>Chế độ 1</i>	150	150	Giảm từ 150 \rightarrow 0
<i>Chế độ 2</i>	150	Giảm từ 150 \rightarrow 0	Giảm từ 150 \rightarrow 0
<i>Chế độ 3</i>	Giảm từ 150 \rightarrow 0	150	150

Kết quả sự khuấy trộn ba dòng chất lỏng tại mô đun khuấy trộn với sự điều khiển dòng chất lỏng bằng hệ van được mô tả trên Hình 3.6.

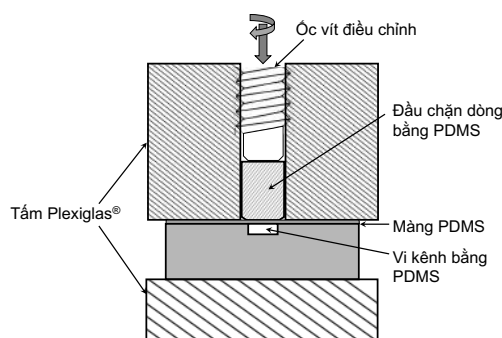


Hình 3.6. Kết quả kiểm tra quá trình trộn ba dòng chất lỏng. (a), (b) mô đun khuấy trộn, (c) Khu vực chứa chất lỏng.

Sự ổn định của hệ thống van được thử nghiệm trong quá trình khuấy trộn ba dòng chất lỏng của hệ vi lưu. Các kết quả này cho thấy hệ thống van có thể hoạt động ổn định trong hàng trăm lần của chu kỳ đóng/mở hoặc tiết lưu trong suốt quá trình làm thí nghiệm ở các phần sau của luận án này. Hệ van đạt được độ bền cao nhờ sự ổn định và độ đàn hồi tốt của màng PDMS. Thời gian đáp ứng và độ ổn định của dòng chất lỏng trong quá trình điều khiển như: thời gian đáp ứng khoảng 1 - 2 giây; dòng chất lỏng được điều khiển linh hoạt trong tác vụ đóng/mở hoặc tiết lưu dòng chảy.

Kết quả nghiên cứu khả năng điều chỉnh lưu lượng dòng của chất lỏng được bơm vào hệ vi lưu được thực hiện bằng thí nghiệm sau:

- Kết nối một đầu ra của van với một đầu vào của vi lưu đơn giản (chỉ có một vi kênh thẳng duy nhất với kích thước: chiều rộng × chiều cao : 1000 × 50 μm và dài 3,5 cm).
- Sau đó, dòng nước khử ion được bơm vào hệ van sau đó vào hệ vi lưu với tốc độ dòng chảy 250 μL/phút bằng bơm lưu lượng. Mức độ đóng/mở của van được xác định bằng cách vặn vít điều chỉnh lên hoặc xuống. Số vòng quay của vít (n) tương ứng với thể tích chất lỏng (V) chảy qua kênh vi lỏng (Hình 3.7). Thể tích chất lỏng (V) trong 1 phút được đo ở đầu ra của vi kênh được đo bằng cách sử dụng bơm tiêm nhỏ với dung tích là 50 μL- microsyringe (của KLOEHN Inc.). Kết quả được thể hiện trong Bảng 3.2, dữ liệu thu được là giá trị trung bình của 10 – 15 phút bơm qua vi kênh. Dữ liệu trung bình là giá trị gần đúng vì vi kênh làm từ vật liệu PDMS, vật liệu này có độ dẻo nhất định. Khi áp lực dòng chất lỏng lớn có thể làm biến dạng vi kênh này. Tuy nhiên, trong điều kiện thí nghiệm, áp lực của dòng chất lỏng khá nhỏ (< 1 bar) nên sự biến dạng của vi kênh có thể bỏ qua.



Hình 3.7. Mô tả cấu tạo một vi kênh của van khi làm việc

Bảng 3.2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của số vòng quay của vít đến thể tích chất lỏng ở đầu ra của vi lỏng, (Ốc vít được sử dụng là loại có bước ren là 0,5 mm)

Số vòng quay của vít khi đóng van, (n)	Tốc độ dòng ($\mu\text{L}/\text{min}$)	Liquid volume, V , (μL)	Percentage (%)
0	250	245	98
1/2	250	130	52
1	250	70	28
1+1/2	250	25	10
2	250	~ 0	0
3	250	~ 0	0

Từ Bảng 3.2 cho thấy, vi kênh được đóng hoàn toàn với số vòng quay là 2 vòng tương ứng với khoảng 1 mm khoảng cách vít di chuyển xuống (với bước ren của vít này là 0,5 mm). Mặc dù chiều cao của vi kênh chỉ là 50 μm , nhưng ốc vít phải được vặn tới 2 vòng. Điều này có thể được lý giải do các phần cấu thành nên cơ cấu chấp hành của hệ van đều được làm từ vật liệu PDMS. Vật liệu này có độ mềm, dẻo nhất định nên có sự biến dạng nhiều khi ốc vít di chuyển.

Do đó, hệ thống van này sẽ phù hợp nhất với các chế độ làm việc của van là mở hoàn toàn hoặc đóng hoàn toàn.

CHƯƠNG 4. THIẾT KẾ VÀ CHẾ TẠO HỆ VI LƯU TÍCH HỢP MÔ ĐUN BẦY HẠT NANO TỪ

Trong chương này, mô đun bầy từ được thiết kế dưới dạng 2D gồm nhiều vòng dây dạng phẳng. Việc tính toán từ trường sinh ra từ các cuộn dây này được thực hiện bằng phần mềm mô phỏng ANSYS®. Các cuộn dây được thiết kế nhằm tối ưu số vòng dây, các kích thước cơ bản của sợi dây, khoảng cách giữa các sợi dây, cường độ từ trường,... Ngoài ra, các cuộn dây cần được tối ưu hoá về từ trường và mức tiêu thụ điện năng thấp, tức là hiệu suất điện năng cao được chọn để giảm sự nóng lên của cuộn dây trong các chip vi lỏng. Một vấn đề quan trọng cần được quan tâm là thiết kế đưa ra phải khả thi về mặt kỹ thuật chế tạo ở Việt Nam. Đối với hệ vi lưu có mô đun khuấy trộn thì vi kênh cần được thiết kế để đảm bảo khả năng khuấy trộn tối đa các dòng vào. Do mục tiêu trong luận án là thiết kế hệ vi lưu hướng tới ứng dụng trong phân tích nên hệ vi kênh được thiết kế với nhiều đầu vào cho nhiều chất khác nhau. Quá trình hoàn thiện hệ vi lưu chứa các mô đun chức năng được nghiên cứu nhằm mục đích tái sử dụng và thuận tiện cho quá trình thao tác rửa và thay thế các chi tiết.

4.1. Mô hình tính toán, thiết kế và chế tạo mô đun bẫy hạt nano từ⁽²⁾

Trong mục tiêu của luận án là sử dụng hệ vi lưu trong phân tích y sinh trên cơ sở kỹ thuật phân tích kháng thể đánh dấu huỳnh quang – ELISA sử dụng hạt nano từ để tạo ra các đầu dò nhận biết. Vì vậy, việc thiết kế và chế tạo các hệ nam châm điện dạng phẳng để có thể tích hợp được trong các hệ vi lưu dành riêng cho việc bẫy các hạt từ tính trong các vi kênh là công việc quan trọng. Các nam châm phẳng này cần đáp ứng được tiêu chí có thể tích hợp vào hệ vi lưu để tạo ra dạng thiết bị gọi là chip sinh học (Bio-chip) như sau: đảm bảo tỷ lệ giữa hiệu suất bẫy trên công suất tiêu thụ điện là lớn nhất để có thể giữ nhiệt độ của vi kênh trong khoảng 30 - 40°C (nhiệt độ tương thích sinh học); kích thước của nam châm nhỏ và đủ mảnh để tích hợp; các bước chế tạo đơn giản và chi phí thích hợp.

Trước khi chế tạo, cấu trúc của các vi nam châm được thiết kế và tính toán dựa trên các phần mềm mô phỏng và tính toán từ trường. Từ các kết quả tính toán được, sẽ là cơ sở để lựa chọn thông số kỹ thuật cho quá trình chế tạo [47, 52, 83]. Mô hình vi nam châm phẳng được đưa ra để tính toán và mô phỏng từ trường bao gồm các thông số cơ bản như sau:

- Bán kính của vi cuộn dây
- Số vòng dây
- Khoảng cách giữa các vòng dây
- Chiều rộng và chiều cao của dây
- Thông tin vật liệu,

Trong luận án này, tính toán từ trường được thực hiện bằng phần mềm mô phỏng Ansys[®] và phương pháp phần tử hữu hạn (FEM). Kết quả tính toán sẽ đưa ra các kết quả sau:

- Sự phân bố (mapping) của từ trường tạo ra bởi vi nam châm được trích xuất dọc theo một số hướng của nam châm.
- Cường độ của lực từ tạo ra là chỉ số chính thể hiện lực tác dụng lên các hạt nano từ.

⁽²⁾ Nội dung cơ bản của phần này đã được công bố đầy đủ trong công trình: Le Ngoc, T., Nguyen Cong, T., Tran, L. D., Nguyen, V.-A., & Cao Hong, H. (2020). Microfluidic Chip for Trapping Magnetic Nanoparticles and Heating in Terms of Biological Analysis. *Communications in Physics*, 30(3), 245. <https://doi.org/10.15625/0868-3166/30/3/14834>

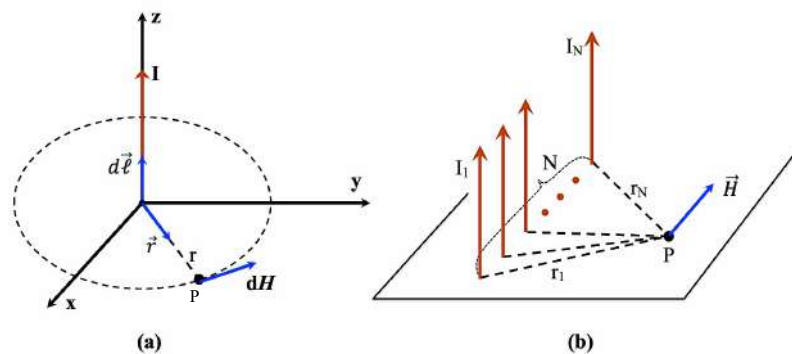
- Năng lượng điện tiêu tốn tương ứng với nhiệt độ tạo ra do hiệu ứng Joule - Lenz trong cuộn.
- Hệ số công suất biểu thị cường độ từ trường trên một đơn vị dòng điện và trên một đơn vị công suất tổn thất.

Ngoài ra, các vấn đề về hoàn thiện và lắp đặt tích hợp vi cuộn dây để tạo ra dạng chip vi lưu cũng được nghiên cứu để sao cho đạt hiệu quả tốt nhất khi làm thí nghiệm bao gồm: vi kênh càng gần bề mặt cuộn dây càng tốt; kết nối dây dẫn để đưa dòng điện vào cuộn dây dễ dàng; cần có lớp bảo vệ các cuộn dây ngăn cách với dung dịch trong vi kênh khi hệ vi lưu làm việc với các dung dịch khác nhau.

4.1.1. Tính toán từ trường trong cuộn dây

Mô hình cuộn dây phẳng dùng để thực hiện quá trình mô phỏng từ trường bằng phương pháp phần tử hữu hạn (FEM) được mô tả trên Hình 4.1. Tiêu chí để thiết kế cuộn dây phẳng là từ trường tối ưu của cuộn dây và giảm thiểu tiêu tốn năng lượng trong cuộn dây để hạn chế sự nóng lên khi cuộn dây làm việc làm việc.

Một dây dẫn mang dòng điện I tạo ra cường độ từ trường H . Cường độ và hướng của H phụ thuộc vào r , khoảng cách từ dòng điện đến điểm P , Hình 4.1 (a). Từ trường tại điểm P bất kỳ do dòng điện có thể được tính bằng cách cộng các đóng góp từ trường, dH , từ các đoạn nhỏ của dây $d\ell$.



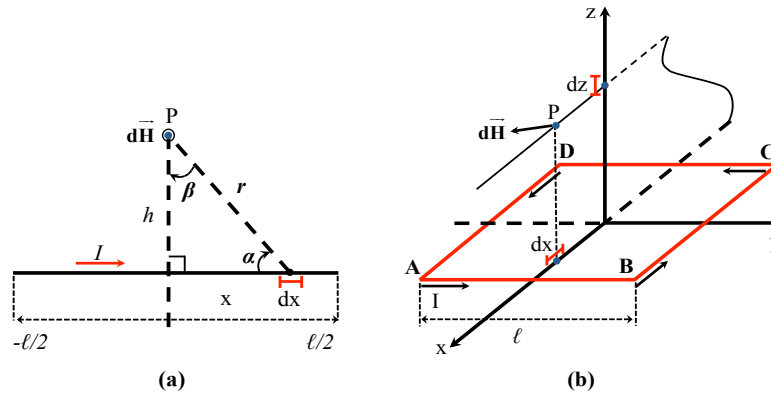
Hình 4.1. (a). Cường độ từ trường H tại điểm P do phần tử mang dòng $I d\ell$ gây ra. (b). Cường độ từ trường tổng hợp H tại điểm P do N phần tử I mang dòng điện song song.

Định luật Biot – Savart (đối với dây dẫn thẳng/vô hạn) đưa ra biểu thức về cường độ từ trường, dH được tạo ra bởi dòng điện $I.d\ell$, [84]:

$$dH = \frac{1}{4\pi} \frac{Id\ell \times \mathbf{r}}{r^2} \quad (1)$$

trong đó I là cường độ dòng điện trong dây dẫn; r là khoảng cách từ dây đến điểm P ; \mathbf{r} là véc tơ đơn vị tương ứng.

Trong trường hợp cuộn dây hình chữ nhật hoặc hình vuông, khoảng cách đến điểm đang xét là không đổi, Hình 4.2.



Hình 4.2. Cường độ từ trường \mathbf{H} tại điểm P tạo bởi dây dẫn thẳng (a), và bởi một cuộn dây vuông (b). Trong đó: I : cường độ dòng điện; h : khoảng cách từ dây dẫn đến điểm P ; r : khoảng cách từ dây đến điểm P ; l : độ dài cạnh của các vòng dây hình vuông.

Cường độ từ trường cơ bản dH_i (đối với một dây dẫn thẳng) do đoạn dây có độ dài dx sinh ra là:

$$dH_i = \frac{1}{4\pi} \frac{I \cos(\theta) dx}{r^2} = \frac{1}{4\pi} \frac{I \cos(\theta) d\theta}{r^2} \quad (2)$$

Tính cho cả vòng dây hình vuông (được xem như tạo thành từ 4 đoạn dây thẳng):

$$H = 4 \times H_i \quad (3)$$

Từ trường được tạo ra bởi một phần dây của một cuộn dây vuông có thể được tính bằng cách sử dụng công thức (1). Trong trường hợp cuộn dây có nhiều vòng, thì từ trường được xác định là tổng vectơ của mỗi thành phần đoạn dây tạo ra cường độ từ trường H_i .

Mối quan hệ giữa cường độ từ trường \mathbf{H} và cảm ứng từ \mathbf{B} được cho bởi:

$$\mathbf{B} = \mu_0 \mathbf{H} (1 + \chi_m) = \mu_0 \mu_r \mathbf{H} \quad (4)$$

trong đó χ_m là độ cảm từ của vật liệu, μ_0 là độ từ thẩm của không gian tự do: $\mu_0 = 4\pi \times 10^{-7}$ T.m/A. Trong trường hợp chân không, nước hoặc không khí: $\mu_r = 1 + \chi_m = 1$.

Để thiết kế cuộn dây cho mục đích bẫy hạt nano từ một cách hiệu quả thì có thể dự đoán cuộn dây nên có kích thước dây hẹp và số lượng vòng lớn sẽ tốt hơn. Ngoài ra, để bẫy hạt nano từ hiệu quả thì các hạt nano từ càng gần với bề mặt cuộn dây càng tốt (dự đoán khoảng 10 μm , ở khoảng cách này việc chế tạo lớp phủ bảo vệ bề mặt cuộn dây sẽ hợp lý).

4.1.2. *Mối quan hệ giữa lực từ và cường độ từ trường của cuộn dây*

Khi đặt một hạt từ (micro/nano) vào từ trường, các electron spin có thể có hướng khác nhau. Khi đó, hạt từ này đóng vai trò như một “nam châm vĩnh cửu nhỏ”. Mômen từ m là độ lớn vectơ đặc trưng cho tính chất từ của nguồn từ trường. Nguồn từ trường này có thể là một vật liệu từ trường được tạo ra bởi một trường bên ngoài, có thể do một vòng dòng điện hoặc một nam châm vĩnh cửu. Mômen từ m được tính toán như sau:

$$m = V \mu_0 M = V \mu_0 \chi H, \quad (\mathbf{T}) \quad (5)$$

trong đó V là thể tích của hạt từ, M là độ từ hoá của hạt tương ứng.

Khi hạt từ được đặt trong từ trường, một lực từ được tạo ra và tương tác với các hạt từ này. Lực từ tác dụng lên các hạt từ có thể được tính bằng công thức sau, [85]:

$$\mathbf{F}_m = \frac{1}{\mu_0} \nabla(m \cdot \mathbf{B}) \approx \frac{1}{\mu_0} (m \cdot \nabla) \mathbf{B} \quad (6)$$

Trong trường hợp hạt từ có dạng hình cầu và kích thước nhỏ cỡ nano, thì mômen từ của hạt từ tính không thay đổi trong không gian ($\nabla \cdot m = 0$). Công thức (4) và công thức (6) được viết lại và áp dụng trong môi trường không khí (cho một vòng dây mang dòng điện) như sau:

$$\mathbf{F}_m = \frac{V \chi}{\mu_0} (\mathbf{B} \cdot \nabla) \mathbf{B} \quad (7)$$

trong đó: V là thể tích của hạt từ, μ_0 là cảm ứng từ riêng của hạt từ.

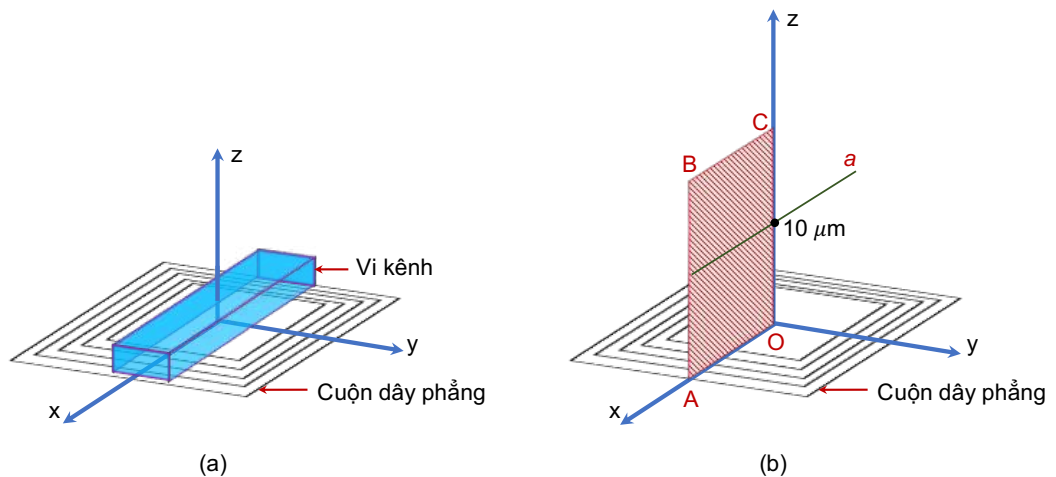
Lực từ theo các phương x, y và z được tính như sau:

$$\begin{aligned}
\mathbf{F}_{m,x} &= \frac{V\chi}{\mu_0} \left(B_x \frac{\partial}{\partial x} + B_y \frac{\partial}{\partial y} + B_z \frac{\partial}{\partial z} \right) B_x \\
\mathbf{F}_{m,y} &= \frac{V\chi}{\mu_0} \left(B_x \frac{\partial}{\partial x} + B_y \frac{\partial}{\partial y} + B_z \frac{\partial}{\partial z} \right) B_y \\
\mathbf{F}_{m,z} &= \frac{V\chi}{\mu_0} \left(B_x \frac{\partial}{\partial x} + B_y \frac{\partial}{\partial y} + B_z \frac{\partial}{\partial z} \right) B_z
\end{aligned} \tag{8}$$

Trong phương trình (8), lực từ cần thiết để bắt giữ các hạt từ trong hệ vi lưu là lực dọc theo trục z . Từ phương trình (8) cho thấy cường độ lực từ (lực để giữ các hạt từ tại vùng bẫy) phụ thuộc vào độ lớn của biến thiên từ trường (gradient của B). Để có được lực từ lớn, thì gradient và độ lớn của từ trường phải cao. Thật vậy, có một từ trường mạnh trong một không gian nhỏ (phần không gian trong các vi kênh cỡ μm hoặc mm) có sẽ tạo ra một lực từ đủ mạnh để bắt giữ các hạt nano từ cho thay thế cho các nam châm vĩnh cửu. Do đó, khi thiết kế các hệ vi lưu tích hợp mô đun bẫy từ bằng nam châm điện dạng này cần đặc biệt chú ý đến: từ trường có độ lớn thích hợp và khoảng cách/không gian chứa các hạt nano từ để có thể bắt hiệu quả ngay ở vùng cường độ dòng điện đặt vào vừa đủ để không làm tăng nhiệt độ lên cao.

4.1.3. Mô hình tính toán từ trường của cuộn dây phẳng

Trong phần tính toán này, mô hình 2D của hệ cuộn dây phẳng được sử dụng để tính toán và mô phỏng. Mô hình hệ vi lưu tích hợp cuộn dây phẳng để tạo ra từ trường cho mục đích bẫy hạt nano từ được thể hiện trên Hình 4.3 (a).



Hình 4.3. (a). Mô hình mô đun bẫy từ sử dụng cuộn dây phẳng; (b). Vị trí sẽ tính toán từ trường theo khoảng cách đến bề mặt của cuộn dây.

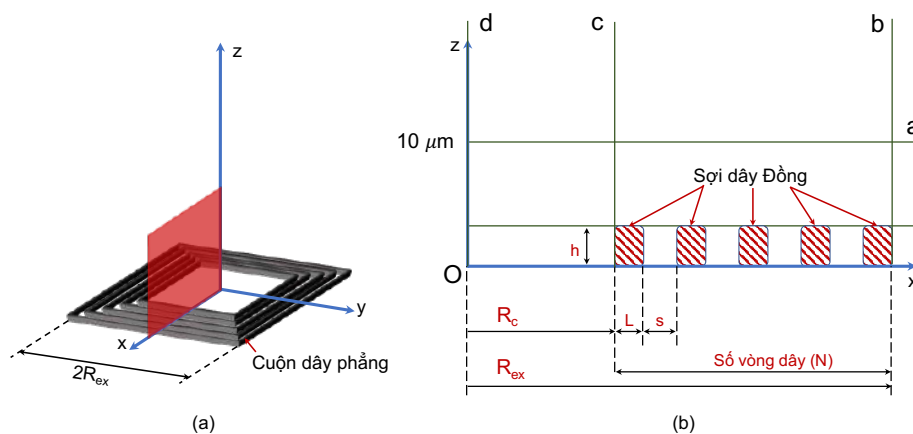
Do sự đối xứng về mặt hình học, nên khi tính toán ta chỉ cần tính từ trường do cuộn dây tạo ra tại vị trí một nửa của hình cắt dọc (OABC) và vuông góc với cuộn

dây, Hình 4.3(b). Trong mô phỏng 2D với giả định chiều dài của mỗi đoạn dây là vô hạn so với khoảng cách làm việc. Khi đó, kết quả thu được có giá trị là tổng không phụ thuộc nhiều vào hình dạng của cuộn dây là hình tròn hay hình vuông. Các thông số đầu vào của cuộn dây dùng để tính toán được mô tả trong Bảng 4.1, và Hình 4.4:

Bảng 4.1. Các thông số đầu vào để tính toán mô phỏng từ trường của cuộn dây

STT	Các thông số đầu vào	Giá trị các thông số
1	Cuộn dây dạng phẳng	Hình vuông
2	Vật liệu	Đồng (Cu)
3	Bán kính ngoài của cuộn dây (R_{ex} , mm)	5
4	Bán kính trong của cuộn dây (R_c , μm)	phụ thuộc số vòng dây N
5	Chiều cao của dây (h , μm)	15
6	Khoảng cách giữa các sợi dây (s , μm)	10
7	Độ rộng của dây (L , μm)	10; 15
8	Số vòng dây (N , vòng)	50; 75; 100; 120; 150

Đối với kích thước của cuộn dây, R_{ex} được chọn tối đa là 5 mm. Khi đó kích thước tổng cộng của cuộn dây là 10 mm, điều này sẽ phù hợp với kỹ thuật chế tạo một lớp, chi phí và thời gian chế tạo sẽ giảm rất nhiều. Ngoài ra, chế tạo một lớp sẽ giúp cho việc thay thế, và kết nối cuộn dây với hệ thống bên ngoài sẽ đơn giản hơn.



Hình 4.4. Mô hình mô phỏng: (a). Mô hình cuộn dây; (b). Tính toán từ tính tại các vị trí sẽ được hiển thị trong kết quả mô phỏng: L = chiều rộng của dây Cu; s = khoảng trống giữa hai dây Cu; h = chiều cao của dây Cu; R_c : bán kính trong của cuộn dây; R_{ex} : bán kính ngoài của cuộn dây.

4.2. Kết quả tính toán và mô phỏng từ trường tạo ra từ cuộn dây phẳng

Về mặt lý thuyết, khi càng xa bề mặt của cuộn dây, cường độ từ trường sẽ giảm dần (lực từ tương ứng tác dụng lên hạt từ cũng giảm theo). Vì vậy, quá trình mô phỏng và tính toán từ của cuộn dây sẽ tập trung vào các kết quả tính toán tại khoảng cách gần nhất có thể đến bề mặt cuộn dây (đường a trên Hình 4.4). Ngoài ra, các kết quả tính từ trường tại các đường b ; c và d cũng sẽ được đưa ra. Kết quả tính từ trường tại các đường a ; b ; c và d là các kết quả có ý nghĩa nhất cần được thảo luận. Các kết quả tính toán được bao gồm:

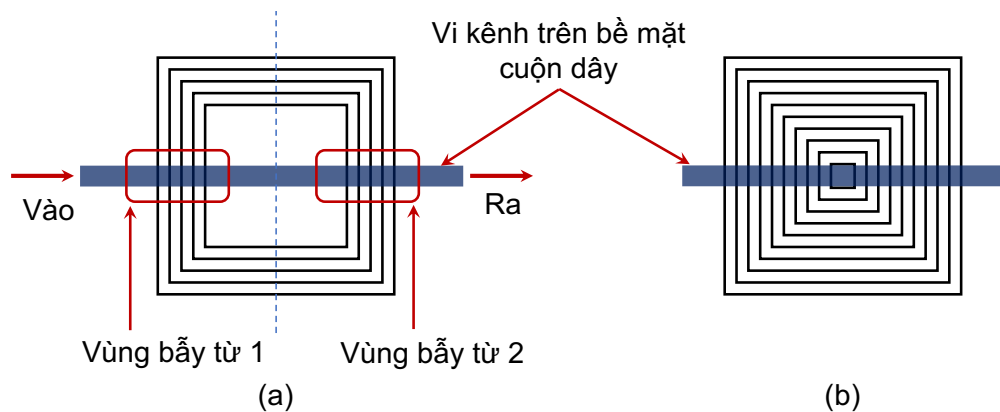
- **Thông số cố định:**

- Kích thước của cuộn dây $R_{ex} = 5 \text{ mm}$;
- Chiều cao của dây, $h = 15 \text{ }\mu\text{m}$
- Khoảng cách giữa các sợi dây, $s = 10 \text{ }\mu\text{m}$

- **Thông số thay đổi:**

- Độ rộng của dây dẫn, $L = 10$ và $15 \text{ }\mu\text{m}$
- Số vòng dây, $N = 50$; 75 ; 100 ; 120 ; 150 vòng

Về nguyên tắc, số vòng dây có thể tăng tối đa để phủ kín bề mặt của toàn bộ cuộn dây, như mô tả trên hình Hình 4.5:



Hình 4.5. Mô hình thiết kế cuộn dây phẳng cho mục đích bắt từ hai vị trí (a) và toàn bộ bề mặt của cuộn dây.

Trong thực nghiệm, việc chế tạo cuộn dây lớn, không phủ toàn bộ bề mặt (như Hình 4.5 (a)), sẽ phù hợp với mục tiêu bắt hạt nano từ ở hai vị trí. Việc bắt hạt nano từ ở hai vị trí sẽ hỗ trợ quá trình khuấy trộn hiệu quả hơn. Nghĩa là, sau khi hạt nano

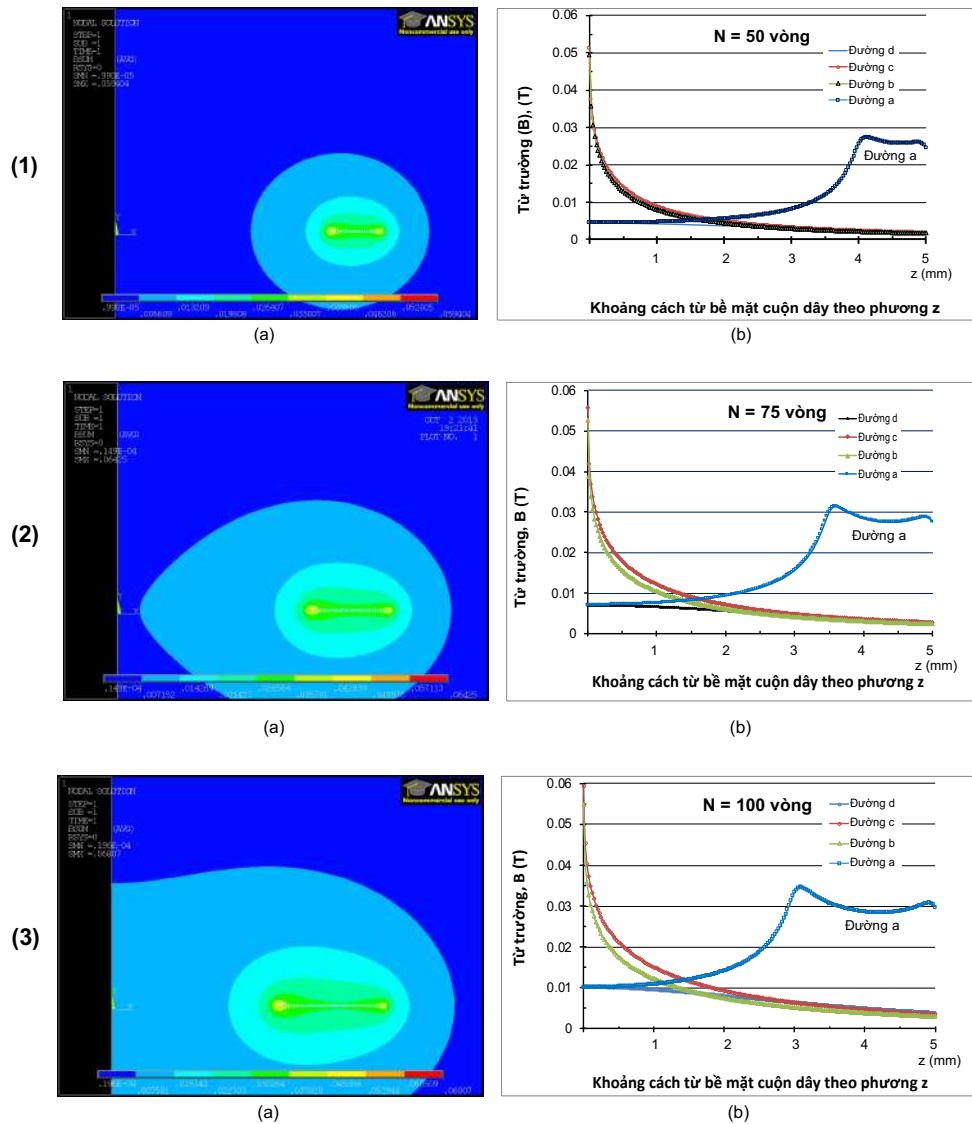
từ được bẫy ở "vùng bẫy từ 1", các hạt nano này có thể được chuyển sang "vùng bẫy từ 2" bằng cách ngắt dòng điện tức thời trong khoảng thời gian ngắn.

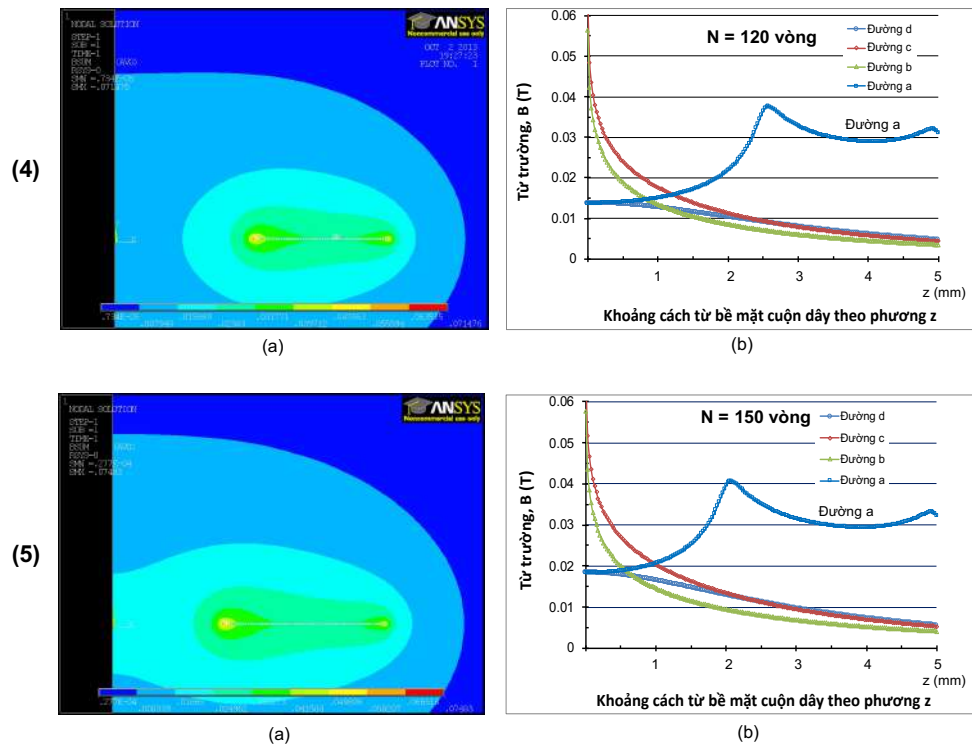
4.2.1. Kết quả tính toán từ trường với kích thước của dây dẫn: $L = 10 \mu\text{m}$

Các thông số đầu vào cố định: Cường độ dòng điện đặt vào cuộn dây được giả định là $I = 1 \text{ A}$; $R_{\text{ex}} = 5 \text{ mm}$; $h = 15 \mu\text{m}$, $s = 10 \mu\text{m}$. Giá trị của từ trường được tính toán tại vị trí các đường a; b; c và d, như mô tả trên Hình 4.4 (b), trong đó:

- ✓ Đường a: Từ trường biến thiên theo trục x (tính từ tâm của cuộn dây ra tới rìa ngoài cùng của cuộn dây).
- ✓ Đường b - d: Từ trường biến thiên theo trục z (tính từ bề mặt của cuộn dây)

- Số vòng dây, $N = 50; 75; 100; 120; 150$ vòng

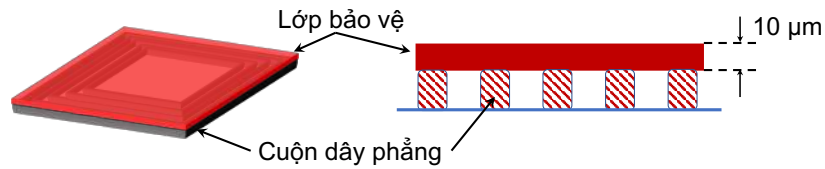




Hình 4.6. (a). Mật độ từ thông tạo ra trên bề mặt cuộn dây; (b) Từ trường tính tại các đường a, b, c, d tương ứng với các thông số ($L = 10 \mu\text{m}$; $I = 1 \text{ A}$; $R_{\text{ex}} = 5 \text{ mm}$; $h = 15 \mu\text{m}$, $s = 10 \mu\text{m}$; $N = 50; 75; 100; 120; 150$ vòng).

Kết quả tính toán được thể hiện trong Hình 4.6 (từ 1 – 5), trong đó mật độ từ thông được trích xuất dọc theo mặt cắt tại chính giữa của cuộn dây phẳng, như mô tả trên Hình 4.4 (a). Có thể thấy mật độ từ thông (tương ứng với lực từ để bắt giữ các hạt nano từ) giảm khi khoảng cách đến bề mặt cuộn dây xa dần tại các đường b; c và d, Hình 4.4 (b). Ngoài ra, từ các kết quả tính toán từ trường tại đường a, Hình 4.4 (b), cho thấy, khi số vòng dây tăng dần thì từ trường mạnh dần lên (tương ứng với “đường a” Hình 4.6 (b) của các hình (1 → 5)).

Trong thực nghiệm và kỹ thuật chế tạo hệ vi lưu cho việc bắt giữ hạt nano từ, việc đặt vùng bẫy từ của vi kênh càng sát bề mặt của cuộn dây càng tốt. Tuy nhiên, để bảo vệ cuộn dây khi làm việc (có dòng điện được) thì cần có lớp bảo vệ bề mặt cuộn dây. Lớp bảo vệ này tránh cho cuộn dây tiếp xúc trực tiếp với chất lỏng chảy trong vi kênh, vì thế lớp bảo vệ cần thiết phải được chế tạo càng mỏng càng tốt. Trong thực tế, lớp bảo vệ có độ dày hiệu quả có giá trị trong khoảng từ 5 – 10 μm . Với độ dày này, việc chế tạo khá thuận tiện bằng các kỹ thuật phủ quay (spin-coating) hoặc bốc bay (CVD hoặc PE-CVD) vật liệu cách điện trên bề mặt của cuộn dây, Hình 4.7.

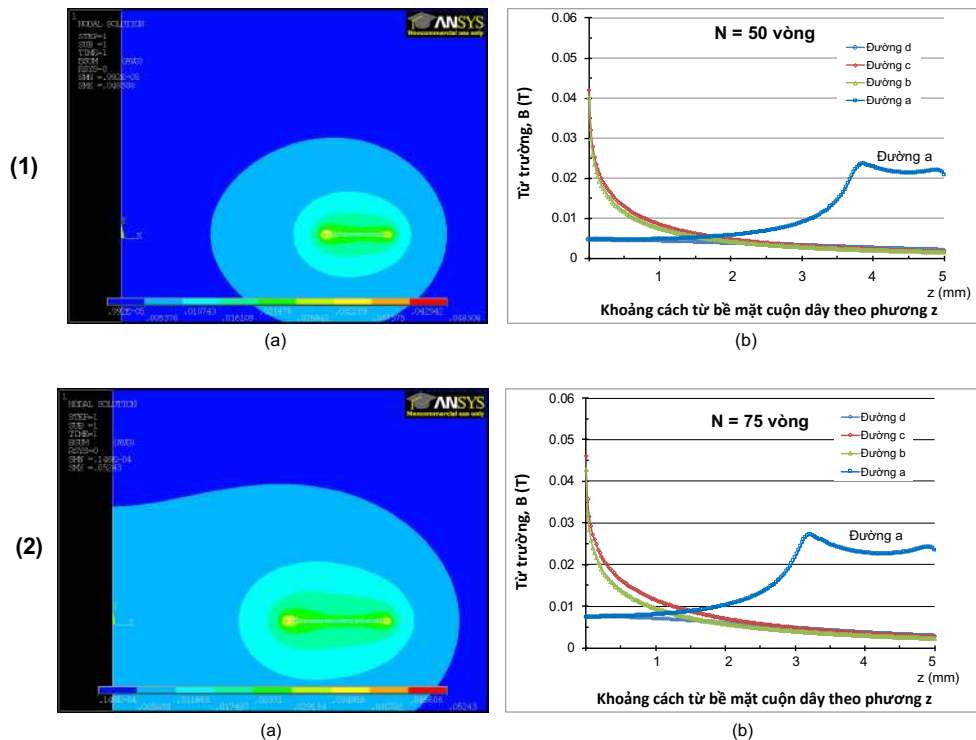


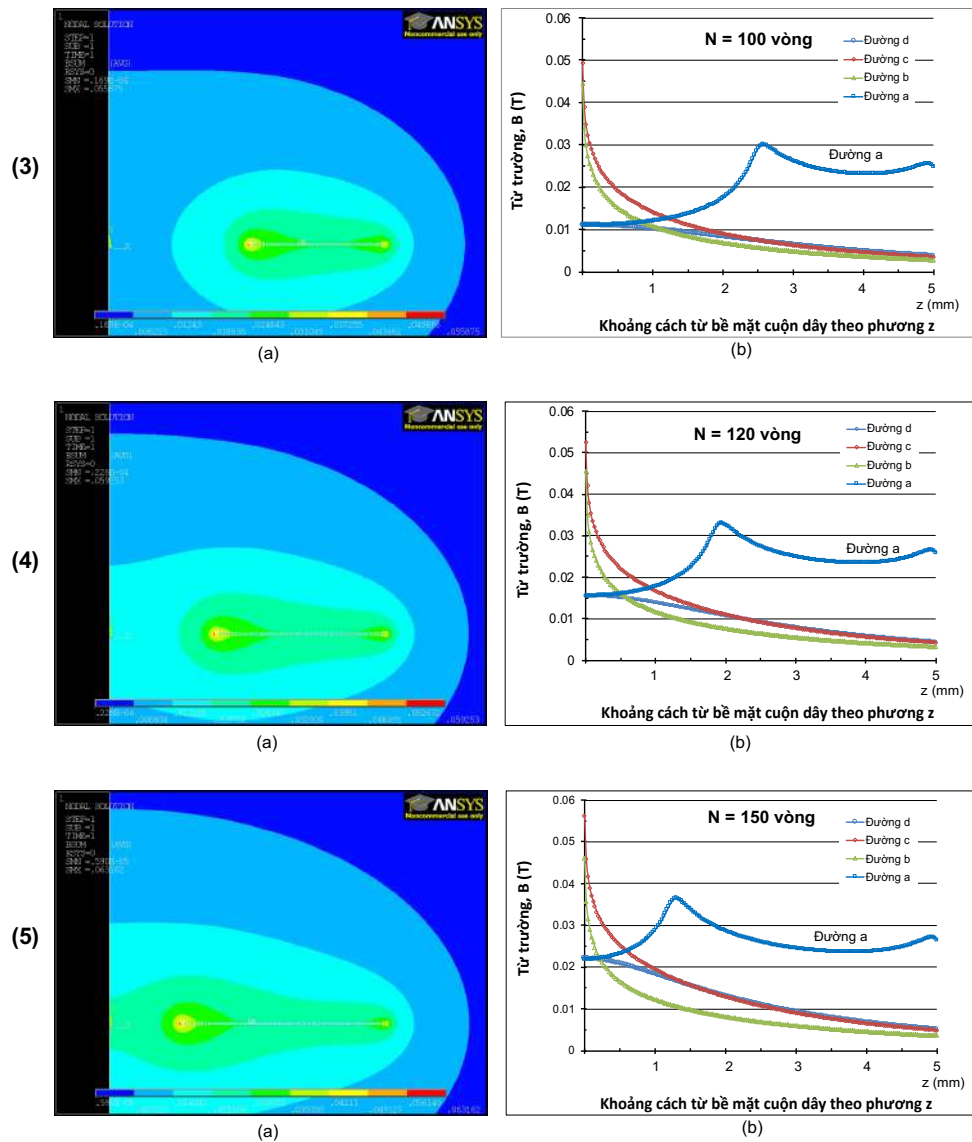
Hình 4.7. Mô tả lớp bảo vệ cuộn dây phẳng khi hoàn thiện hệ vi lưu

4.2.2. Kết quả tính toán từ trường với kích thước của dây dẫn: $L = 15 \mu\text{m}$

Các kết quả tính toán được thực hiện tương tự như đã trình bày trong Mục 4.2.1 ở trên, trong đó:

- ✓ Đường a: Từ trường biến thiên theo trục x (tính từ tâm của cuộn dây ra tới rìa ngoài cùng của cuộn dây).
- ✓ Đường b - d: Từ trường biến thiên theo trục z (tính từ bề mặt của cuộn dây)
- Các thông số đầu vào cố định là $R_{\text{ex}} = 5 \text{ mm}$; $h = 15 \mu\text{m}$, $s = 10 \mu\text{m}$, cường độ dòng điện đặt vào cuộn dây được giả định là $I = 1 \text{ A}$;
- Số vòng dây, $N = 50; 75; 100; 120; 150$ vòng

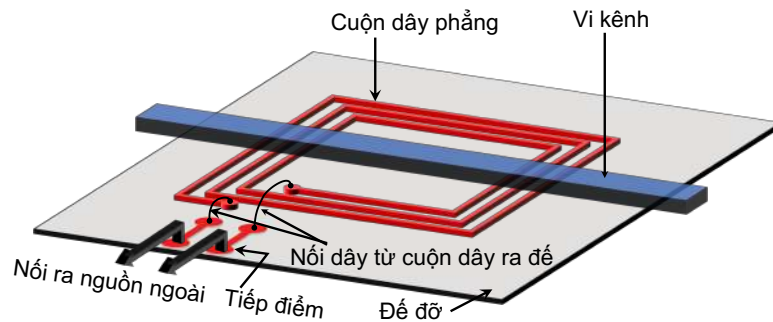




Hình 4.8. (a). Mật độ từ thông tạo ra trên bề mặt cuộn dây; (b) Từ trường tính tại các đường a, b, c, d tương ứng với các thông số ($L = 15 \mu\text{m}$; $I = 1 \text{ A}$; $R_{\text{ex}} = 5 \text{ mm}$; $h = 15 \mu\text{m}$, $s = 10 \mu\text{m}$; $N = 50; 75; 100; 120; 150$ vòng).

Kết quả tính toán được thể hiện trên hình Hình 4.8. Từ kết quả ta thấy: Khi số vòng dây tăng dần độ mạnh của từ trường tăng tương ứng. Điều này tương tự như với kết quả tính khi độ rộng của dây dẫn của cuộn dây là $10 \mu\text{m}$. Tuy nhiên, với cùng số vòng dây (N) thì dây dẫn lớn hơn sẽ cho từ trường lớn hơn (khoảng từ 5 – 10 %). Ngoài ra, độ lớn của dây dẫn tăng lên sẽ tạo ra độ phủ của dây dẫn trên bề mặt cuộn dây nhiều hơn so với cuộn dây có dây dẫn nhỏ. Với mục đích cần tạo ra khoảng trống trên bề mặt cuộn dây để có được hai vùng bẫy hạt nano từ và thuận tiện cho vấn đề kết nối và chế tạo đơn giản nên thiết kế cuộn dây sẽ lựa chọn loại cuộn dây có kích thước sợi dây nhỏ hơn. Mô tả cách kết nối cuộn dây với nguồn điện bên ngoài được

thể hiện trên Hình 4.9. Kết nối này được thực hiện bằng kỹ thuật hàn dây (micro wire-bonding).



Hình 4.9. Mô tả kết nối cuộn dây phẳng với nguồn bên ngoài

Như vậy, các cuộn dây được thiết kế với số vòng dây không quá lớn để đảm bảo còn khoảng không gian ở phía giữa cuộn dây để thực hiện các kỹ thuật kết nối và bắt hạt nano từ theo hai vùng.

4.2.3. Kết quả tính toán tiêu thụ năng lượng trong cuộn dây

Năng lượng tiêu thụ trong cuộn dây sẽ được tính tương ứng với các thông số cuộn dây được đưa vào mô phỏng tính toán từ trường. Trong phần tính toán này, công suất tiêu thụ của các cuộn dây sẽ được tính dựa trên hiệu ứng Joule:

$$P = R \cdot I^2 = V_{Cu} \cdot \rho_{Cu} \cdot J^2 \quad (9)$$

trong đó I là cường độ dòng điện chạy qua cuộn dây, J là mật độ dòng điện (trong tính toán, cường độ dòng điện được giả định là 1 A, trong thực tế dòng điện đặt vào cuộn dây là 50 mA), V_{Cu} là thể tích của cả cuộn (tính bằng tổng thể tích sợi dây đồng trong cuộn dây), ρ_{Cu} là điện trở suất của đồng, $\rho_{Cu} = 1,68 \cdot 10^{-8}$ ($\Omega \cdot m$).

Kết quả tính toán được thể hiện trong Bảng 4.2. Từ kết quả tính công suất tiêu thụ dòng điện trong cuộn dây ta thấy: kích thước của sợi dây càng lớn, thì năng lượng tiêu thụ càng lớn. Công suất tiêu thụ điện trong cuộn dây có kích thước $L = 15 \mu m$ lớn hơn so với cuộn dây có $L = 10 \mu m$. Tuy nhiên, nếu dòng điện đặt vào cuộn dây nhỏ thì sự tỏa nhiệt từ cuộn dây theo hiệu ứng Joule Lenz không nhiều. Mà điều này đã được chứng minh từ kết quả tính toán từ trường trên Hình 4.6 và Hình 4.8.

Bảng 4.2. Bảng tính công suất tiêu thụ trong cuộn dây: $\rho_{Cu} = 1,68.10^{-8} (\Omega.m)$; $L = 10$ và $15 \mu m$; $I = 0,05$ và 1 A tương ứng với $J = 6,67.10^9$ và $5,00.10^8$ A/m².

STT	N (vòng)	L = 15 (μm)			L = 10 (μm)		
		V (m ³)	P (W)		V (m ³)	P (W)	
			I = 1 (A)	I = 50 (mA)		I = 1 (A)	I = 50 (mA)
1	50	2,93.10 ⁻¹⁰	218,73	1,23	1,78.10 ⁻¹⁰	59,14	0,15
2	75	3,44.10 ⁻¹⁰	257,10	1,44	2,66.10 ⁻¹⁰	88,26	0,22
3	100	5,70.10 ⁻¹⁰	426,25	2,40	3,53.10 ⁻¹⁰	117,08	0,29
4	120	6,77.10 ⁻¹⁰	506,12	2,84	4,39.10 ⁻¹⁰	145,60	0,36
5	150	8,33.10 ⁻¹⁰	622,56	3,50	5,24.10 ⁻¹⁰	173,82	0,43

Tóm lại: từ các kết quả tính được cuộn dây sẽ được thiết kế theo các tiêu chí sau:

- ✓ Cuộn dây dạng phẳng
- ✓ Kích thước tổng thể 1 x 1 cm ($R_{ex} = 5$ mm)
- ✓ Số vòng dây của cuộn dây: 50; 75; 100 vòng (với mục đích phần dây dẫn sẽ chiếm tối đa một nửa không gian của cuộn dây).
- ✓ Kích thước của dây dẫn: $L = 10 \mu m$
- ✓ Khoảng cách giữa các dây dẫn: $s = 10 \mu m$

Trên cơ sở kích thước của cuộn dây được đề xuất ở trên, bước tiếp theo sẽ sử dụng các công cụ để thiết kế và chế tạo hệ cuộn dây.

4.3. Chế tạo các cuộn dây phẳng cho mô đun bẫy hạt nano từ.

Cuộn dây phẳng được chế tạo bằng công nghệ vi cơ điện tử (MEMs). Quy trình chế tạo gồm các bước cơ bản sau:

- ✓ Thiết kế mặt nạ cho chế tạo cuộn dây
- ✓ Chế tạo mặt nạ cho quá trình quang khắc
- ✓ Chế tạo khuôn
- ✓ Chế tạo các lớp của cuộn dây
- ✓ Hoàn thiện và kết nối với hệ thống để đỡ.

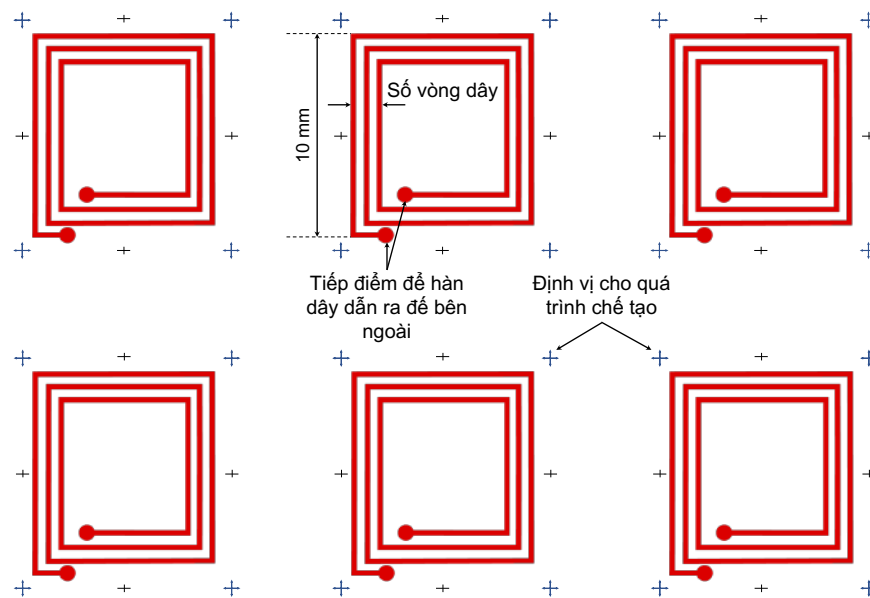
4.3.1. Thiết kế cuộn dây phẳng.

Các bước thiết kế cuộn dây:

- Thiết kế cấu trúc các cuộn dây
- Thiết kế mặt nạ sử dụng cho quá trình chế tạo bằng kỹ thuật quang khắc
- Thiết kế đế đỡ để kết nối cuộn dây với mạch điện bên ngoài.

4.3.1.1. Thiết kế cấu trúc cuộn dây.

Cuộn dây được thiết kế với cấu trúc như được mô tả trong Hình 4.10. Trong thiết kế này, các cuộn dây được đặt liên tiếp nhau với mục đích chế tạo được nhiều cuộn dây nhất trong một quy trình chế tạo. Các cuộn dây được chế tạo một lớp và một bước quang khắc để đảm bảo sự đơn giản và nhanh.



Hình 4.10. Bố trí các cuộn dây trên mặt nạ để thuận tiện cho quá trình chế tạo.

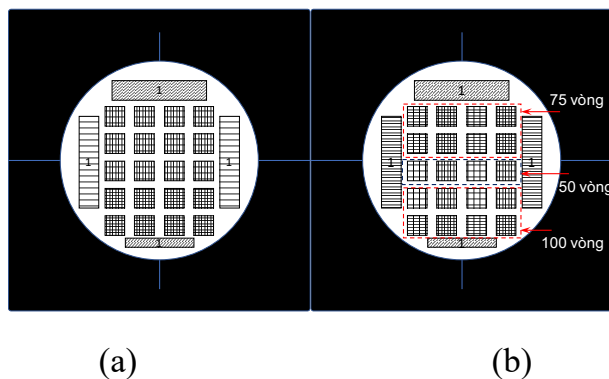
4.3.1.2. Thiết kế mặt nạ

Mặt nạ (photo mask) được thiết kế cho quá trình quang khắc trên đế silic loại 4 inch. Do hạn chế về không gian trên đế silic, chỉ một số thiết kế được mô phỏng trước đó được lựa chọn để bố trí trên mặt nạ. Do chi phí một lần chế tạo mặt nạ bằng công nghệ mặt nạ crom trên nền thạch anh nên khá đắt và kéo dài từ 2 - 4 tháng nên việc thiết kế các cuộn dây sẽ được lựa chọn cẩn thận. Các cuộn dây được lựa chọn để thiết kế trên mặt nạ là các cuộn dây có hiệu suất công suất tối ưu và có phần không gian đủ rộng trên bề mặt của cuộn dây. Vì vậy, ba loại cuộn dây với số vòng là: 50; 75 và 100 được lựa chọn để vẽ. Ba loại cuộn dây này sẽ được bố trí hợp lý trên bề

mặt để khi chế tạo và cắt thành các cuộn dây riêng biệt dễ dàng và thuận tiện cho quá trình sử dụng. Mặt nạ đã được thiết kế bằng phần mềm LaSI ver.7.0 (phần mềm chuyên dụng để thiết kế vi mạch điện tử, Layout System for Individuals - LaSI) cho quy trình một bước chế tạo bằng kỹ thuật quang khắc (photo-lithography). Mặt nạ được thiết kế như được mô tả trên Hình 4.11, trong đó tổng số cuộn dây được bố trí trên mặt nạ bao gồm:

- 4 cuộn dây 50 vòng;
- 8 cuộn dây 75 vòng;
- 8 cuộn dây 100 vòng

Để có được độ phân giải cao của các cuộn dây với các chi tiết có kích thước nhỏ ($< 10 \mu\text{m}$) thì mặt nạ được chế tạo bằng công nghệ của TOPPAN PHOTOMASK, Inc. trên tấm nền thạch anh (quartz substrate), lớp film cản sáng là crom.

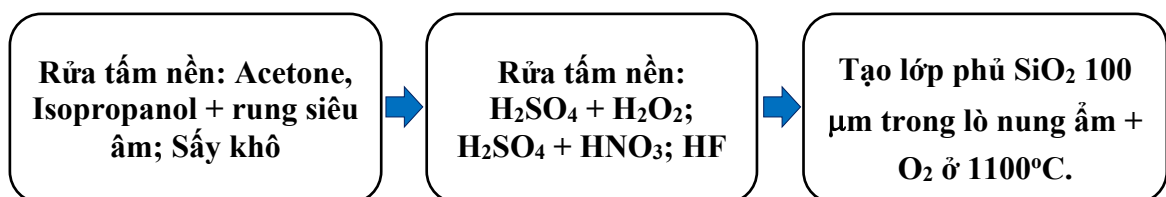


Hình 4.11. (a) Thiết kế mặt nạ dung cho chế tạo các cuộn dây. (b) Bố trí các cuộn dây với số vòng khác nhau trên mặt nạ; (1) Các vị trí định vị khác.

4.3.2. Chế tạo cuộn dây phẳng theo kỹ thuật chế tạo MEMs.

▪ Chuẩn bị đế Si

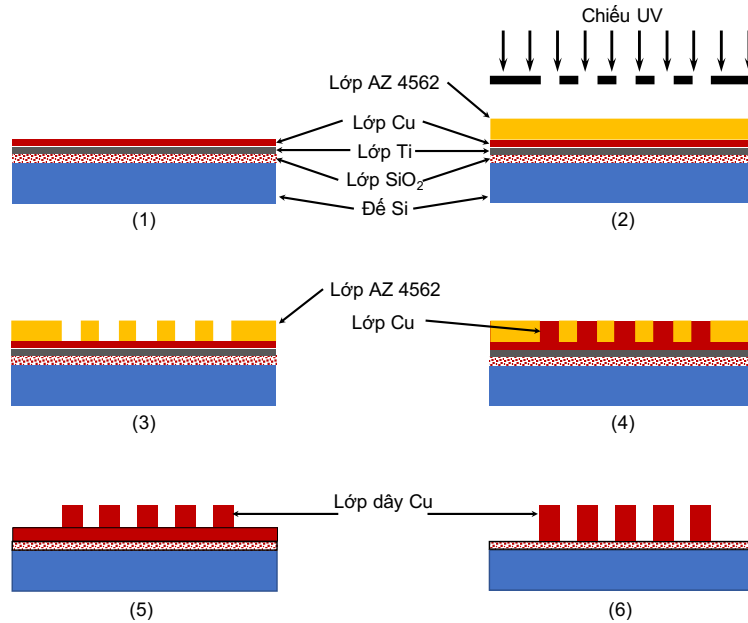
Các cuộn dây được chế tạo trên tấm nền Si (Si wafer) 4 inch loại 1.0.0 được phủ lớp SiO_2 mỏng cỡ $100 \mu\text{m}$. Tấm nền này được làm sạch và xử lý bề mặt (theo quy trình ba bước) trước khi đưa vào quá trình chế tạo cuộn dây, Hình 4.12.



Hình 4.12. Quy trình rửa và tạo lớp SiO_2 trên đế Si

▪ **Các bước chế tạo cuộn dây**

Các bước chế tạo cuộn dây được mô tả trên Hình 4.13.

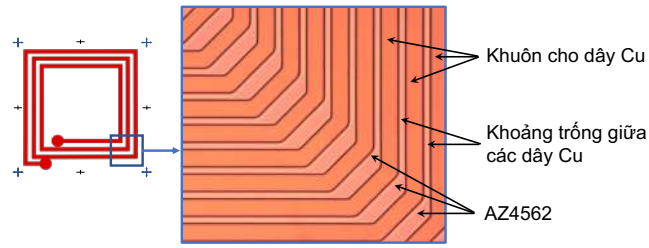


Hình 4.13. Quy trình chế tạo cuộn dây phẳng bằng phương pháp quang khắc. (1). Tạo lớp đế Ti/Cu (seed layers) trên nền tấm Si. (2). Tạo khuôn (mould) cho cuộn dây. (3). Rửa hiện hình của khuôn (development).

(1). Tạo lớp đế (seed layers) trên nền tấm Si: Hai lớp Ti (10 nm) và Cu (100 nm) được tạo ra bằng phương pháp bốc bay kim loại (DC Sputtering) sử dụng hệ bốc bay của hãng SysKey. Lớp này sẽ có chức năng dẫn điện và tạo độ bám dính cho các dây dẫn của cuộn dây.

(2). Tạo khuôn (mould) cho cuộn dây: Khuôn cho các sợi dây dẫn được tạo bởi phương pháp quang khắc sử dụng chất cảm quang âm AZ4562 (của hãng MicroChemicals, GmbH). Lớp AZ4562 được phủ quay (spin-coating) lên đế Si bằng máy phủ quay dày 20 μm , sau đó lớp chất cảm quang này được sấy ở 100°C trong 1 phút. Sau đó được đưa sang bước chiếu UV qua mặt nạ trong máy quang khắc (với cường độ UV chiếu xạ là 350 mJ/cm^2).

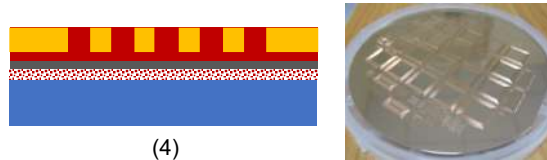
(3). Rửa hiện hình của khuôn (development): Sau khi chiếu UV xong, đế Si được rửa bằng dung dịch AZ 400K (với tỷ lệ AZ400K:H₂O là 1:4). Sau đó tráng rửa sạch bằng nước de-ion. Quá trình này có thể sử dụng thêm bước sấy lại để đóng rắn hoàn toàn chất cảm quang AZ4562 ở 115 °C trong 50 giây trên bếp gia nhiệt. Cần chú ý kiểm tra kỹ các khuôn của cuộn dây rồi mới thực hiện bước này.



3

Hình ảnh khuôn sau khi đã thực hiện quá trình quang khắc

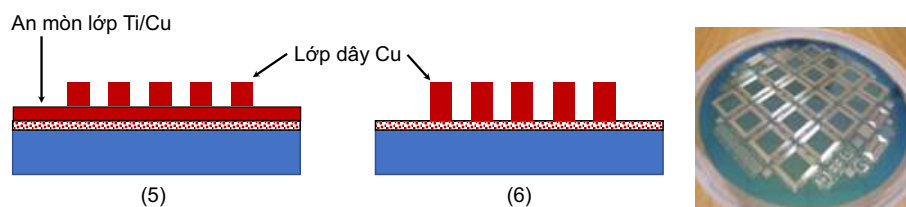
(4). Tạo dây dẫn của cuộn dây bằng phương pháp điện phân. Sau khi tạo khuôn xong, các phần dây dẫn của cuộn dây được chế tạo bằng phương pháp điện phân kết tủa Cu kim loại trên đế Si. Quá trình điện phân được thực hiện trên hệ máy AutoLab với nguồn điện phân 10A, dòng điện trong quá trình điện phân được kiểm soát bằng phần mềm Nova. Thông số cơ bản để xác định độ dày của dây dẫn Cu của cuộn dây được lựa chọn là: mật độ dòng điện: 30 mA/cm^2 ; thời gian điện phân 20 phút để đạt được độ dày khoảng $15 \mu\text{m}$ sau khi xử lý bề mặt, các sợi dây dẫn Cu bán tốt trên bề mặt và không bị xấp làm ảnh hưởng đến sự dẫn điện. Các thông số này được lựa chọn sau nhiều lần thí nghiệm với khoảng thời gian khác nhau, cường độ dòng điện là 30 mA/cm^2 là phù hợp với tổng diện tích bề mặt có thể bị điện phân.



(4)

Khuôn dây dẫn được điền đầy bởi Cu sau điện phân

(5). Loại bỏ lớp AZ4562 và ăn mòn lớp Ti/Cu để hoàn thiện cuộn dây: Sau khi điện phân lớp chất cảm quang AZ4562 được loại bỏ bằng cách hoàn tan trong dung môi Acetone. Rửa sạch nhiều lần và sấy khô ta được lớp cuộn dây gần hoàn chỉnh để đưa vào quá trình hoàn thiện cuộn dây.



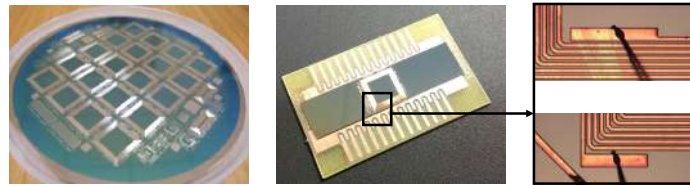
(5)

(6)

Loại bỏ lớp chất cảm quang AZ4562 và ăn mòn lớp Ti/Cu (seed layer)

Lớp Ti/Cu được loại bỏ bằng phương pháp ăn mòn khô (dry etching) trên hệ thống IBE Roth & Rau IonSys 500.

Các cuộn dây sau khi hoàn thiện sẽ được cắt thành các cuộn riêng biệt hoặc một số cuộn liên tiếp nhau sao cho phù hợp với các yêu cầu thí nghiệm, Hình 4.14.

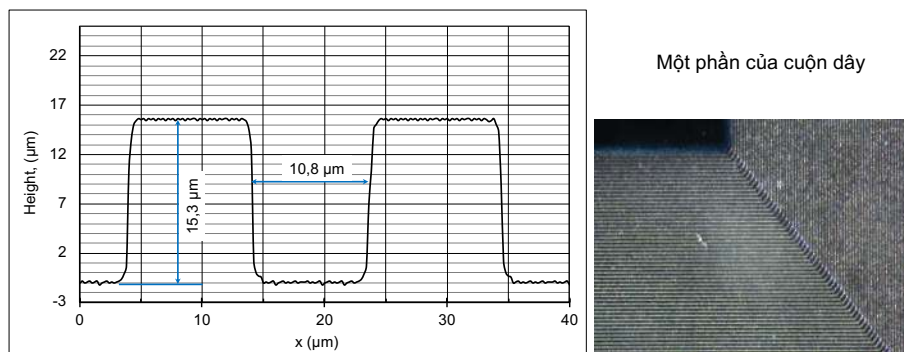


Cắt riêng các cuộn dây, ghép lên đế và hàn dây kết nối với hệ thống bên ngoài

Hình 4.14. Các cuộn dây phẳng đã hoàn thiện và ghép nối với đế

Cuộn dây hoàn thiện được kiểm tra các thông số cơ bản:

- ✓ Sự liên mạch của các dây dẫn của cuộn dây → sử dụng kính hiển vi và kiểm tra sự dẫn điện.
- ✓ Kích thước của dây dẫn: theo thiết kế là chiều rộng × cao: $10 \times 15 \mu\text{m}$, thông số đo đạc được bằng phương pháp đo Stylus profilometry: $10,8 \times 15,13 \mu\text{m}$, Hình 4.15.



Hình 4.15. Xác định kích thước hình học của dây dẫn Cu của cuộn dây bằng phương pháp đo Stylus Profilometry.

4.4. Kết quả nghiên cứu khả năng bắt giữ hạt nano từ của cuộn dây được tích hợp vào hệ vi lưu

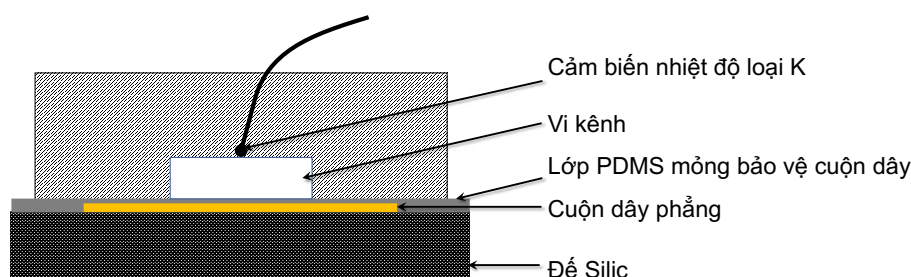
Trong phần này sẽ trình bày các kết quả khảo sát khả năng bắt giữ các hạt nano từ của cuộn dây phẳng khi tích hợp vào hệ vi lưu. Trên cơ sở nghiên cứu ảnh hưởng của cường độ dòng điện, tốc độ dòng chảy trong vi kênh đến nhiệt độ bên trong vi kênh của hệ vi lưu, khả năng bắt giữ hạt nano khi hệ vi lưu làm việc.

4.4.1. Ảnh hưởng của cường độ dòng điện đến nhiệt độ trong hệ vi lưu

Khi cuộn dây kết nối với nguồn một chiều và dòng được đặt vào hệ vi lưu tích hợp, nhiệt độ trên bề mặt của cuộn dây tăng lên do hiệu ứng Joule. Về nguyên tắc,

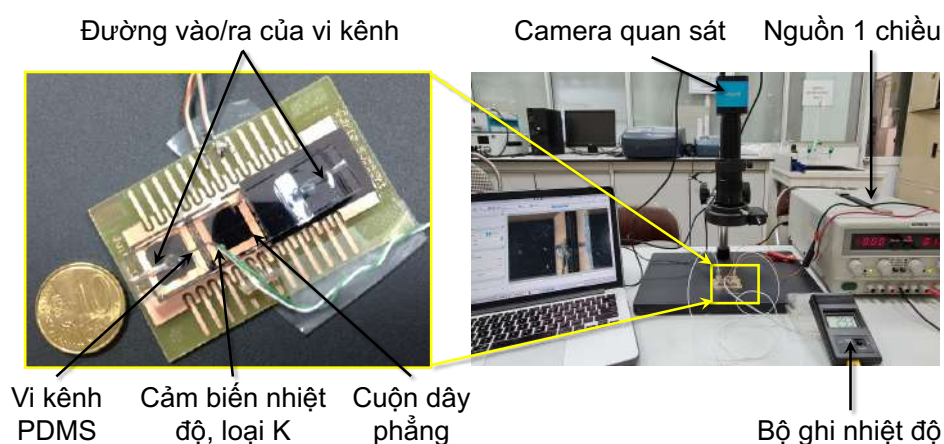
khi cần giá trị từ trường càng lớn thì cần đặt vào cuộn dây cường độ dòng điện càng lớn. Điều này dẫn đến, nhiệt độ trên bề mặt cuộn dây càng tăng theo cường độ dòng điện đặt vào. Ngoài ra, hiệu ứng tăng nhiệt độ này có ảnh hưởng lớn đến các ứng dụng hệ vi lưu trong các phân tích sinh học và các ứng dụng khác. Do vậy, các cuộn dây chỉ được phép đặt dòng điện có cường độ thích hợp để đạt được nhiệt độ tương thích sinh học thích hợp nhất. Kết quả khảo sát sự tăng nhiệt độ do các cuộn dây tạo ra khi làm việc là cần thiết, và điều này cũng đã được đề cập đến trong phương án thiết kế và chế tạo hệ cuộn dây.

Trong nghiên cứu này, nhiệt độ trong vi kênh được đo bằng cảm biến nhiệt độ nhỏ (loại K, đường kính kích thước đầu cảm biến là 0,5 mm) được tích hợp ngay trên đỉnh của vi kênh PDMS, như mô tả trong Hình 4.16.



Hình 4.16. Mô tả việc đặt cảm biến nhiệt độ trên đỉnh của vi kênh

Cảm biến nhiệt độ được tích hợp lên đỉnh của vi kênh ngay trong quá trình chế tạo vi kênh (như mô tả trong Chương 2). Thí nghiệm đo nhiệt độ trong hệ vi lưu khi có dòng điện đặt vào các cuộn dây phẳng trong quá trình bẫy hạt nano từ được mô tả trong hình Hình 4.17.



Hình 4.17. Sơ đồ thí nghiệm khảo sát sự biến đổi nhiệt độ của cuộn dây phẳng khi áp dòng điện một chiều (DC) vào hệ.

Nhiệt độ được ghi lại bằng bộ ghi nhiệt độ loại cảm biến K kỹ thuật số trong quá trình cấp dòng điện vào cuộn dây. Dòng điện trong cuộn dây được điều khiển bằng nguồn một chiều tuyến tính. Hai thí nghiệm đã được thực hiện bao gồm:

- *Thí nghiệm 1:* Đo nhiệt độ trong vi kênh khi vi kênh làm việc (có dòng điện cấp vào cuộn dây) có chất lỏng được bơm vào kênh bằng bơm lưu lượng (với tốc độ dòng chảy 25 $\mu\text{L}/\text{phút}$, lưu lượng dòng chảy tương ứng với lưu lượng dòng khí hệ vi lưu làm việc), chất lỏng được sử dụng là nước cất.
- *Thí nghiệm 2:* Đo nhiệt độ trong vi kênh khi vi kênh làm việc (có dòng điện cấp vào cuộn dây) và không có chất lỏng được bơm vào vi kênh.

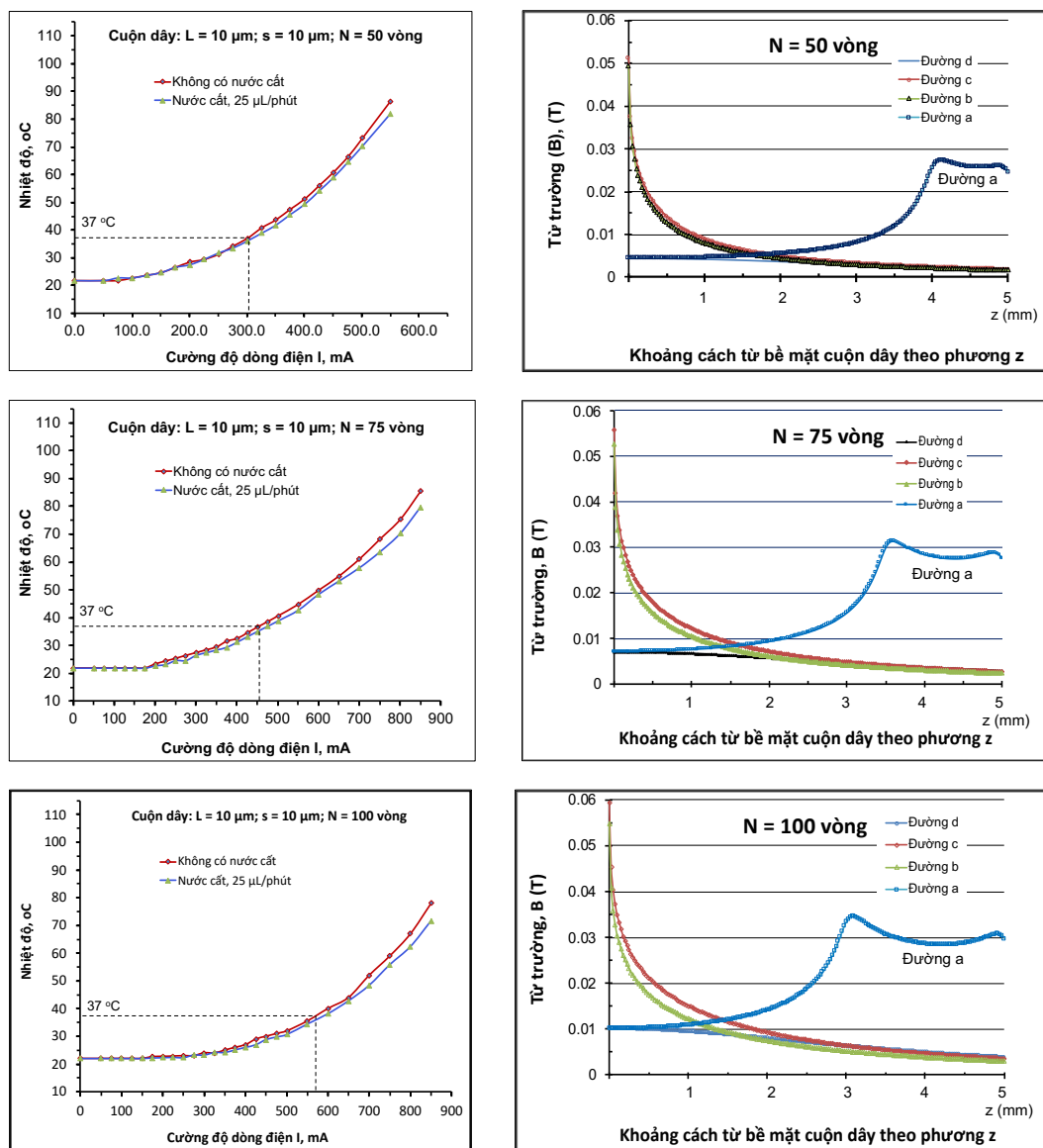
Kết quả của phép đo nhiệt độ được thể hiện trong Hình 4.18. Kết quả đo nhiệt độ trong vi kênh được đồng thời so sánh với giá trị từ trường được sinh ra từ các cuộn dây phẳng tương ứng. Với số vòng dây tăng dần thì nhiệt độ giảm dần tương ứng với số vòng dây của cuộn dây tăng ở cùng một giá trị cường độ dòng điện đặt vào.

Kết quả cũng cho thấy khả năng làm việc của cuộn dây ở các ứng dụng khác nhau như:

(1). Nếu cần tạo ra giá trị từ trường lớn và nhiệt độ làm việc thấp thì cuộn dây có số vòng lớn sẽ phù hợp.

(2). Nếu cần tạo ra giá trị từ trường phù hợp và sinh nhiệt để gia nhiệt cho chất lỏng trong vi kênh thì các cuộn dây có số vòng nhỏ hơn sẽ phù hợp hơn.

Từ kết quả trong hình Hình 4.18 cho thấy nhiệt độ bên trong vi kênh trong hai thí nghiệm này có cùng tốc độ biến thiên nhiệt độ theo cường độ dòng điện đặt vào cuộn dây. Như vậy, tùy thuộc vào các ứng dụng của vi lưu tích hợp thì cường độ dòng điện có thể điều chỉnh ở mức phù hợp. Ví dụ, trong phân tích sinh học, nhiệt độ cần được kiểm soát dưới 37 °C, hoặc trong mục đích chỉ để sấy các hạt nano từ thì nhiệt độ có thể cao hơn.



Hình 4.18. Ảnh hưởng của cường độ dòng điện đặt vào cuộn dây đến nhiệt độ trong vi kênh khi hệ vi lưu làm việc.

Nếu trong phân tích sinh học theo kỹ thuật ELISA thì yêu cầu nhiệt độ không được phép vượt quá 37 °C thì cường độ dòng điện cần đặt vào phải nhỏ hơn 305; 450 và 570 mA (tương ứng với các cuộn dây với số vòng khác nhau lần lượt là 50; 75 và 100 vòng). Ngoài ra, để có thể bắt giữ hiệu quả các hạt nano từ với cường độ dòng điện này, các nghiên cứu tiếp theo về ảnh hưởng của cường độ dòng điện đến khả năng bắt giữ các hạt nano từ cho mục đích phân tích y sinh theo kỹ thuật ELISA.

Như vậy, nếu cần duy trì khả năng bắt giữ hạt nano từ trong điều kiện nhiệt độ < 37°C thì các cuộn dây đã chế tạo sẽ phải làm việc với cường độ dòng điện đặt vào theo Bảng 4.3:

Bảng 4.3. Cường độ dòng điện lớn nhất khi đặt vào các cuộn dây khác nhau để ổn định nhiệt độ làm việc tối đa là 37°C trong vi kênh.

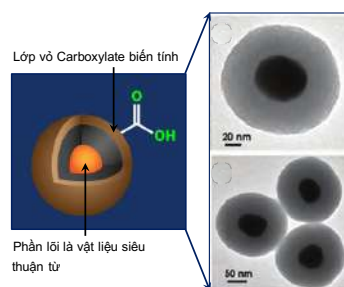
Thông số cuộn dây	Giá trị cường độ dòng điện (mA)
<i>Kích thước chung: kích thước tổng 1 cm; dây dẫn 10x10 μm</i>	
- Cuộn dây 1: 50 vòng	300
- Cuộn dây 2: 75 vòng	450
- Cuộn dây 3: 100 vòng	570

4.4.2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của cường độ dòng điện đến khả năng bắt giữ hạt nano từ.

4.4.2.1. Khảo sát sơ bộ khả năng bắt giữ hạt nano từ

Trong nghiên cứu này, các hạt từ thương mại, Dynabeads® MyOne™ Carboxylic Acid, với đường kính 1,05 μm, được sử dụng để nghiên cứu khả năng bắt giữ hạt nano từ bằng các cuộn dây phẳng.

Hạt nano từ Dynabeads MyOne™ Carboxylic Acid là các hạt siêu thuận từ đồng nhất, có đường kính 1,05 μm. Hạt nano từ này có cấu tạo dạng lõi vỏ (core-shell) với lớp vỏ bọc phần lõi vật liệu từ (oxit sắt) được cấu tạo từ polystyrene, Hình 4.19.



Hình 4.19. Cấu trúc lõi vỏ (Core – Shell) của hạt nano từ Dynabeads® MyOne™ Carboxylic Acid

Bề mặt ngoài cùng của hạt nano từ được phủ một lớp glycidyl ete ưa nước với các nhóm chức axit cacboxylic (-COOH) được cố định trên bề mặt của các hạt. Do bề mặt có tính ưa nước, nên khả năng phân tán tốt trong môi trường có chứa chất hoạt động bề mặt và dễ xử lý trong nhiều loại đệm khác nhau. Các hạt này cũng có tính

linh động cao và dễ di chuyển trong từ trường, tốc độ lắng thấp khiến chúng trở nên lý tưởng cho các xét nghiệm theo kỹ thuật ELISA tự động.

Các đặc trưng cơ bản của hạt nano từ Dynabeads® MyOne™ Carboxylic Acid được thể hiện trong Bảng 4.4.

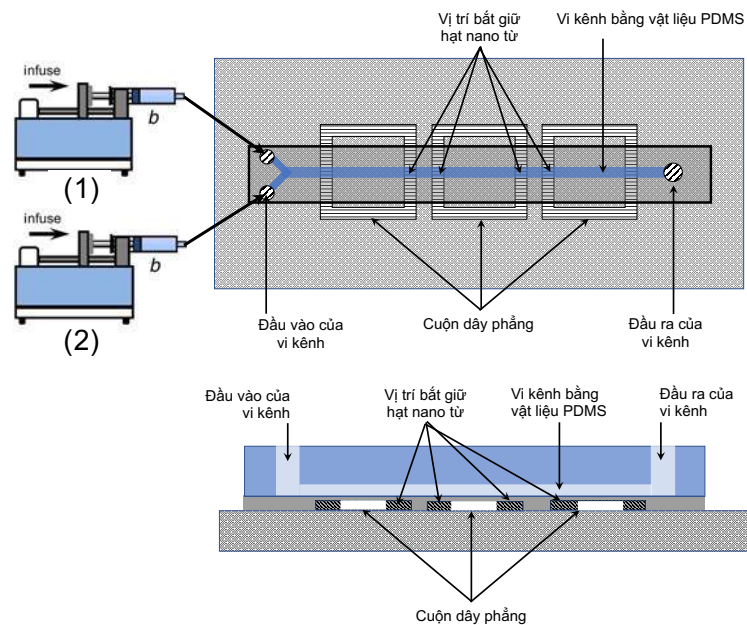
Bảng 4.4. Các đặc trưng cơ bản của hạt nano từ Dynabeads® MyOne™ Carboxylic Acid (Catalog number: 65012 (10 mL) của hãng ThermoFisher Scientific).

Thông số	Giá trị
- Nồng độ khối lượng	10 mg/mL
- Nồng độ hạt	$7-12 \cdot 10^9$ hạt/mL
- Kích thước hạt nano	1,05 μ m
- Môi trường phân tán	Đệm MES (dung dịch axit 2-(N-morpholino)ethanesulfonic
- Nồng độ nhóm chức	0,6 mmol/g hạt nano
- Khối lượng riêng của hạt	1,8 g/cm ³

Đầu tiên, các hạt nano từ này được pha loãng (từ nồng độ gốc 10 mg/mL) bằng cách phân tán trong dung dịch đệm photphat (Phosphate-buffered saline - PBS, pH = 7,4) ở nồng độ khối lượng 10 mg/L. Hai dòng chất lỏng được 2 bơm vi lượng bơm vào vi kênh của chip vi lưu bao gồm: dòng (1) chỉ chứa đệm PBS dùng để rửa vi kênh trước và sau khi thí nghiệm; dòng (2) chứa các hạt nano từ được phân tán trong đệm PBS với nồng độ khối lượng là 10 mg/L. Vi kênh sử dụng trong thí nghiệm này là dạng thẳng với hai đầu vào. Độ rộng của vi kênh là 250 μ m, cao 50 μ m và dài 4,5 cm, tốc độ dòng chảy vào của mỗi bơm là 10 μ L/phút. Sơ đồ chip vi lưu trong thí nghiệm này được mô tả trên Hình 4.20.

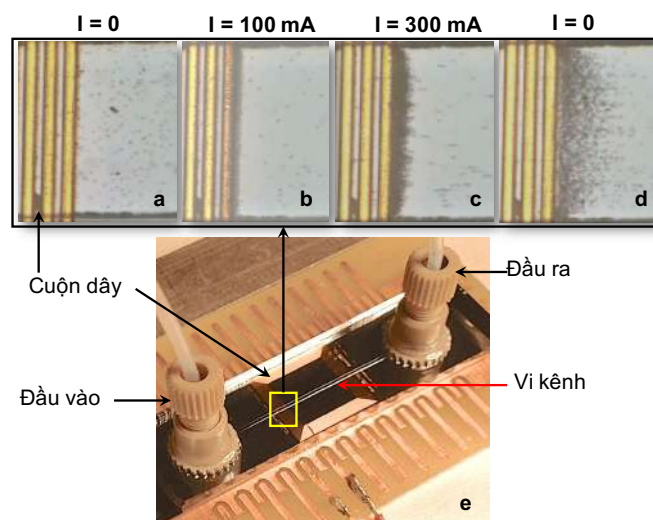
Bơm lưu lượng (1) bơm dung dịch PBS (với lưu lượng 10 μ L/phút) vào vi kênh trong 1 phút để làm ướt bề mặt kênh. Bước này rất quan trọng và cần thiết để hạn chế sự bám dính của các hạt trên bề mặt kênh và loại bỏ khả năng tạo bọt bên trong kênh trong toàn bộ thí nghiệm. Sau đó, bơm (2) bơm các hạt nano từ phân tán trong dung dịch PBS với lưu lượng dòng ở mức 2 μ L/phút. Hai bơm hoạt động luân phiên trong quá trình thử nghiệm bắt giữ hạt nano từ, ví dụ, trong bước đầu tiên - làm ướt kênh, bơm (1) bơm PBS vào vi kênh, bơm (2) dừng. Ngược lại, khi cần bắt hạt

nano từ thì bơm (2) sẽ bơm dung dịch hạt nano từ và vi kênh còn bơm (1) dừng. Tại vị trí bắt hạt nano từ được quan sát bằng kính hiển vi kỹ thuật số (kính hiển vi kỹ thuật số KEYENCE VHX – 1000).



Hình 4.20. Sơ đồ thí nghiệm bắt thử nghiệm giữ hạt nano từ

Kết quả khảo sát khả năng bắt giữ hạt nano từ của chip vi lưu tích hợp cuộn dây phẳng được thể hiện trong Hình 4.21.



Hình 4.21. Bắt giữ các hạt nano từ trong vi kênh 250 μm của chip vi lưu với dòng điện đặt vào các cuộn dây phẳng (I): (a) $I = 0$ mA; (b) $I = 100$ mA; (c) $I = 300$ mA, (d) $I = 0$ mA. (e) Hệ vi lưu, với vi kênh rộng 250 μm , cao 50 μm và dài 4,5 cm. Lưu lượng bơm vào vi kênh: 2 $\mu\text{L}/\text{phút}$

- Cuộn dây phẳng được sử dụng để bắt giữ hạt nano từ là: kích thước 1 cm; 75 vòng, dây dẫn 10x10 μm .

- Tốc độ bơm lưu lượng: 2 μL /phút với nồng độ hạt nano từ 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$
- Dòng điện đặt vào cuộn dây: 1,5 - 2 V; I = 0; 60; 100; 200; 300; 400; 500 mA

Từ Hình 4.21 (a - d) cho thấy rằng, khi áp dòng điện một chiều vào cuộn dây (ở cường độ dòng 100 và 300 mA), các hạt từ bị giữ lại ở tại các dây dẫn (Hình 4.21.(b, c)). Với giá trị cường độ dòng điện lớn thì khả năng bắt giữ hạt nano sẽ lớn hơn. Khi ngắt dòng điện, các hạt từ được giải phóng ra khỏi các dây dẫn này và chảy dọc theo vi kênh. Mục tiêu của thí nghiệm này là khảo sát khả năng bắt giữ các hạt nano tại các vị trí mong muốn của cuộn dây ở chế độ dòng chảy liên tục với các giá trị lưu lượng bơm vào khác nhau. Về bản chất, khi tốc độ dòng chảy lớn các hạt nano sẽ bị dòng chất lỏng cuốn đi thay vì bị bắt giữ lại tại các vị trí có cường độ từ trường đủ lớn hay nhỏ.

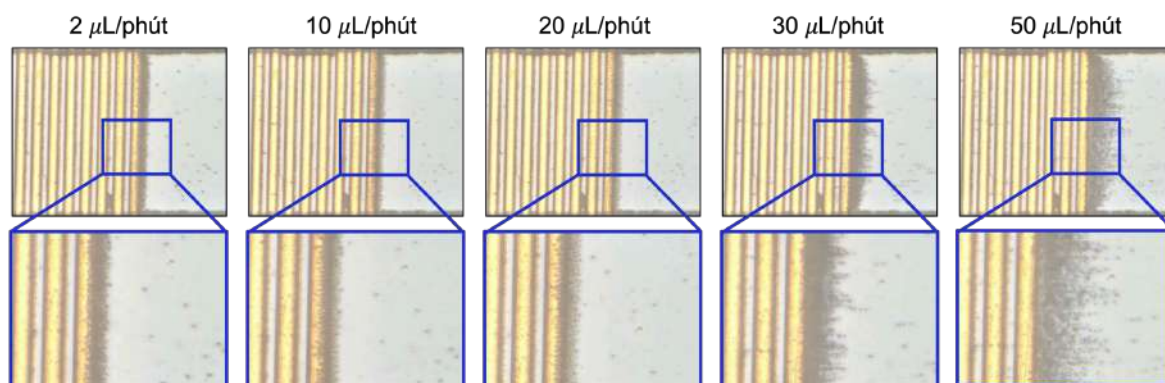
4.4.2.2. Ảnh hưởng của lưu lượng dòng bơm vào vi kênh đến khả năng bắt giữ hạt nano từ.

Từ kết quả khảo sát được trình bày trong Bảng 4.3 và Hình 4.22, trong phần này các nghiên cứu ảnh hưởng của lưu lượng dòng chất lỏng trong vi kênh đến khả năng bắt giữ hạt nano từ. Trong đó cường độ dòng điện đặt vào các cuộn dây ở mức lớn nhất 300 và 570 mA tương ứng với các cuộn dây có số vòng lần lượt là 50 và 100 vòng. Thông số thực nghiệm được cho trong Bảng 4.5.

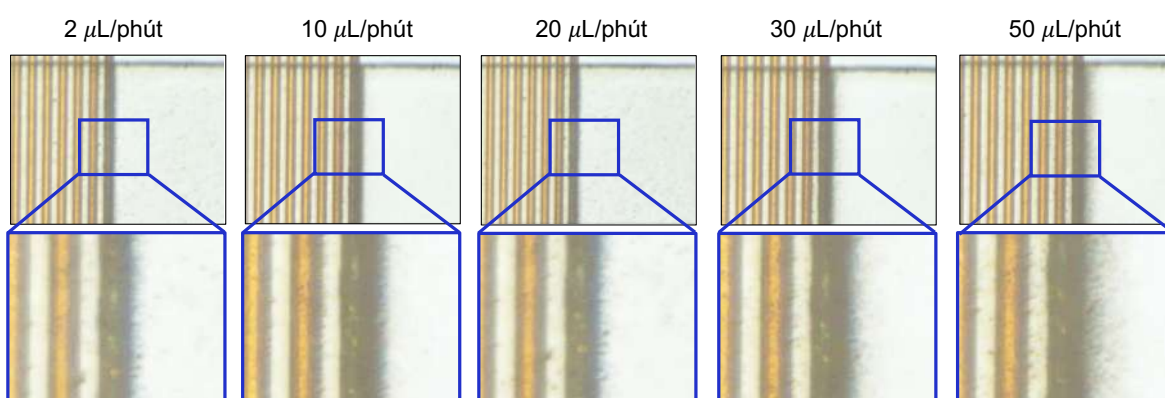
Bảng 4.5. Thông số thí nghiệm cho thử nghiệm ảnh hưởng của lưu lượng dòng chất lỏng bơm vào vi kênh đến khả năng bắt giữ hạt nano từ.

Lưu lượng dòng chất lỏng bơm vào vi kênh, $\mu\text{L}/\text{phút}$	Cuộn dây N = 50 vòng	Cuộn dây N = 100 vòng
2 $\mu\text{L}/\text{phút}$	Cường độ dòng điện: I = 300 mA	Cường độ dòng điện: I = 570 mA
10 $\mu\text{L}/\text{phút}$	Cường độ dòng điện: I = 300 mA	Cường độ dòng điện: I = 570 mA
20 $\mu\text{L}/\text{phút}$	Cường độ dòng điện: I = 300 mA	Cường độ dòng điện: I = 570 mA
30 $\mu\text{L}/\text{phút}$	Cường độ dòng điện: I = 300 mA	Cường độ dòng điện: I = 570 mA
50 $\mu\text{L}/\text{phút}$	Cường độ dòng điện: I = 300 mA	Cường độ dòng điện: I = 570 mA

Cường độ dòng điện $I = 300 \text{ mA}$; Cuộn dây $N = 50$ vòng



Cường độ dòng điện $I = 570 \text{ mA}$; Cuộn dây $N = 100$ vòng



Hình 4.22. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của lưu lượng dòng chất lỏng đến khả năng bắt giữ hạt nano từ trong vào hệ vi lưu. Điều kiện khảo sát: vi kênh rộng $250 \mu\text{m}$, cao $50 \mu\text{m}$ và dài $4,5 \text{ cm}$.

Từ kết quả Hình 4.22 cho thấy khi lưu lượng bơm chất lỏng tăng lên đến $50 \mu\text{L}/\text{phút}$ thì các hạt nano từ bắt đầu có dấu hiệu bị cuốn ra khỏi vị trí của cuộn dây. Trong đó, cuộn dây với số vòng 50 bắt giữ hạt nano từ kém hơn so với cuộn dây có số vòng 100. Mặc dù cường độ dòng điện đặt vào khác nhau nhưng với mục tiêu là duy trì nhiệt độ ổn định khoảng $35 - 37^\circ\text{C}$ nên cuộn dây với số vòng 100 và cường độ dòng điện đặt vào là 570 mA sẽ bắt giữ hạt nano từ tốt hơn. Tuy nhiên, trong thực tế các thí nghiệm sử dụng từ trường để bắt giữ các hạt nano thì lưu lượng dòng bơm vào vi kênh không lớn đến giá trị này. Thông thường, lưu lượng dòng bơm vào vi kênh chỉ tối đa là $20 \mu\text{L}/\text{phút}$.

CHƯƠNG 5. TÍCH HỢP CẢM BIẾN ĐIỆN HOÁ VÀO HỆ VI LƯU ỨNG DỤNG CHO PHÂN TÍCH KHÁNG SINH.

Trong phần này sẽ trình bày các kết quả nghiên cứu chế tạo chip vi lưu tích hợp cảm biến điện hóa được biến tính ứng dụng trong việc xác định kháng sinh Sulfamethoxazole sử dụng trong chăn nuôi. Chip vi lưu được chế tạo bằng vật liệu PDMS bằng công nghệ đúc nguyên khối, kích thước của kênh chính: rộng 500 μm , dài 3,5 cm, cao 50 μm . Hệ vi kênh này có hai vùng chức năng cơ bản: vùng khuấy trộn đa dòng chất lỏng và vùng chứa điện cực. Vi kênh được gắn trên đế bằng kỹ thuật gắn tạm thời để có thể sử dụng lại điện cực và vi kênh nhiều lần. Hệ điện cực sử dụng trong xác định kháng sinh là điện cực mạch in (SPE) của hãng DropSens (loại DS-110). Điện cực được biến tính bằng vật liệu rGO/PDA-CuNPs để tăng độ nhạy và độ ổn định bề mặt. Kháng sinh Sulfamethoxazole được xác định bằng kỹ thuật quét thế xung sóng vuông (SWV) cho thấy hiệu quả của vật liệu và độ nhạy tăng đáng kể so với điện cực chưa biến tính bề mặt. Kết quả phân tích kháng sinh bằng phương pháp điện hóa cho độ nhạy cao thời gian phân tích ngắn, lượng mẫu sử dụng nhỏ. Hệ vi lưu tích hợp cảm biến được sử dụng để xác định hàm lượng kháng sinh Sulfamethoxazole (SMX) mẫu thuốc thú y T.T.S Năm Thái (Của công ty TNHH thuốc thú y Năm Thái) cho kết quả có độ chính xác cao. Hệ điện cực có thể tái sử dụng nhiều lần với độ lặp lại tốt.

5.1. Thiết kế hệ vi lưu tích hợp điện cực mạch in biến tính

5.1.1. Thiết kế chip vi lỏng

Hình 5.1 là thiết kế mặt nạ (mask) cho hệ vi kênh của chip vi lưu với cấu trúc gồm ba đường vào cho dòng chất lỏng và một đường ra.

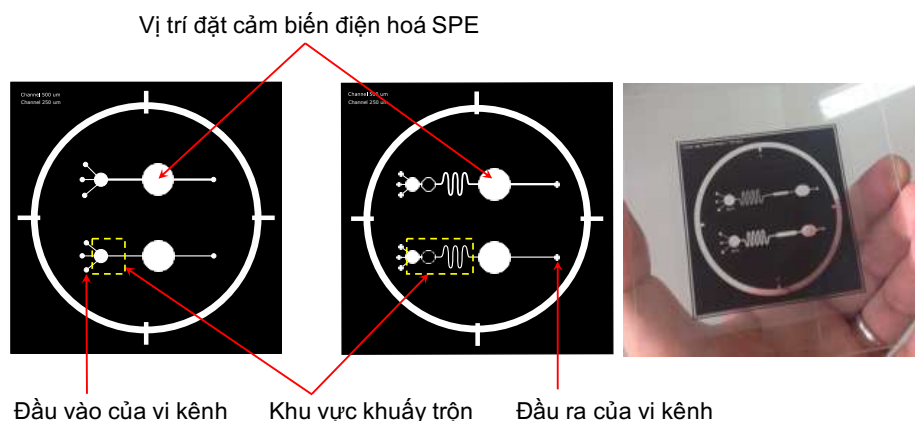
Dòng vào hệ vi kênh bao gồm:

- Dòng đệm để rửa trước và sau khi tiến hành phân tích.
- Dòng mẫu cần đo;
- Dòng chất để hoạt hoá bề mặt cảm biến.

Ngoài ra, hệ vi kênh chứa hai vùng chức năng: Vùng khuấy trộn và vùng tích hợp cảm biến điện hóa (điện cực mạch in dạng phẳng SPE đã được chức năng hoá và

biến tính bề mặt). Kích thước của vi kênh: Rộng 250 và 500 μm ; Cao 50 μm ; Tổng chiều dài 3,5 cm.

Mask được thiết kế với độ phân giải cao 6000 dpi để đảm bảo các điểm uốn của kênh tròn, không có gờ khi chế tạo bằng quang khắc. Mask này được chế tạo trên nền màng polymer (polycarbonate) và được in bằng công nghệ in phun.

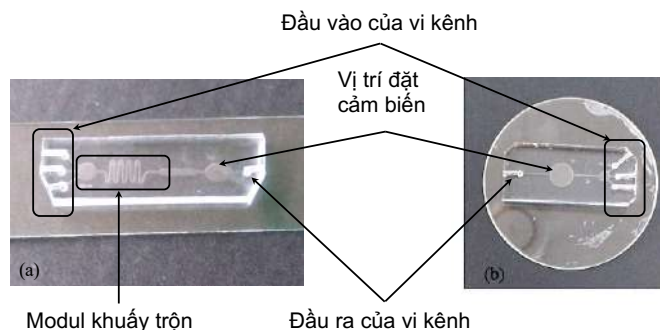


Hình 5.1. Thiết kế Mask cho chip vi lỏng có kết cấu gồm khu vực có chức năng khuấy trộn, vị trí tích hợp cảm biến điện hoá.

Quy trình chế tạo hệ vi kênh bằng vật liệu PDMS được thực hiện theo kỹ thuật đúc nguyên khối như đã được trình bày trong Chương 2. Hệ vi kênh sau khi chế tạo được mô tả trên Hình 5.2.

Hệ vi kênh (Hình 5.2.a) có kích thước cơ bản: Tổng chiều dài 3,5 cm; Vi kênh chính rộng 500 μm ; Cao 50 μm .

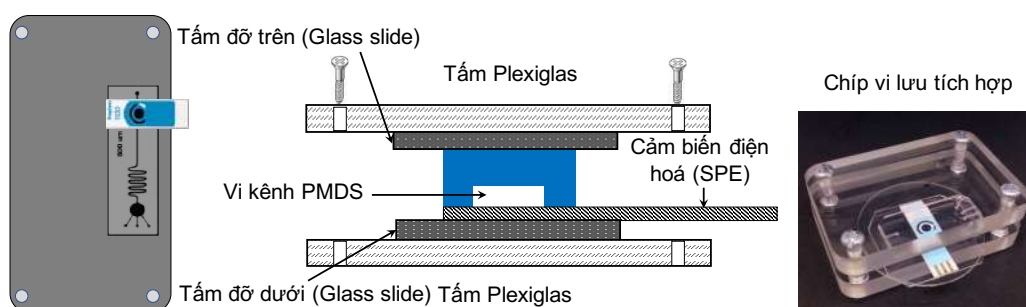
Hệ vi kênh (Hình 5.2.b) có kích thước cơ bản: Tổng chiều dài 2,5 cm; Vi kênh chính rộng 250 μm ; Cao 50 μm .



Hình 5.2. Hệ vi kênh bằng vật liệu PDMS sử dụng cho việc tích hợp cảm biến điện hoá. (a) Vi kênh chứa thêm modul khuấy trộn. (b). Vi kênh chỉ chứa modul tích hợp điện cực.

Sau khi chế tạo được các hệ vi kênh bằng vật liệu PDMS, chip vi lưu tích hợp cảm biến điện hoá được chế tạo theo mô tả trên *Hình 5.3*.

Việc tích hợp cảm biến điện hoá vào được thực hiện theo kỹ thuật ghép vi kênh bằng không gắn cứng (reversible bonding). Như đã trình bày trong Chương 2, hệ thống chip vi lưu tích hợp được ghép bằng cơ cấu cơ khí như mô tả trong *Hình 5.3*. Với cách ghép tích hợp cảm biến điện hoá vào hệ chip vi lưu này, việc thay thế vi kênh sau mỗi lần rửa và thay vi kênh rất dễ dàng. Cho phép thay thế các cảm biến sau mỗi phép đo. Sau mỗi chu trình phân tích, nếu cảm biến được thay thế với nhiều lý do khác nhau thì thao tác bằng cách tháo các vít định vị và nhấc vi kênh ra khỏi hệ thống. Việc tháo lắp đơn giản này cho phép tiết kiệm thời gian và chi phí chế tạo vi kênh bằng PDMS và chip vi lưu tích hợp.



Hình 5.3. Mô tả ghép cảm biến điện hoá vào hệ vi lưu

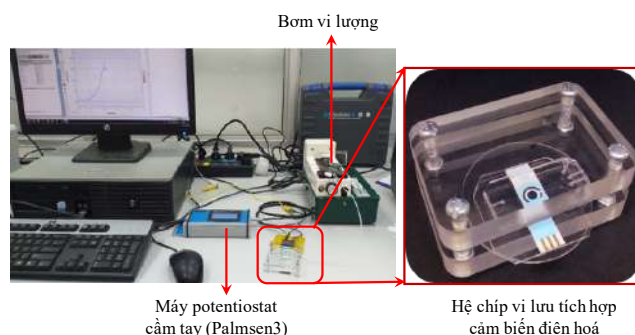
5.1.2. Tích hợp chip vi lưu vào hệ thống thí nghiệm phân tích

Sau khi tích hợp điện cực SPE vào chip vi lưu, tiến hành ghép nối hệ chip vi lưu vào hệ bơm vi lưu và máy đo điện hoá đa năng. Trong nghiên cứu này, hệ đo điện hoá đa năng được sử dụng là hệ Palsens3 cầm tay của hãng Palmsens BV, Hà Lan. *Hình 5.4*.



Hình 5.4. Hệ máy đo điện hoá đa năng cầm tay Palmsens3™

Các thí nghiệm tiếp theo được thiết kế và lắp đặt hệ chip vi lưu tích hợp nối với bơm vi lượng, hệ đo điện hoá được mô tả như trên *Hình 5.5*. Bơm vi lượng sử dụng trong nghiên cứu này là hệ bơm Razel R-99 E, với lưu lượng không chế từ 1-500 $\mu\text{L}/\text{min}$.

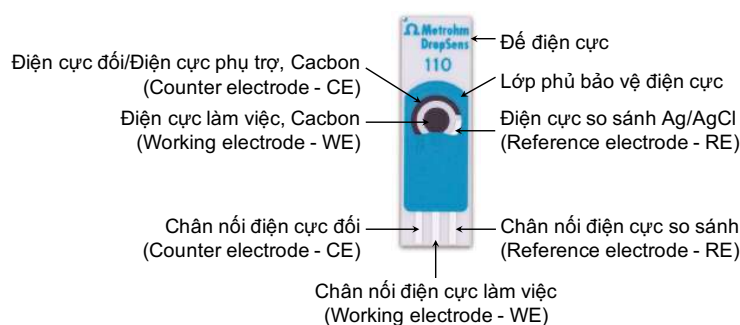


Hình 5.5. Chip vi lưu tích hợp điện cực SPE và hệ thống đo điện hoá đa năng

5.2. Chế tạo cảm biến điện hoá biến tính trên nền điện cực cacbon dạng mạch in phẳng (Screen-printed electrode – SPE).

5.2.1. Thiết kế hệ vật liệu cho biến tính bề mặt điện cực làm việc của hệ điện cực mạch in cacbon.

Trong nghiên cứu này, cảm biến điện hoá được chế tạo trên cơ sở điện cực phẳng dạng mạch in được tích hợp ba điện cực hoạt động trong phân tích điện hoá. Điện cực cacbon dạng mạch in thương hiệu DropSens của hãng Metrohm được sử dụng để biến tính bề mặt điện cực. Cấu trúc điện cực được mô tả trên Hình 5.6.



Hình 5.6. Cấu trúc điện cực cacbon DropSens của hãng Metrohm.

Về bản chất, điện cực làm việc của điện cực SPE (DS 110) được chế tạo từ vật liệu cacbon. Trong phân tích điện hoá, cần nâng cao độ đặc hiệu vào độ nhạy của điện cực này, vì vậy, nền cacbon của điện cực làm việc thường phải biến tính bằng một số vật liệu đặc biệt khác nhau tùy thuộc vào đối tượng phân tích để tăng độ nhạy và độ đặc hiệu của điện cực. Mỗi loại vật liệu được sử dụng đều có một chức năng riêng và khi kết hợp các lớp vật liệu thì sẽ cải tiến khả năng làm việc của điện cực một cách đáng kể. Trong nghiên cứu này, hệ vật liệu rGO/PDA-CuNPs (trong đó: rGO – Graphen oxit khử (reduced Graphene oxide); PDA – polydopamine; CuNPs – hạt nano đồng, được tổng hợp điện hoá nay trên bề mặt điện cực) được lựa chọn để

chế cảm biến trong phương pháp phân tích y sinh với đối tượng là thuốc kháng sinh họ sulfonamide. Việc lựa chọn vật liệu được thực hiện trên cơ sở các đặc tính ưu việt của từng thành phần của hệ vật liệu này.

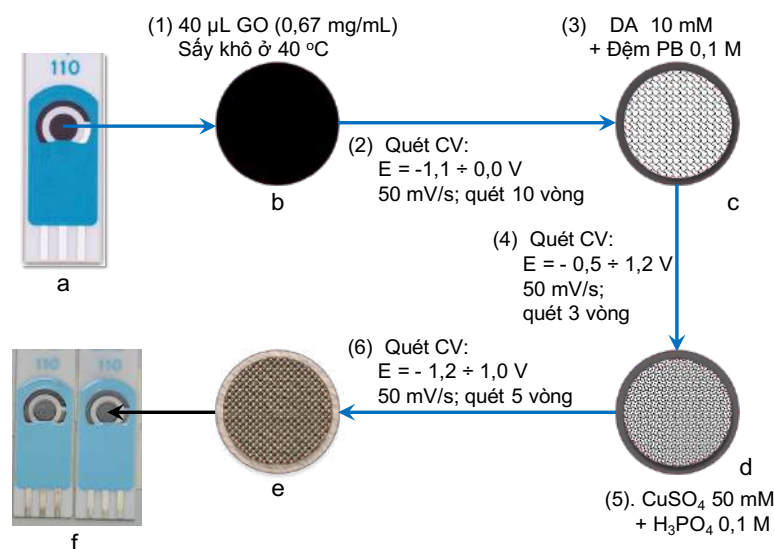
Trong đó, vai trò của hạt nano đồng (CuNPs) làm xúc tác điện hóa cho phản ứng oxy hóa sulfamethoxazole (SMX) trên bề mặt điện cực trong quá trình phân tích, màng polydopamine (PDA) sẽ giúp gắn kết vật liệu cacbon của điện cực làm việc SPE với các hạt CuNPs nhờ các nhóm chức -OH hoặc -NH. Tuy nhiên, về bản chất PDA là polyme không dẫn điện, vì vậy, nếu chỉ có PDA trên bề mặt điện cực thì sẽ làm giảm sự hoạt động của điện cực. Ngược lại, PDA lại là tấm nền tốt, chứa các nhóm chức có thể kết nối bề mặt của điện cực với các vật liệu chức năng khác. Để tăng độ hoạt động điện hóa của điện cực, các vật liệu dẫn điện tốt và tương tác tốt với bề mặt điện cực SPE như graphen sẽ được sử dụng. Trong thực tế, graphen hoặc graphen oxit khử có nhiều đặc tính tuyệt vời như khả năng dẫn điện tốt, diện tích bề mặt riêng lớn, có thể cải thiện đáng kể hoạt tính điện hóa của bề mặt điện cực. Vật liệu graphen oxit khử (rGO) sử dụng trong nghiên cứu này được chế tạo bằng phương pháp điện hóa từ quá trình khử graphen oxit được điều chế theo phương pháp Hummer biến tính [86].

Hình 5.7 mô tả quá trình chế tạo lớp vật liệu dùng để biến tính bề mặt điện cực làm việc cacbon của điện cực mạch in SPE. Trong đó, hệ vật liệu rGO/PDA-CuNPs được tổng hợp trực tiếp ngay trên bề mặt điện cực làm việc của điện cực SPE qua các bước sau:

Bảng 5.1. Quy trình biến tính điện cực làm việc của điện cực SPE bằng hệ vật liệu rGO/PDA-CuNPs

Trình tự	Mô tả thí nghiệm	Kết quả
Bước 1	Chuẩn bị điện cực Hình 5.7 (a): hệ điện cực SPE ban đầu (với các điện cực thành phần được tích hợp như mô tả trên Hình 5.6). Điện cực được làm sạch bề mặt và bụi bằng nước khử ion và thổi khô bằng dòng khí nitơ.	
Bước 2	Tạo lớp rGO trên bề mặt điện cực Hình 5.7 (b): nhỏ một giọt (khoảng 4 μ L) hỗn hợp graphen ôxit (GO) được phân tán trong đệm phot phát (PB) nồng độ 0,2 M (hỗ trợ phân tán bằng cách rung siêu âm 5 phút). Sau đó bề mặt được để yên tĩnh để sấy khô dung môi trong tủ sấy ở 40 °C (trong	GCE/rGO

Trình tự	Mô tả thí nghiệm	Kết quả
	<p>khoảng 10 – 15 phút) hoặc để khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng (trong khoảng 30 – 60 phút). Tiếp theo, GO được khử trong môi trường đệm PB 0,2 M, sử dụng phương pháp quét thế vòng tuần hoàn (CV) với điện thế quét (E) biến đổi từ - 1,1 ÷ 0,0 V, tốc độ quét là 50 mV/s và số vòng quét thế là 10 vòng. Với các thông số như vậy thì GO bị khử trực tiếp trên bề mặt điện cực làm việc của điện cực SPE. Từ đó sẽ tạo ra dạng rGO.</p>	
Bước 3	<p>Biến tính bề mặt, Hình 5.7.c: Bề mặt này được biến tính bởi quá trình tổng hợp các lớp màng vật liệu lần lượt gồm rGO, PDA và CuNPs. Tiếp theo Bước 2, Màng polydopamine (PDA) được tổng hợp bằng cách nhỏ một giọt dopamine được hoàn tan trong đệm phot phát (PB) nồng độ 0,1 M, sau đó thực hiện tổng quá trình tổng hợp điện hoá bằng cách sử dụng phương pháp quét thế CV với dải điện thế từ - 0,5 V đến 1,2 V, tốc độ quét thế 50 mV/s, số vòng quét 3. Sau bước này, lớp màng PDA được hình thành trên bề mặt của điện cực làm việc của điện cực SPE.</p>	GCE/rGO /PDA
Bước 4	<p>Tổng hợp hạt nano Cu trên bề mặt, Hình 5.7.d: Sau bước 3, các hạt nano Cu được tổng hợp trực tiếp trên bề mặt điện cực đã chứa lớp rGO và PDA bằng cách nhỏ lên bề mặt điện cực 1 giọt dung dịch CuSO₄ nồng độ 50 mM trong môi trường H₃PO₄ 0,1 M. Sau đó Cu được khử từ muối CuSO₄ bằng phương pháp điện hoá được bằng cách sử dụng phương pháp quét thế CV với dải điện thế từ - 1,2 V đến 1,0 V, tốc độ quét thế 50 mV/s, số vòng quét 5.</p>	GCE/rGO /PDA- CuNPs



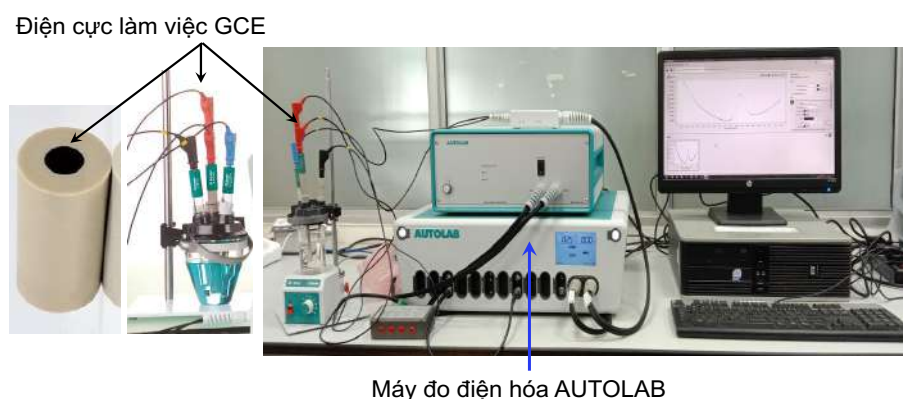
Hình 5.7. Sơ đồ các bước tiến hành biến tính bề mặt điện cực SPE bằng hệ vật liệu rGO/PDA-CuNPs

Để khẳng định kết quả biến tính bề mặt điện cực SPE thành công bằng quy trình trên, quá trình biến tính này được thực hiện trên đồng thời trên điện cực glassy carbon (GCE - điện cực thủy tinh – carbon) để đối sánh. Như các nghiên cứu đã trình bày trong phần tổng quan, phương pháp phân tích điện hoá sử dụng điện cực GCE là phương pháp phổ biến và cho kết quả tin cậy. Tuy nhiên, cần thực hiện trên hệ đo là hệ AutoLab phức tạp hơn so với việc sử dụng máy đo điện hoá cầm tay. Ngoài ra, việc tích hợp điện cực

5.2.2. Kết quả khảo sát điều kiện chế tạo hệ vật liệu rGO/PDA-CuNPs trên điện cực glassy carbon (GCE)

Trước khi đưa hệ vật liệu lên bề mặt điện cực SPE, cần khảo sát các điều kiện phù hợp để thu được kết quả phân tích dự kiến SMX tốt nhất, giảm bớt giai đoạn khảo sát hệ vật liệu trên hệ điện cực SPE. Việc này cho phép dự đoán các thông số tối ưu cho quá trình tổng hợp vật liệu cũng như các thông số thực hiện quá trình phân tích điện hoá (bao gồm: điện thế đặt vào, dải điện thế, tốc độ quét, số vòng quét,...).

Sơ đồ thí nghiệm được mô tả trên Hình 5.8: hệ thống thí nghiệm sử dụng hệ đo điện hoá đa năng AutoLab (PGSTAT302N) của Hà Lan với hệ điện cực tiêu chuẩn gồm điện cực so sánh AgCl (Reference electrode), điện đối Pt (Counter electrode).



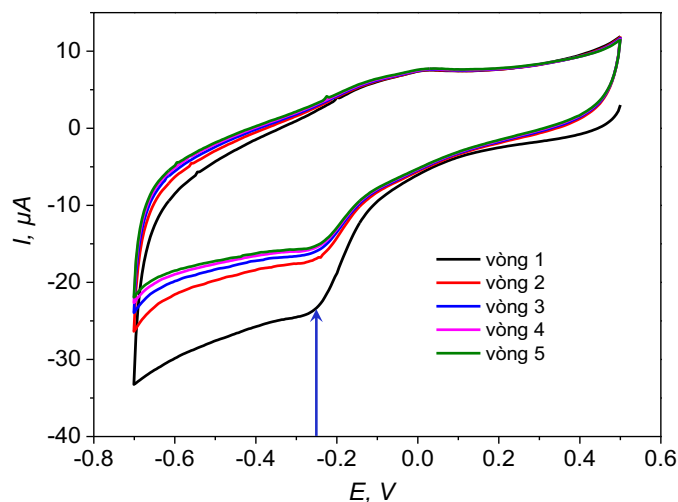
Hình 5.8. Sơ đồ thí nghiệm sử dụng hệ đo điện hoá đa năng AutoLab (của hãng Metrohm).

5.2.2.1. Tổng hợp rGO trên bề mặt điện cực bằng phương pháp điện hoá

Điện cực GCE được biến tính bằng graphen oxit (GO), được phân tán bằng siêu âm trong môi trường đệm PB 0,2 M) bằng kỹ thuật nhỏ giọt và để khô tại nhiệt độ phòng trong 30 phút. Tiếp theo, GO được khử trong môi trường đệm photphat

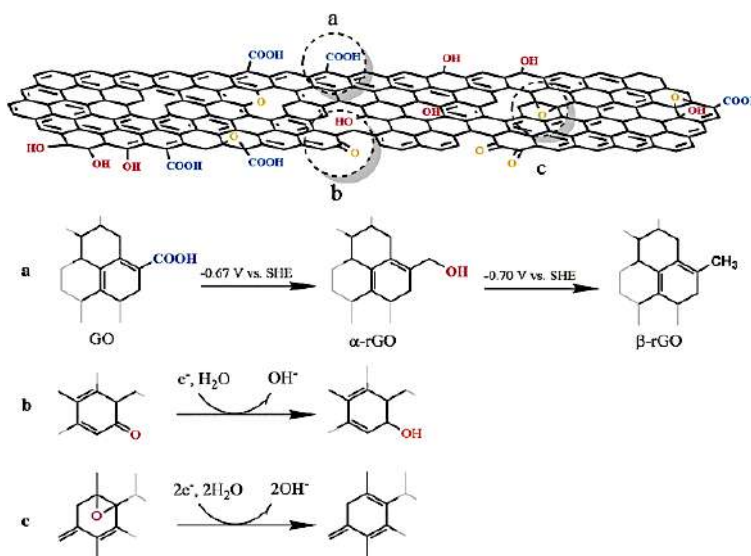
(PB) 0,2 M, sử dụng phương pháp quét thế vòng tuần hoàn. Chi tiết các bước được thực hiện tuần tự như mô tả trên sơ đồ Hình 5.7.

Hình 5.9 mô tả tín hiệu phổ CV từ việc khử GO trên bề mặt điện cực GCE. Từ Hình 5.9 ta có thể quan sát thấy peak xuất hiện ở giá trị khoảng -0,25 V vòng quét thế CV thứ nhất, điều này chứng tỏ có quá trình khử điện hoá GO thành rGO.



Hình 5.9. Phổ CV quá trình khử GO của điện cực GCE/GO trong dung dịch đệm PB 0,2M, tốc độ quét 50mV/s, 5 vòng.

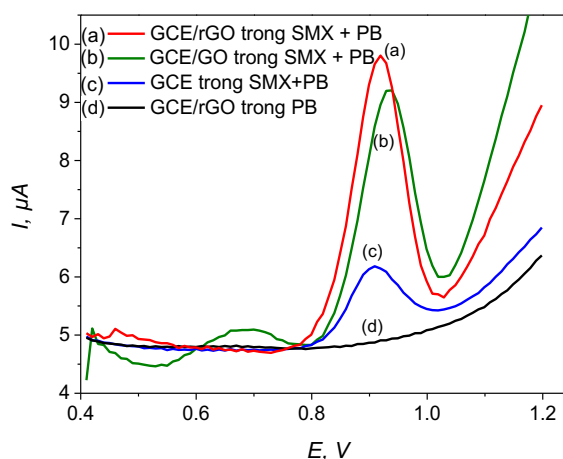
Quá trình khử này làm mất đi một số nhóm chức có chứa oxi như hydroxyl (-OH), epoxy (-O-), cacboxyl (-COOH), cacbonyl (-CO-) ở trên bề mặt điện cực GCE đã được phủ rGO. Cơ chế khử các nhóm chức này được mô tả như trên Hình 5.10.



Hình 5.10. Mô tả quá trình khử GO thành rGO bằng phương pháp điện hoá. Các nhóm chức ở các vị trí khác nhau trong cấu trúc của GO (tại vị trí a, b, c) bị khử theo cơ chế và điện thế khác nhau [87].

Các peak khử của rGO giảm dần từ vòng quét thứ hai trở đi cường độ và cường độ dòng điện I tăng lên cho thấy khả năng dẫn điện của điện cực tăng lên. Ở các vòng quét thứ 4 và thứ 5 thể hiện sự ổn định của bề mặt điện cực, điều này là rất cần thiết cho quá trình tổng hợp vật liệu trên bề mặt điện cực, có thể thấy rGO đã được khử thành công và còn ít các nhóm chức chứa oxy, mục tiêu của khử rGO là loại bỏ các nhóm chức trên bề mặt của rGO. Sau khi GO được khử bằng phương pháp điện hoá, các nhóm chức trên bề mặt GO bị khử tạo thành graphen dạng khử (rGO), làm cho điện cực được bền và ổn định hơn, bên cạnh đó tính dẫn điện của hệ điện cực đã tăng lên nhờ tính chất dẫn điện vượt trội của rGO so với GO. Để khẳng định khả năng tăng tín hiệu của điện cực GCE sau khi phủ lớp rGO, thí nghiệm nhận biết kháng sinh Sulfamethoxazole (SMX) được thực hiện trên nền điện cực GCE chưa phủ rGO và điện cực GCE đã phủ lớp rGO.

Tín hiệu nhận biết khi quét thế trong dải 0,4 đến 1,2 V theo kỹ thuật quét xung vuông (SWV) của cả hai điện cực GCE và điện cực GCE biến tính đối với chất được nhận biết mẫu giả định SMX được chuẩn bị từ SMX tinh khiết (được mua từ hãng SigmaAldrich, code: S7507), có nồng độ là 40 μM (nồng độ chỉ để khảo sát đặc tính nhận biết của điện cực) được mô tả trên Hình 5.11.



Hình 5.11. Tín hiệu SWV của các điện cực: (a) GCE/rGO, (b) GCE/GO, và (c) GCE khi với SMX 40 μM , (d) điện cực GCE/rGO trong đệm PB 0,2M.

Khi so sánh tín hiệu thu được giữa điện cực GCE và điện cực GCE/rGO ta có thể thấy tín hiệu nhận biết đã tăng lên đáng kể (đường 1, 2 và 3). Ngoài ra, khi quét thế thử nghiệm thì việc xuất hiện peak tại giá trị điện thế 0,9 V khi có mặt của SMX có thể là dấu hiệu ban đầu minh chứng cho việc xuất hiện tín hiệu nhận biết SMX.

Trên cơ sở đó, giá trị điện thế này có thể được gán cho giá trị điện thế đặc trưng cho SMX.

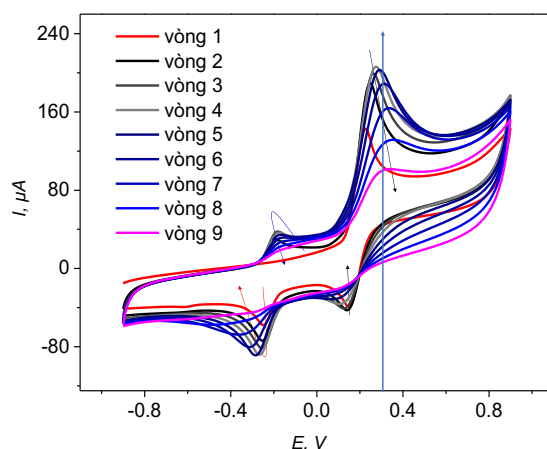
Hơn nữa, khi quét thế thử nghiệm thì xuất hiện peak với cường độ tín hiệu nhận biết SMX tại giá trị thế 0,9V của điện cực GCE/rGO cao hơn GCE trần, điều này cho thấy khả năng dẫn điện của điện cực GCE/rGO tốt hơn. Điều này cũng cho thấy rGO được khử thành công trên điện cực. Kết quả này cho thấy sự có mặt của rGO ảnh hưởng mạnh tới khả năng phân tích SMX. Điều này có thể được lý giải là do rGO với khả năng linh động điện tử và độ dẫn điện cao đã tăng hoạt tính điện hóa của bề mặt điện cực, giúp tăng khả năng trao đổi điện tử, do đó tín hiệu điện hóa của SMX trên điện cực GCE/rGO có thể nhận biết rõ ràng. Bên cạnh đó ta cũng thấy điện cực phủ rGO đã được khử cho tín hiệu nhận biết SMX tốt hơn so với graphen oxit (GO) chưa được khử. Điều này cũng cung cấp thêm thông tin về việc GO đã được khử thành công thành rGO, khi đó phần lớn các nhóm chức có chứa oxy đã được loại bỏ.

5.2.2.2. Tổng hợp màng polydopamin lên điện cực GCE/rGO

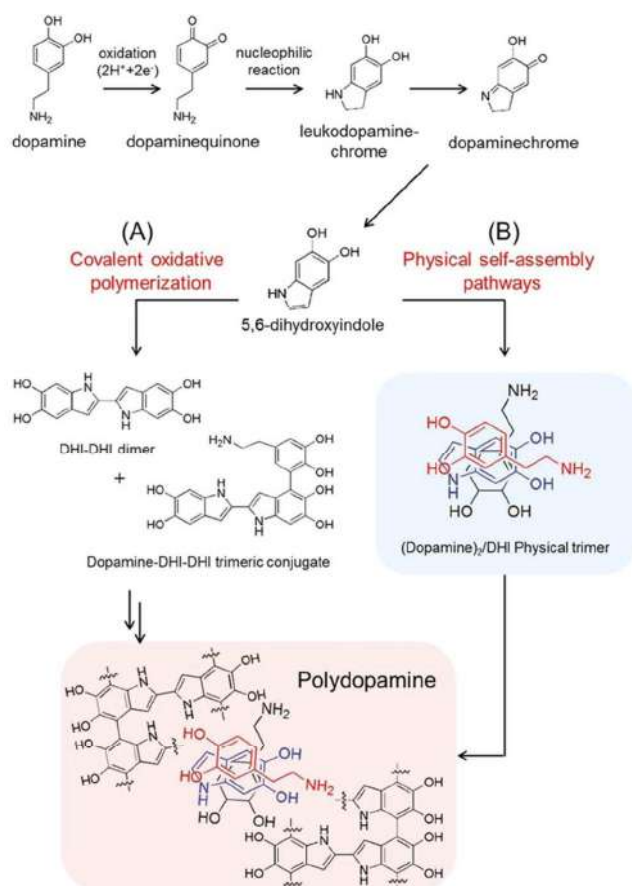
Để tổng hợp điện hoá lớp polydopamine (PDA) lên bề mặt điện cực GCE/rGO, phương pháp quét thế vòng tuần hoàn CV được sử dụng, đây là phương pháp quét thế hiệu quả để tổng hợp màng polyme trên bề mặt điện cực [88]. Quá trình tổng hợp được thực hiện bằng cách: điện phân trong dung dịch dopamine (DA) nồng độ 10 mM trong đệm PB 0.2 M số vòng quét CV 9 vòng trong khoảng thế từ -0,9 V đến +0,9 V, tốc độ quét 50mV/s. Kết quả quá trình trùng hợp polydopamin được thể hiện trong Hình 5.12. Đường tín hiệu sau mỗi vòng được tịnh tiến theo chiều mũi tên như trên hình, Hình 5.12.

Ở vòng quét thế đầu tiên, cường độ dòng điện tăng mạnh từ khoảng thế +0,12 V và có đỉnh cao nhất tại giá trị thế từ +0,25 V đến +0,31 V (trùng ứng với các vòng khác nhau) cho thấy quá trình oxy hóa monome DA hình thành nên các gốc tự do có hoạt tính là tiền đề cho sự phát triển mạch của quá trình polyme hóa. Cơ chế phản ứng trùng hợp dopamine thành polydopamine bằng phương pháp điện hoá được mô tả trên Hình 5.13, [88-90]. Các đường CV tiếp theo cho thấy sự xuất hiện cặp pic tại vị trí điện thế -0,17/-0,23 và 0,24/0,29 V, đặc trưng cho quá trình trùng hợp polydopamin, [88, 91], chứng tỏ màng PDA đã hình thành trên điện cực. Ban đầu, mật độ dòng tăng do sự phát triển oxy hóa các monome tạo thành các dimer, oligome,

từ đó phát triển thành màng polyme ngày một hoàn thiện. Tuy nhiên từ vòng quét thứ 5 trở đi, màng polyme dày lên làm giảm độ dẫn điện của lớp bề mặt điện cực, theo đó giảm tốc độ trùng hợp màng.



Hình 5.12. Tín hiệu CV quá trình trùng hợp màng PDA trên điện cực GCE/rGO với 9 vòng quét, tốc độ quét 50 mV/s, nồng độ DA 10 mM trong đệm PB 0,2 M.

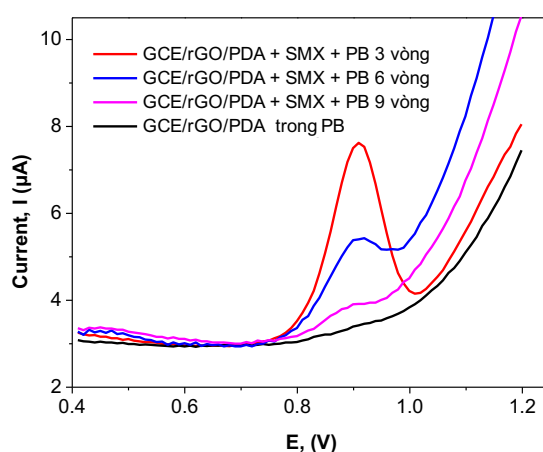


Hình 5.13. Tổng hợp polydopamine xảy ra thông qua hai con đường: A) con đường liên kết cộng hóa trị hình thành trong quá trình trùng hợp oxy hóa và B) con đường được đề xuất theo quá trình tự ghép nối vật lý của dopamine (PA) và 5,6-dihydroxyindole (DHI) [89].

Tại số vòng quét thứ 9, độ dẫn điện của hệ điện cực giảm, kéo theo tốc độ quá trình giảm do màng PDA không dẫn điện. Do vậy, thực nghiệm khảo sát ảnh hưởng của số vòng PDA đến hiệu quả làm việc của điện cực chỉ dừng lại ở 9 vòng. Trong đó, màng PDA được trùng hợp lên các điện cực với số vòng quét 3, 6 và 9 vòng với cùng điều kiện. Kết quả đều cho thấy màng polyme đã được hình thành và phát triển trên bề mặt điện cực GCE/rGO để tạo ra điện cực GCE/rGO/PDA.

Sau khi tiến hành tổng hợp thành công màng PDA trên bề mặt điện cực GCE, điện cực này được sử dụng để thử nghiệm nhận biết SMX trong dung dịch đệm PB bằng phương pháp quét sóng vuông SWV để đánh giá hiệu quả của các điện cực sau khi phủ màng PDA. Điều kiện thử nghiệm được thực hiện giống như đã trình bày trong phần (1) của mục này. Kết quả nhận biết SMX tương ứng với số vòng quét khi tổng hợp PDA khác nhau được mô tả trên Hình 5.14.

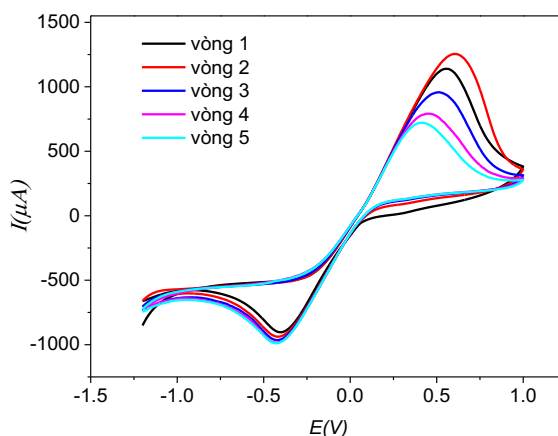
Nhận thấy khi tổng hợp polyme PDA trên bề mặt điện cực GCE/rGO ở 3 vòng thì tín hiệu điện hóa nhận biết SMX là cao nhất. Khi số vòng quét lớn hơn, chiều dày của lớp PDA lớn hơn làm giảm tính dẫn điện của lớp màng vật liệu. Do vậy, điện phân PDA 3 vòng được sử dụng trong các thí nghiệm tiếp theo. Để cải thiện độ dẫn khi số vòng quét thể khi tổng hợp PDA, cần sử dụng thêm các tác nhân khác. Trong kết quả nghiên cứu tiếp theo, các hạt nano Cu được sử dụng để thêm vào lớp PDA để cải thiện tính dẫn điện và độ đặc hiệu của điện cực sau khi biến tính.



Hình 5.14. Tín hiệu SWV của điện cực GCE/rGO/PDA với SMX $40\mu\text{M}$ +PB và đệm PB có số vòng tổng hợp màng PDA là 3,6,9 vòng; khoảng quét thế từ -0,4 V đến 1,2 V; tốc độ quét thế 50 mV/s

5.2.2.3. Tổng hợp CuNPs trên điện cực GCE/rGO/PDA

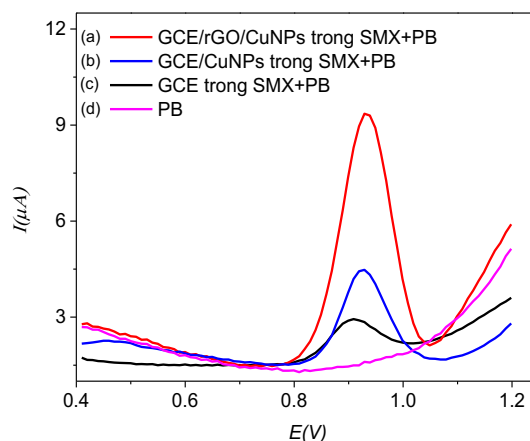
Hạt nano đồng (CuNPs) được tổng hợp lên bề mặt điện cực GCE/rGO/PDA từ dung dịch CuSO_4 3 mM trong môi trường H_3BO_3 0,1 M ở khoảng thế -1,2 V đến +1,0 V với 5 vòng quét và tốc độ quét 30 mV/s.



Hình 5.15. Đường tín hiệu CV của quá trình tổng hợp CuNPs lên điện cực GCE/rGO/PDA trong dung dịch CuSO_4 3mM + H_3BO_3 0,1M ở khoảng thế -1,2 V đến + 1,0 V; 5 vòng quét, tốc độ quét 30 mV/s.

Từ tín hiệu quét thế vòng tuần hoàn CV trên Hình 5.15 cho thấy quá trình tổng hợp CuNPs lên bề mặt điện cực GCE/rGO/PDA có sự xuất hiện của cặp peak oxi hóa khử ở vị trí +0,5V/-0,4V của cặp Cu/Cu^{2+} trên bề mặt điện cực, giá trị thế oxi hoá /khử của Cu^{2+} phụ thuộc vào môi trường và hệ điện cực tiêu chuẩn hoặc đã biến tính bằng các vật liệu khác nhau. Sau khi tổng hợp được Cu trên điện cực GCE/rGO/PDA, hệ điện cực này được sử dụng để nhận biết thử nghiệm SMX 40 μM trong đệm PB 0,2 M.

Như đã trình bày trong phần đầu của nghiên cứu này, vai trò của các lớp rGO, PDA và của hạt CuNPs cũng được khẳng định thông qua việc so sánh hiệu quả nhận biết SMX của điện cực GCE/rGO/PDA-CuNPs với các điện cực qua từng bước biến tính. Kết quả nhận biết SMX được mô tả trên hình Hình 5.16.



Hình 5.16. Tín hiệu dòng điện theo phương pháp xung sóng vuông (SWV) của điện cực (a) GCE/rGO/PDA-CuNPs, (b) GCE/CuNPs và (c) điện cực trần GCE với SMX 40 μ M, (d) đậm PB 0,2 M; Khoảng quét thế từ -0,4 V đến 1,2 V; tốc độ quét thế 50 mV/s; số vòng quét = 3 vòng.

Tín hiệu dòng điện khi xác định SMX của điện cực GCE/rGO/PDA-CuNPs, cao hơn gấp hơn 4 lần so với điện cực trần GCE và gấp 2 lần tín hiệu của điện cực GCE/CuNPs. Đồng thời, tín hiệu này cũng cao hơn so với sử dụng điện cực GCE/rGO/PDA như đã trình bày trên Hình 5.14. Ngoài ra, khi biến tính bổ sung bằng Cu thì có sự dịch chuyển của đỉnh peak tín hiệu trên ba loại điện cực: GCE/rGO/PDA-CuNPs; GCE/CuNPs và GCE cho thấy có sự biến đổi trên bề mặt điện cực rõ rệt. Điều này cho thấy thêm thông tin về đặc tính dẫn điện của CuNPs tốt hơn khi có mặt của hạt nano Cu trên nền PDA trên bề mặt điện cực GCE. Một lần nữa có thể khẳng định tín hiệu của điện cực GCE/rGO/PDA-CuNPs là tốt nhất cho thấy sự cải thiện tốt khả năng dẫn điện và sự tương tác tốt với lớp PDA trong biến tính bề mặt điện cực, mang đến cơ hội phát triển các hệ vật liệu này.

Các điều kiện về tổng hợp hạt nano đồng (CuNPs) như số vòng quét và tốc độ quét thế CV khi tổng hợp, từ đó tìm được các điều kiện phù hợp cho quá trình tổng hợp vật liệu rGO/PDA-CuNPs phục vụ cho mục đích biến tính bề mặt điện cực.

Kết luận: Hệ vật liệu sử dụng để biến tính bề mặt điện cực GCE cho kết quả khả quan và tăng cường tín hiệu cũng như độ nhạy của điện cực sau khi biến tính bề mặt. Các điều kiện tổng hợp vật liệu trên bề mặt điện cực GCE như sau:

- Đối với rGO: Khoảng thế từ -0,7 đến 0,5 V; tốc độ quét 50mV/s, 5 vòng
- Đối với PDA: Khoảng thế từ -0,9 V đến + 0,9 V, tốc độ quét 50mV/s, 3 vòng

- Đối với hạt nano Cu (CuNPs): khoảng thế -1,2 V đến +1,0 V; tốc độ quét 30mV/s; 5 vòng quét.

Kết quả này là cơ sở để sử dụng cho quá trình biến tính bề mặt điện cực làm việc là carbon trên điện cực dạng mạch in SPE.

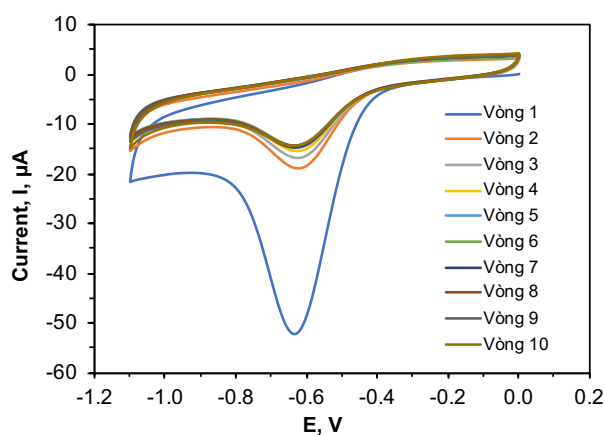
5.2.3. Biến tính bề mặt điện cực carbon dạng mạch in SPE bằng hệ vật liệu rGO/PDA-CuNPs.

Với các điều kiện tìm được đối với hệ vật liệu rGO/PDA-CuNPs trên nền điện cực glassy carbon (GCE), quá trình biến tính điện cực SPE được áp dụng quy trình tương tự để biến tính bề mặt điện cực làm việc của hệ điện cực mạch in SPE. Đối với quá trình biến tính này, để tạo ra điện cực giả so sánh Ag_2SO_4 thì hệ dung dịch Na_2SO_4 được đưa vào quá trình biến tính để tạo môi trường chất điện ly và anion SO_4^{2-} cho điện cực. Kết quả sẽ cho thấy sự thay đổi này không ảnh hưởng nhiều đến sự biến tính điện cực SPE bằng hệ vật liệu đã chọn. Một số yếu tố cũng được khảo sát để kiểm tra lại điều kiện phù hợp cho quá trình biến tính, cho thấy hệ điện cực đạt hiệu quả tốt tại điều kiện tổng hợp như trên sơ đồ Hình 5.7 và Bảng 5.1.

Các kết quả tổng hợp các lớp vật liệu rGO, rGO/PDA, rGO/PDA-CuNPs trên điện cực SPE được mô tả trong các nội dung nghiên cứu sau đây.

5.2.3.1. Tổng hợp rGO bằng phương pháp điện hóa trên bề mặt điện cực SPE.

Điện cực SPE được biến tính bằng graphene oxit tương tự như đối với thực hiện trên điện cực GCE và theo trình tự như trên sơ đồ Hình 5.7.



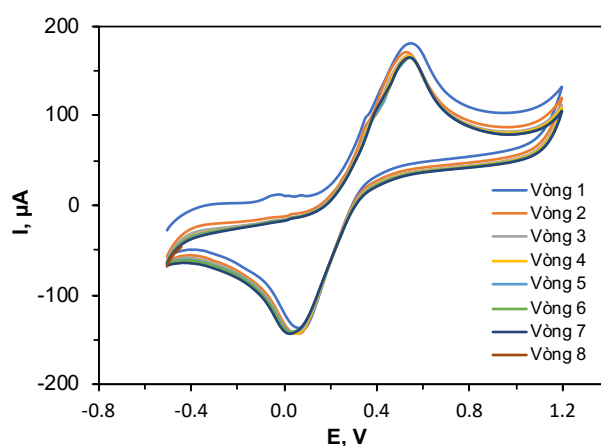
Hình 5.17. Phổ CV quá trình khử GO của điện cực SPE/GO trong dung dịch đệm PB 0,2M, Na_2SO_4 0,1 M. Tốc độ quét 50mV/s, 10 vòng.

Có thể thấy GO được khử trong môi trường đệm photphat (PB) 0,2 M, sử dụng phương pháp quét thế vòng tuần hoàn (CV). Hình 5.17 mô tả tín hiệu phổ CV từ việc khử GO trên bề mặt điện cực SPE. Ta có thể quan sát thấy peak khử mạnh ở giá trị thế -0,63 V ngay tại vòng quét thế thứ nhất, điều này chứng tỏ có quá trình khử điện hoá GO thành rGO. Tại các vòng tiếp theo, peak khử GO thành rGO vẫn duy trì và ổn định giá trị cường độ dòng khử ở khoảng -18 đến -15 μA .

Tuy nhiên, giá trị thế khử trên điện cực SPE lớn hơn so với trên điện cực GCE. Điều này được cho là bề mặt điện cực SPE có độ xốp nhất định và độ dẫn của điện cực carbon dạng bột có điện trở nội lớn hơn so với điện cực GCE.

5.2.3.2. Tổng hợp PDA bằng phương pháp điện hóa trên bề mặt điện cực SPE/rGO.

Tiến hành trùng hợp điện hoá PDA từ dung dịch DA 10 mM + PB 0,2 M (pH = 6) + Na_2SO_4 0,1 M bằng cách quét CV 8 vòng ở khoảng thế từ -0,5 V đến + 1,2 V, tốc độ quét 50mV/s. Kết quả trùng hợp polydopamin được thể hiện trong Hình 5.18.

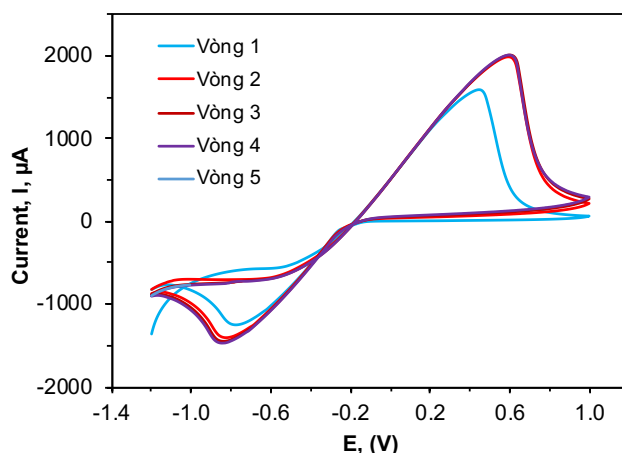


Hình 5.18. Tín hiệu CV quá trình trùng hợp màng PDA trên điện cực SPE/rGO với 8 vòng quét, tốc độ quét 50 mV/s, nồng độ DA 10 mM trong dung dịch đệm PB 0,2 M (pH = 6), Na_2SO_4 0,1 M.

Ở vòng quét thế đầu tiên, xuất hiện đỉnh peak oxi hoá tại giá trị thế khoảng $E = + 0,57$ V cho thấy quá trình oxy hóa monome DA hình thành nên các gốc tự do có hoạt tính là tiền đề cho sự phát triển mạch. Đồng thời xuất hiện peak khử tại giá trị thế $E = +0,05$ V, điều này cho thấy có sự khử các trạng thái oxi hoá trong bước thứ nhất để hình thành các chuỗi polyme PDA. Tại các đường cong CV tiếp theo màng PDA hình thành trên điện cực và ổn định dần.

5.2.3.3. Tổng hợp hạt nano Cu bằng phương pháp điện hóa trên bề mặt điện cực SPE/rGO/PDA.

Hạt nano đồng (CuNPs) được tổng hợp lên bề mặt điện cực SPE/rGO/PDA từ dung dịch CuSO_4 3 mM trong môi trường H_2SO_4 0,1 M ở khoảng thế -1,2 V đến +1,0 V với 5 vòng quét và tốc độ quét 30mV/s.



Hình 5.19. Đường tín hiệu CV của quá trình tổng hợp CuNPs lên điện cực SPE/rGO/PDA trong dung dịch CuSO_4 3mM + H_2SO_4 0,1M ở khoảng thế -1.2 V đến + 1,0 V; 5 vòng quét, tốc độ quét 30 mV/s.

Trên hình Hình 5.19 cho thấy xuất hiện peak oxi hoá/khử ổn định ở khoảng 0,58 V và - 0,84 V của Cu/Cu^{2+} trên bề mặt điện cực SPE. Như vậy, khi thay đổi từ điện cực GCE sang điện cực SPE và quét trong môi trường axi H_2SO_4 0,1 M thì giá trị điện thế oxi hoá khử thay đổi đáng kể (đối với điện cực GCE, giá trị peak oxi hoá/khử ổn định ở +0,5V/-0,4V).

5.2.4. Đặc trưng điện hóa của hệ vật liệu rGO/PDA-CuNPs trên bề mặt điện cực SPE.

Trong nghiên cứu này, các kết quả khảo sát tính chất điện hóa của điện cực SPE được biến tính bằng hệ vật liệu rGO/PDA-CuNPs được thực hiện. Các kết quả này sẽ cung cấp thông tin về đặc trưng điện hoá của hệ vật liệu trên. Thông tin về bề mặt điện hoạt của điện cực sau khi biến tính sẽ giúp khẳng định bề mặt có khả năng làm việc của điện cực SPE sau khi biến tính có sự thay đổi hay không.

Để ước tính diện tích bề mặt điện hoạt của điện cực, tiến hành quét CV của điện cực SPE/rGO/PDA-CuNPs; SPE/CuNPs; SPE/rGO/CuNPs và SPE/PDA-CuNPs trong dung dịch $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ 5 mM và KNO_3 1M từ -0,15 V đến

+0,5 V với tốc độ quét khác nhau từ 10 đến 150mV/s đã được hiện thị trong Hình 5.20.

Theo phương trình Randles-Sevcik, cường độ peak dòng phân cực anot và catốt (I_{pa} và I_{pc}) sẽ tỷ lệ căn bậc 2 của tốc độ quét thế [92].

$$I_{pa} = (2,69.10^5) \cdot n^{3/2} \cdot A \cdot D^{1/2} \cdot C \cdot v^{1/2} \quad (5.1)$$

Trong đó:

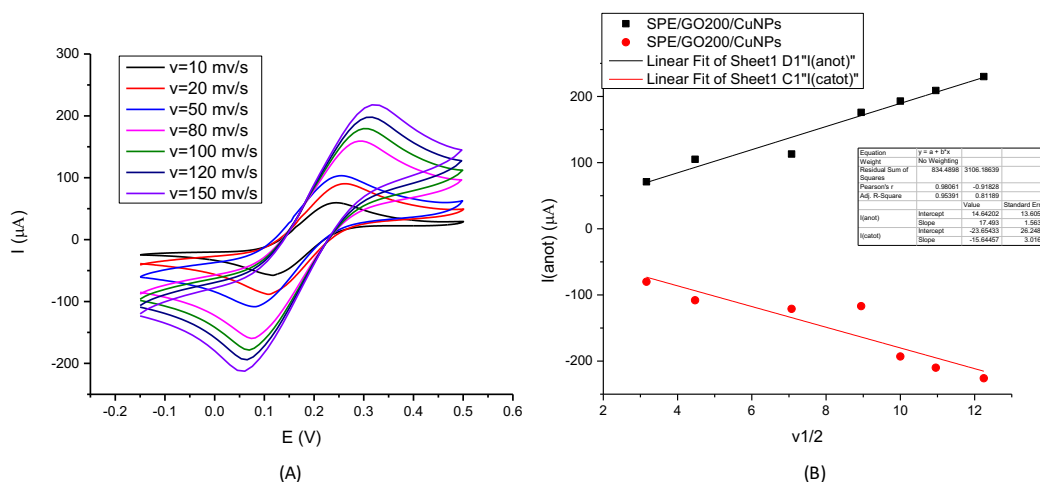
I_{pa} là cường độ dòng phân cực anot tại vị trí peak;

n là số điện tích trao đổi trong phản ứng oxi hóa khử ($n = 1$);

v là tốc độ quét thế vòng (V/s);

A là diện tích bề mặt hiệu dụng (cm^2);

C là nồng độ mol của $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ pha trong dung dịch ($D = 6,5.10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$).



Hình 5.20. (A) Đường phân cực CV của điện cực GCE/rGO/PDA-CuNPs trong dung dịch $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6 / \text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ 5 mM pha trong KNO_3 1M tại các tốc độ quét thế (10-120mV/s). (B) Đường hồi quy sự phụ thuộc cường độ peak anot I_{pa} và peak catot vào tốc độ quét thế $v^{1/2}$

Kết quả thí nghiệm và tính toán cho thấy bề mặt điện hoạt của các điện cực SPE/rGO/PDA-CuNPs; SPE/CuNPs; SPE/rGO/CuNPs và SPE/PDA-CuNPs được cho trong Bảng 5.2. Từ kết quả cho thấy, khi có mặt của PDA làm giảm tính dẫn điện của hệ vật liệu trong khi sự có mặt rGO làm tăng hiệu quả của vật liệu.

Bảng 5.2. Diện tích bề mặt điện hoạt của các điện cực trên nền điện cực SPE.

Điện cực	Diện tích bề mặt điện hoạt (mm ²)
SPE	12,5
SPE/rGO/PDA-CuNPs	19,1
SPE/CuNPs	18,8
SPE/rGO/CuNPs	16,1
SPE/PDA-CuNPs	11,8

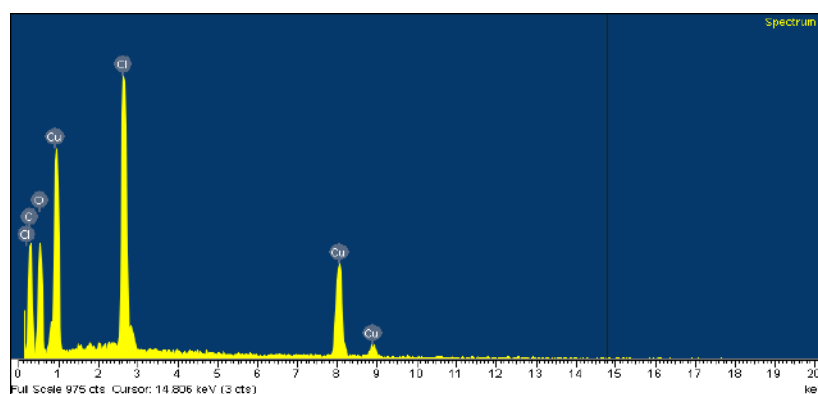
5.2.5. Đặc trưng hình thái học và cấu trúc của hệ vật liệu rGO/PDA-CuNPs trên bề mặt điện cực SPE.

Hệ vật liệu sau khi tổng hợp hoàn chỉnh trên bề mặt điện cực SPE được đánh giá thành phần và cấu trúc bề mặt bằng các kết quả phân tích ảnh SEM, phổ EDX, phổ FT-IR. Kết quả phân tích thành phần bề mặt của hệ vật liệu được mô tả trên Bảng 5.3.

Bảng 5.3. Kết quả đo EDX của các hệ điện cực SPE/rGO; SPE/rGO/PDA và SPE/rGO/PDA-CuNPs

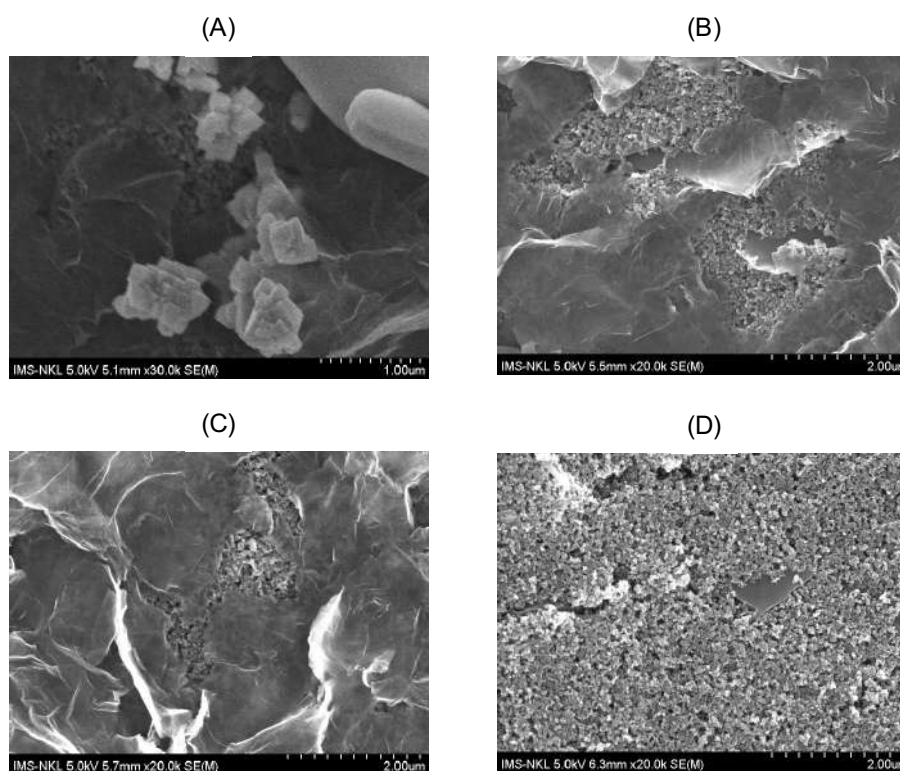
ĐC	SPE/rGO		SPE/rGO/PDA		SPE/rGO/PDA-CuNPs	
	Khối lượng (%)	Nguyên tử (%)	Khối lượng (%)	Nguyên tử (%)	Khối lượng (%)	Nguyên tử (%)
C	84.34	90.22	84.06	89.82	45.11	59.52
O	9.32	7.48	10.01	8.03	33.83	33.51
Cu					12.37	3.88
Cl	6.34	2.03	5.39	2.15	8.69	3.08

Sự có mặt của hạt nano CuNPs và màng PDA trong hệ vật liệu được khẳng định thông qua kết quả EDX và ảnh SEM của các hệ điện cực (Hình 5.22).



Hình 5.21. Phổ tán sắc năng lượng tia X (EDX) của hệ điện cực SPE/rGO/PDA-CuNPs.

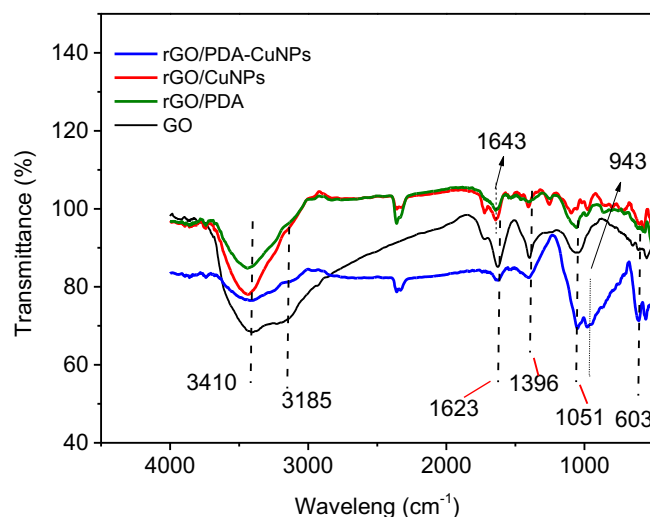
Từ Bảng 5.3 và Hình 5.21 ta thấy, trên điện cực SPE/rGO/PDA-CuNPs, hàm lượng Cu chiếm 3.88 % (nguyên tử), đồng nghĩa với việc khẳng định sự có mặt của Cu trên bề mặt điện cực. Tuy nhiên, với hai hệ điện cực SPE/rGO/PDA và SPE/rGO/PDA-CuNPs, ta không thấy sự xuất hiện của nguyên tố N, đó là do màng polydopamin trong cả hai điện cực quá mỏng, do vậy tỉ lệ của N trong các hệ vật liệu này rất nhỏ, không xuất hiện trong thành phần các nguyên tố của các hệ này.



Hình 5.22. Ảnh SEM của bề mặt các điện cực (A) SPE/rGO/PDA-CuNPs; (B) SPE/rGO/PDA; (C)SPE/rGO; và (D) SPE

Ảnh SEM, Hình 5.22, của các hệ điện cực SPE/rGO/PDA-CuNPs, SPE/rGO/PDA, SPE/rGO; và SPE cho thấy các hạt nano đồng CuNPs (các cụm màu sáng), kích thước 400 – 600 nm bám trên bề mặt của lớp rGO (Hình 5.22 A), trong khi sự có mặt của lớp PDA gần như không quan sát được do lớp này quá mỏng (Hình 5.22 B so với Hình 5.22 C không khác biệt nhiều). Lớp rGO rất mỏng và dẫn điện tốt được phủ lên bề mặt vật liệu cacbon của điện cực SPE.

Hình 5.23 biểu diễn phổ hồng ngoại của hệ vật liệu rGO/PDA-CuNPs và các hệ vật liệu đối chiếu rGO/CuNPs, rGO/PDA và GO.

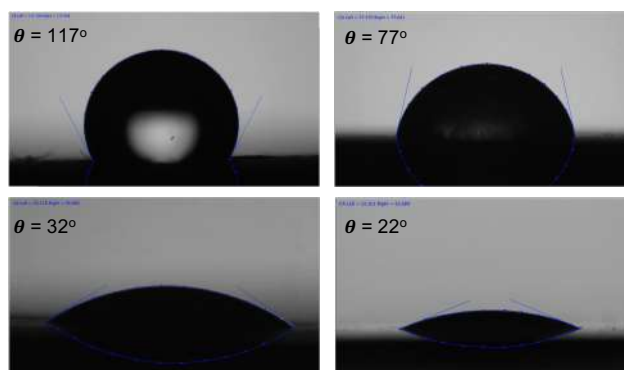


Hình 5.23. Phổ hồng ngoại FTIR của các hệ vật liệu rGO/PDA/CuNPs, rGO/CuNPs, rGO/PDA và GO

Quan sát phổ FTIR của GO cho thấy có sự tồn tại của nhóm cacbonyl – C = O tại 1623 cm^{-1} [63]. Peak tại 1396 cm^{-1} đặc trưng cho sự tồn tại của liên kết C–O. Peak tại 1643 cm^{-1} đặc trưng cho sự tồn tại của liên kết C = C, còn peak tại 1051 cm^{-1} đặc trưng cho liên kết C-O-C.

Ngoài ra peak 3410 cm^{-1} đặc trưng cho sự có mặt của các nhóm -OH [93]. Quá trình tổng hợp PDA là thành công thể hiện bởi peak đặc trưng của liên kết NH tại 1643 cm^{-1} . Trong khi đó, peak ở vị trí 603 cm^{-1} , được gán cho liên kết Cu-O, do tương tác giữa CuNPs với nhóm OH của polydopamin hoặc với nhóm –COOH vẫn còn trong rGO. Điều này cho thấy vai trò của PDA trong quá trình điện phân kết tủa CuNPs lên bề mặt điện cực.

Khi nghiên cứu tính thấm ướt của hệ vật liệu khi phủ các lớp khác nhau lên bề mặt điện cực, ta thấy rõ sự thay đổi gây ra bởi các hệ vật liệu này, Hình 5.24.

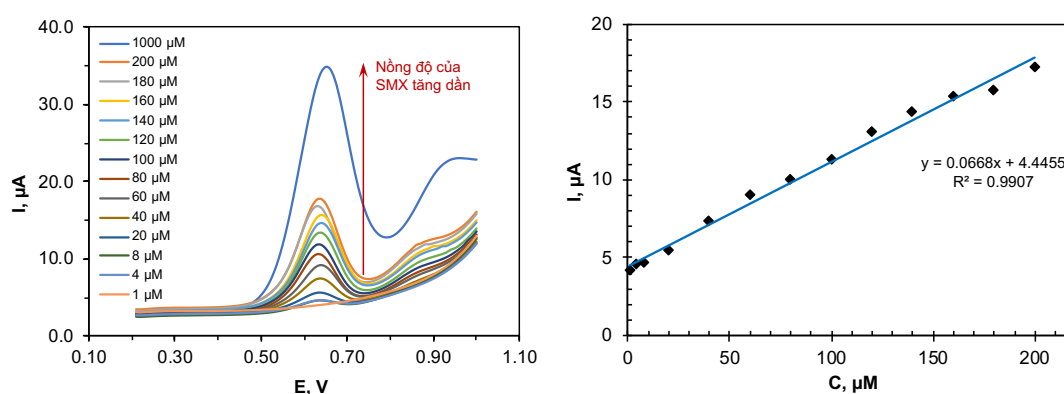


Hình 5.24. Góc tiếp xúc θ (góc thấm ướt) của các bề mặt điện cực (a)SPE trần, (b) SPE/rGO, (c) SPE/rGO/PDA, (d) SPE/rGO/PDA-CuNPs.

Hình 5.24 cho thấy góc thấm ướt lần lượt giảm dần từ 116,8 đến 72,0; 36,5 và 14,2 tương ứng với điện cực SPE trần, điện cực phủ lần lượt các lớp rGO, PDA và CuNPs. Điều này là do khi tổng hợp các lớp vật liệu lên sẽ thay đổi bề mặt vật liệu, các nhóm chức của các vật liệu khác nhau làm tăng khả năng tương tác của nước với vật liệu. rGO chứa các nhóm chức chứa oxy chưa bị khử hết và PDA chứa các nhóm chức OH và NH₂ có khả năng tương tác với nước, khiến góc thấm ướt giảm, đồng nghĩa với tính thấm ướt của bề mặt điện cực tăng. Lớp CuNPs có tính thấm ướt nước tốt nhất do tương tác giữa kim loại và nước rất tốt.

5.3. Ứng dụng hệ chip vi lưu tích hợp điện cực mạch in biến tính trong phân tích hàm lượng thuốc kháng sinh sulfamethoxazole.

Kết quả thực nghiệm nghiên cứu xác định sulfamethoxazole (SMX) có trong dung dịch đệm PB bằng hệ vi lưu tích hợp điện cực mạch in biến tính được biểu diễn trên sơ đồ Hình 5.5. Hàm lượng SMX được phân tích bằng phương pháp von-ampe sóng vuông (SWV) sử dụng điện cực SPE/rGO/PDA-CuNPs. Đường chuẩn nồng độ SMX – Cường độ dòng điện được xây dựng bằng cách đo các dung dịch có nồng độ SMX (được pha từ SMX tinh khiết) trong đệm PB thay đổi từ 1 μM đến 200 μM . Đường chuẩn mô tả mối quan hệ tuyến tính giữa nồng độ SMX và tín hiệu điện hóa thu được như trên Hình 5.25.



Hình 5.25. Thiết lập đường chuẩn cường độ dòng điện – nồng độ SMX (I – C) by phương pháp xung sóng vuông (SWV) của điện cực SPE/rGO/PDA-CuNPs với nồng độ thay đổi từ 1 đến 1000 μM trong đệm PB 0,2 M; Khoảng quét thế từ 0,2 đến 1 V; tốc độ quét thế 50 mV/s.

Có thể thấy sự gia tăng dòng đỉnh tương ứng với sự tăng nồng độ của SMX trong khoảng 1 đến 200 μM . Tuy nhiên, ở nồng độ của SMX < 4 μM thì tín hiệu điện hóa (I) khá nhỏ và không đảm bảo tính chính xác, nên khoảng giá trị nồng độ SMX

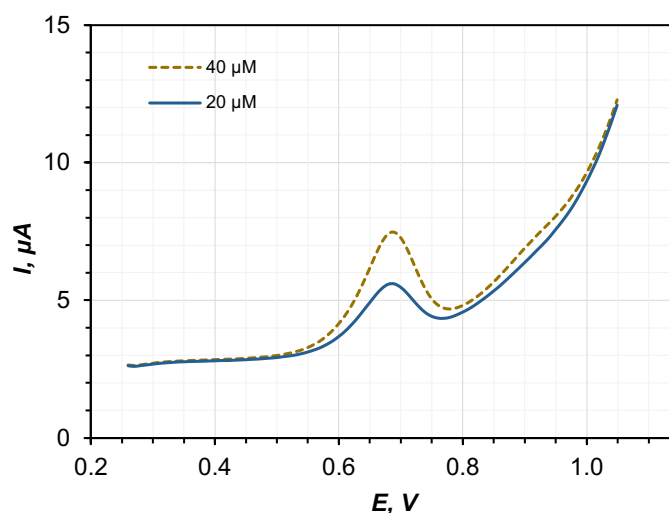
được lựa chọn cho việc xây dựng đường chuẩn là từ 4 đến 200 μM . Đường chuẩn thiết lập được trong khoảng nồng độ này là (Hình 5.25):

$$\Delta I_p = 0,0668 \times C_{\text{SMX}} + 4,4455 \quad \text{với } R^2 = 0,9907$$

Sau mỗi lần đo, hệ được bơm dung dịch đệm PB vào rửa và quét điện cực bằng phương pháp SWV để loại bỏ SMX dư sau phân tích. Điện cực được tái sử dụng cho thấy sau 5 lần đo, hệ điện cực biến tính vẫn ổn định. Để kiểm tra độ sạch của hệ vi lưu (trong loại bỏ SMX sau các lần rửa), hệ được bơm đệm PB và quét SWV. Kết quả cho thấy không có sự tồn tại của peak SMX sau 2 lần rửa quét rửa.

Kết quả cho thấy tín hiệu đáp ứng tuyến tính trong khoảng nồng độ từ 4 – 200 μM , từ đó xác định được giới hạn phát hiện (LOD) đối với SMX là 1,5 μM . Trong đó, nồng độ SMX bằng 1000 μM được thử nghiệm để khảo sát để khả năng nhận biết của điện cực SPE đã biến tính có thể làm việc ở nồng độ cao hay không. Từ kết quả cho thấy, ở nồng độ cao tín hiệu điện hoá thu được không bị dịch chuyển peak và điều đó chứng tỏ khả năng làm việc của điện cực. Tuy nhiên, khoảng tuyến tính để có thể nội suy tốt nhất là từ 4 – 200 μM như đã nhận định ở trên.

Trên cơ sở đó, điện cực SPE/rGO/PDA-CuNPs được sử dụng để xác định SMX trong mẫu thuốc thương mại T.T.S Năm Thái.



Hình 5.26. Tín hiệu dòng điện theo phương pháp xung sóng vuông (SWV) của điện cực SPE/rGO/PDA-CuNPs xác định thử nghiệm SMX với hai nồng độ 20 và 40 μM pha từ mẫu thuốc T.T.S Năm Thái trong đệm PB 0,2 M; Khoảng quét thế từ 0,2 đến 1,5 V; tốc độ quét thế 50 mV/s.

Mẫu thuốc (chứa SMX có nồng độ gốc là 20 g/100 mL) được pha trong môi trường đệm PB 0,2 M với hai giá trị nồng độ C_{SMX} : 20,0 và 40,0 μ M. Sau đó, dung dịch SMX được bơm vào hệ vi lưu (đã tích hợp điện cực SPE/rGO/PDA-CuNPs) với lưu lượng 10 μ L/phút. Đồng thời bật máy đo và tiến hành phân tích điện hoá ở chế độ bơm dung dịch chứa SMX liên tục, kết quả cho thấy nồng độ xác định được tương ứng là, Hình 5.26: 20,3 và 40,8 μ M với tỷ lệ thu hồi lần lượt là: 101,5 và 102,8 %.

Kết quả đo hàm lượng SMX trong mẫu thuốc thương mại (T.T.S Năm Thái) có cường độ peak và đỉnh peak thu được phù hợp với mẫu chuẩn được dùng để xây dựng đường chuẩn, Hình 5.26. Ngoài ra, thử nghiệm ban đầu với mẫu thuốc chứa SMX thực tế cho thấy tiềm năng ứng dụng cảm biến điện hóa SPE/rGO/PDA-CuNPs cho nhận biết SMX trong các mẫu thuốc thương mại với độ thu hồi có thể trong khoảng từ 101,5 – 102,8 %. Mặc dù độ thu hồi chưa cao có thể do phương pháp đường chuẩn đối với mẫu thực do ảnh hưởng của yếu tố nền của mẫu thuốc (chứa tá dược và Trimethoprim: 4,0 g/100 mL).

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

I. KẾT LUẬN:

1. Đã chế tạo thành công thiết bị vi lưu tích hợp các mô đun chức năng: Khuấy trộn, bắt hạt nano từ. Trong đó, việc thiết kế các cuộn dây phẳng và tính toán từ trường sinh ra của cuộn dây đã được thực hiện. Đây là mô đun đóng vai trò tạo ra từ trường được tích hợp với hệ vi lưu cho mục đích bắt hạt nano từ định hướng ứng dụng trong phân tích sinh học theo kỹ thuật phân tích ELISA. Cuộn dây với các kích thước khác nhau được thử nghiệm bắt hạt nano từ (đường kính 1,05 μm) với hiệu quả tốt ở điều kiện lưu lượng dòng chất lỏng trong vi kênh đến 100 $\mu\text{L}/\text{ph}$, cường độ dòng điện đặt vào có thể đạt đến 570 mA mà vẫn duy trì được nhiệt độ trong hệ vi lưu $< 37^\circ\text{C}$. Điều này có ý nghĩa quan trọng khi cần áp dụng hệ vi lưu này trong phân tích theo kỹ thuật ELISA.

2. Hệ vi lưu tích hợp cảm biến điện hoá SPE được thiết kế và chế tạo thành công với quy trình biến tính điện cực cũng như phân tích hàm lượng kháng sinh SMX ngay trong hệ vi lưu. Kết quả thu được có ý nghĩa quan trọng trong việc phát triển phương pháp phân tích hàm lượng kháng sinh nói chung bằng điện hoá. Ngoài ra, hệ vi lưu có thể thay đổi linh hoạt cho các mục đích phân tích khác nhau khi các hệ điện cực SPE được biến tính phù hợp với mục đích phân tích.

Các kết quả nghiên cứu khác có vai trò quan trọng trong việc hoàn thiện hệ vi lưu cũng đã được thực hiện trong luận án này:

- Phát triển kỹ thuật ghép vi kênh bằng kết cấu cơ khí cho phép tái sử dụng hệ vi lưu nhiều lần. Đặc biệt hệ đế của vi kênh, điều này giúp tiết kiệm chi phí và thời gian chế tạo hệ chip vi lưu tích hợp.

- Thiết kế và chế tạo được hệ van điều khiển với 8 dòng bơm khác nhau cho hệ vi lưu. Hệ van này giúp điều khiển đa dòng vào hệ vi lưu trong quá trình khuấy trộn, thao tác với nhiều dòng chất lỏng.

II. ĐỊNH HƯỚNG NGHIÊN CỨU TIẾP THEO

1. Tối ưu hoá việc chế tạo hệ nam châm điện phẳng với kích thước nhỏ hơn.
2. Tối ưu hoá kỹ thuật bắt hạt nano từ và thực hiện hoàn chỉnh kỹ thuật ELISA trong hệ chip vi lưu.
3. Tối ưu hoá kỹ thuật tích hợp cảm biến điện hoá trên nhiều loại điện cực phẳng SPE khác nhau.
4. Thực hiện thử nghiệm phân tích hàm lượng kháng sinh trong hệ chip vi lưu tích hợp trên cơ sở tối ưu hoá hệ vật liệu biến tính cảm biến điện hoá.
5. Tối ưu hoá phép phân tích kháng sinh trên cơ sở tối ưu hoá độ lặp lại, độ ổn định, giới hạn phát hiện (LOD, LOQ) và độ đặc hiệu của cảm biến.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH CỦA TÁC GIẢ

Bài báo liên quan trực tiếp đến luận án.

1. T.N. Le, V. A. Nguyen, G.L. Bach, L.D. Tran, H.H. Cao, Design and Fabrication of a PDMS-Based Manual Micro-Valve System for Microfluidic Applications, *Advances in Polymer Technology*, vol 2020 (2020), p 1-7.
2. Tu Le Ngoc, Nguyen Cong Thinh, Lam Dai Tran, Van-Anh Nguyen, Ha Cao Hong, Microfluidic chip for trapping magnetic nanoparticles and heating in terms of biological analysis, *Communications in Physics*, 30 (2020) p 245-256.
3. Lê Ngọc Tú, Trần Đại Lâm, Nguyễn Phúc Quân, Nguyễn Vân Anh, Lê Trọng Huyền, Cao Hồng Hà, Tổng hợp vật liệu nanocomposit trên cơ sở graphen oxit khử, polydopamin và hạt nano đồng cho chế tạo cảm biến xác định sulfamethoxazole, *Tạp chí Phân tích Hoá, Lý và Sinh học*, (*Đã chấp nhận đăng số 2 năm 2023, chưa in*).

Bài báo khác

1. Le The Tam, Nguyen Hoa Du, Le Trong Lu, Nguyen Thi Hai Hoa, Le Ngoc Tu, Tran Dai Lam, Magnetic resonance imaging (MRI) application of Fe₃O₄ based ferrofluid synthesized by thermal decomposition using poly (maleic anhydride - alt-1-octadecene) (PMO), *Vietnam Journal of Science and Technology*, 56, 1A (2018), p 174-182.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] D.C. Duffy, J.C. McDonald, O.J.A. Schueller, G.M. Whitesides, Rapid Prototyping of Microfluidic Systems in Poly(dimethylsiloxane), *Analytical Chemistry*, 70 (1998) 4974-4984.
- [2] D. Qin, Y. Xia, J.A. Rogers, R.J. Jackman, X.-M. Zhao, G.M. Whitesides, Microfabrication, microstructures and microsystems, *Microsystem technology in chemistry and life science*, Springer 1998, pp. 1-20.
- [3] V. Hessel, H. Löwe, F. Schönfeld, Micromixers—a review on passive and active mixing principles, *Chemical engineering science*, 60 (2005) 2479-2501.
- [4] N.-T. Nguyen, Z. Wu, Micromixers—a review, *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 15 (2005) R1.
- [5] E.-S. Shanko, Y. van de Burgt, P.D. Anderson, J.M.J. den Toonder, Microfluidic Magnetic Mixing at Low Reynolds Numbers and in Stagnant Fluids, *Micromachines*, 10 (2019) 731.
- [6] K.B. Mogensen, H. Klank, J.P. Kutter, Recent developments in detection for microfluidic systems, *Electrophoresis*, 25 (2004) 3498-3512.
- [7] J.W. Choi, K.W. Oh, J.H. Thomas, W.R. Heineman, H.B. Halsall, J.H. Nevin, A.J. Helmicki, H.T. Henderson, C.H. Ahn, An integrated microfluidic biochemical detection system for protein analysis with magnetic bead-based sampling capabilities, *Lab on a chip*, 2 (2002) 27-30.
- [8] D. Lorusso, H.N. Nikolov, J.S. Milner, N.M. Ochotny, S.M. Sims, S.J. Dixon, D.W. Holdsworth, Practical fabrication of microfluidic platforms for live-cell microscopy, *Biomedical Microdevices*, 18 (2016) 1-7.
- [9] T.S. Monteiro, S. Cardoso, T.S. Monteiro, L.M. Gon, x00E, alves, G. Minas, PDMS encasing system for integrated lab-on-chip Ag/AgCl reference electrodes, *Bioengineering (ENBENG)*, 2015 IEEE 4th Portuguese Meeting on, 2015, pp. 1-4.
- [10] M. Medina-Sánchez, S. Miserere, E. Morales-Narváez, A. Merkoçi, On-chip magneto-immunoassay for Alzheimer's biomarker electrochemical detection by using quantum dots as labels, *Biosensors and Bioelectronics*, 54 (2014) 279-284.
- [11] E. Samiei, M. Tabrizian, M. Hoorfar, A review of digital microfluidics as portable platforms for lab-on a-chip applications, *Lab on a chip*, 16 (2016) 2376-2396.
- [12] E. Finehout, W.-C. Tian, *Microfluidics for Biological Applications*, 1 ed., Springer US, 233 Spring Street, New York, NY 10013, USA, 2009.
- [13] W.-G. Koh, M. Pishko, Immobilization of multi-enzyme microreactors inside microfluidic devices, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 106 (2005) 335-342.
- [14] D.M. Ratner, E.R. Murphy, M. Jhunjhunwala, D.A. Snyder, K.F. Jensen, P.H. Seeberger, Microreactor-based reaction optimization in organic chemistry-glycosylation as a challenge, *Chemical Communications*, DOI 10.1039/B414503H(2005) 578-580.
- [15] Y. Hao, L. Zhang, J. He, Z. Guo, L. Ying, Z. Xu, J. Zhang, J. Lu, Q. Wang, Functional Investigation of NCI-H460-Inducible Myofibroblasts on the Chemoresistance to VP-16 with a Microfluidic 3D Co-Culture Device, *PLOS ONE*, 8 (2013) e61754.

- [16] J. He, M.S. Bartsch, K.D. Patel, E.A. Kittlaus, E.M. Remillard, G.L. Pezzola, R.F. Renzi, H. Kim, Digital microfluidic hub for automated nucleic acid sample preparation, Sandia National Laboratories (SNL), Albuquerque, NM, and Livermore, CA ..., 2010.
- [17] H. Lee, Y. Liu, R.M. Westervelt, D. Ham, IC/Microfluidic Hybrid System for Magnetic Manipulation of Biological Cells, *IEEE Journal of Solid-State Circuits*, 41 (2006) 1471-1480.
- [18] B. Li, L. Li, A. Guan, Q. Dong, K. Ruan, R. Hu, Z. Li, A smartphone controlled handheld microfluidic liquid handling system, *Lab on a chip*, 14 (2014) 4085-4092.
- [19] Y.-J. Fu, H.-z. Qui, K.-S. Liao, S.J. Lue, C.-C. Hu, K.-R. Lee, J.-Y. Lai, Effect of UV-Ozone Treatment on Poly(dimethylsiloxane) Membranes: Surface Characterization and Gas Separation Performance, *Langmuir*, 26 (2009) 4392-4399.
- [20] K. Haubert, T. Drier, D. Beebe, PDMS bonding by means of a portable, low-cost corona system, *Lab on a chip*, 6 (2006) 1548-1549.
- [21] J.C. McDonald, M.L. Chabinyc, S.J. Metallo, J.R. Anderson, A.D. Stroock, G.M. Whitesides, Prototyping of Microfluidic Devices in Poly(dimethylsiloxane) Using Solid-Object Printing, *Analytical Chemistry*, 74 (2002) 1537-1545.
- [22] M.A. Eddings, M.A. Johnson, B.K. Gale, Determining the optimal PDMS–PDMS bonding technique for microfluidic devices, *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 18 (2008) 067001.
- [23] L. Wang, M. Zhang, M. Yang, W. Zhu, J. Wu, X. Gong, W. Wen, Polydimethylsiloxane-integratable micropressure sensor for microfluidic chips, *Biomicrofluidics*, 3 (2009) -.
- [24] A. Khademhosseini, J. Yeh, G. Eng, J. Karp, H. Kaji, J. Borenstein, O.C. Farokhzad, R. Langer, Cell docking inside microwells within reversibly sealed microfluidic channels for fabricating multiphenotype cell arrays, *Lab on a chip*, 5 (2005) 1380-1386.
- [25] J.H. Wittig Jr, A.F. Ryan, P.M. Asbeck, A reusable microfluidic plate with alternate-choice architecture for assessing growth preference in tissue culture, *Journal of Neuroscience Methods*, 144 (2005) 79-89.
- [26] M.C. Le Berre, C. Velve Casquillas, G. Chen, Y., Reversible assembling of microfluidic devices by aspiration, *Microelectronic Engineering*, 83 (2006) 1284-1287.
- [27] M. Rafat, D.R. Raad, A.C. Rowat, D.T. Auguste, Fabrication of reversibly adhesive fluidic devices using magnetism, *Lab on a chip*, 9 (2009) 3016-3019.
- [28] L.X. Ser Choong Chong, Levent Yobas, Hong Miao Ji, Jing Li,, P.D. Yu Chen, Wing Cheong Hui, and Mahadevan K Iyer, Disposable Polydimethylsiloxane Package for ‘Bio-Microfluidic System’, *Electronic Components and Technology Conference, IEEE, 2005*, pp. 617 - 621.
- [29] C.H. Vézy, N. Dempsey, N. M. Dumas-Bouchiat, F. Frénéa-Robin, M., Simple method for reversible bonding of a polydimethylsiloxane microchannel to a variety of substrates, *Micro & Nano Letters*, 6 (2011) 871.
- [30] R.S. Yalow, S.A. Berson, Immunoassay of endogenous plasma insulin in man, *The Journal of Clinical Investigation*, 39 (1960) 1157-1175.
- [31] N. Scholler, M. Crawford, A. Sato, C.W. Drescher, K.C. O’Briant, N. Kiviat, G.L. Anderson, N. Urban, Bead-based ELISA assays for validation of ovarian cancer early

- detection markers, *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 12 (2006) 2117-2124.
- [32] L.-S. Wang, Y.Y. Leung, S.-K. Chang, S. Leight, M. Knapik-Czajka, Y. Baek, L.M. Shaw, V.M.Y. Lee, J.Q. Trojanowski, C.M. Clark, Comparison of xMAP and ELISA assays for detecting CSF biomarkers of Alzheimer's Disease, *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, 31 (2012) 439-445.
- [33] R. de la Rica, M.M. Stevens, Plasmonic ELISA for the ultrasensitive detection of disease biomarkers with the naked eye, *Nat Nano*, 7 (2012) 821-824.
- [34] N. Scholler, M. Crawford, A. Sato, C.W. Drescher, K.C. O'Briant, N. Kiviat, G.L. Anderson, N. Urban, Bead-Based ELISA for Validation of Ovarian Cancer Early Detection Markers, *Clinical Cancer Research*, 12 (2006) 2117-2124.
- [35] H. Kuramitz, Magnetic microbead-based electrochemical immunoassays, *Anal Bioanal Chem*, 394 (2009) 61-69.
- [36] C.-J. Liu, K.-Y. Lien, C.-Y. Weng, J.-W. Shin, T.-Y. Chang, G.-B. Lee, Magnetic-bead-based microfluidic system for ribonucleic acid extraction and reverse transcription processes, *Biomedical Microdevices*, 11 (2009) 339-350.
- [37] A.C. Ng, U. Uddayasankar, A. Wheeler, Immunoassays in microfluidic systems, *Anal Bioanal Chem*, 397 (2010) 991-1007.
- [38] C. Wyatt Shields Iv, C.D. Reyes, G.P. Lopez, Microfluidic cell sorting: a review of the advances in the separation of cells from debulking to rare cell isolation, *Lab on a chip*, 15 (2015) 1230-1249.
- [39] K. Sung Kim, J.-K. Park, Magnetic force-based multiplexed immunoassay using superparamagnetic nanoparticles in microfluidic channel, *Lab on a chip*, 5 (2005) 657-664.
- [40] R. Gottheil, N. Baur, H. Becker, G. Link, D. Maier, N. Schneiderhan-Marra, M. Stelzle, Moving the solid phase: a platform technology for cartridge based sandwich immunoassays, *Biomedical Microdevices*, 16 (2014) 163-172.
- [41] M. Herrmann, T. Veres, M. Tabrizian, Enzymatically-generated fluorescent detection in micro-channels with internal magnetic mixing for the development of parallel microfluidic ELISA, *Lab on a chip*, 6 (2006) 555-560.
- [42] D. Holmes, J.K. She, P.L. Roach, H. Morgan, Bead-based immunoassays using a microchip flow cytometer, *Lab on a chip*, 7 (2007) 1048-1056.
- [43] Y.-H. Lin, P.-Y. Peng, Semiconductor sensor embedded microfluidic chip for protein biomarker detection using a bead-based immunoassay combined with deoxyribonucleic acid strand labeling, *Analytica Chimica Acta*, DOI [http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2015.03.002\(2015\)](http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2015.03.002(2015)).
- [44] Y. Wang, J. Dostalek, W. Knoll, Magnetic Nanoparticle-Enhanced Biosensor Based on Grating-Coupled Surface Plasmon Resonance, *Analytical Chemistry*, 83 (2011) 6202-6207.
- [45] B.A. Otieno, C.E. Krause, A. Latus, B.V. Chikkaveeraiah, R.C. Faria, J.F. Rusling, On-line protein capture on magnetic beads for ultrasensitive microfluidic immunoassays of cancer biomarkers, *Biosensors and Bioelectronics*, 53 (2014) 268-274.
- [46] R. Rong, C. Jin-Woo, H.A. Chong, An on-chip magnetic bead separator for biocell sorting, *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 16 (2006) 2783.

- [47] R. Fulcrand, A. Bancaud, C. Escriba, Q. He, S. Charlot, A. Boukabache, A.-M. Gué, On chip magnetic actuator for batch-mode dynamic manipulation of magnetic particles in compact lab-on-chip, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 160 (2011) 1520-1528.
- [48] C.-Y. Lee, Z.-H. Chen, H.-T. Chang, C.-Y. Wen, C.-H. Cheng, Design and fabrication of novel micro electromagnetic actuator, *Microsystem Technologies*, 15 (2009) 1171-1177.
- [49] Z. Yushan, M. Sawan, A microsystem for magnetic immunoassay towards protein toxins detection, *Circuits and Systems (ISCAS), 2014 IEEE International Symposium on*, 2014, pp. 225-228.
- [50] Z. Yushan, M. Sawan, Planar Microcoil Array Based Temperature-Controllable Lab-on-Chip Platform, *Magnetics, IEEE Transactions on*, 49 (2013) 5236-5242.
- [51] C. Chen-Chia, H. Shih-Hsun, S. Chen-Hsiang, Y. Chih-Chyau, W. Chien-Ming, H. Chun-Ming, S. Jeng-Tzong, Multi-layer planar micro-coils chip as actuators and heaters for biological applications, *Biomedical Circuits and Systems Conference (BioCAS), 2012 IEEE, 2012*, pp. 392-395.
- [52] A. Beyzavi, N.-T. Nguyen, Modeling and optimization of planar microcoils, *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 18 (2008) 095018.
- [53] K. Smistrup, P.T. Tang, O. Hansen, M.F. Hansen, Microelectromagnet for magnetic manipulation in lab-on-a-chip systems, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 300 (2006) 418-426.
- [54] M. Woytasik, J. Moulin, E. Martincic, A.-L. Coutrot, E. Dufour-Gergam, Copper planar microcoils applied to magnetic actuation, *Microsystem Technologies*, 14 (2007) 951-956.
- [55] S.-H. Song, B.-S. Kwak, J.-S. Park, W. Kim, H.-I.L. Jung, Novel application of Joule heating to maintain biocompatible temperatures in a fully integrated electromagnetic cell sorting system, *Sensors and Actuators A: Physical*, 151 (2009) 64-70.
- [56] R.M. Silva, A.D. da Silva, J.R. Camargo, B.S. de Castro, L.M. Meireles, P.S. Silva, B.C. Janegitz, T.A. Silva, Carbon Nanomaterials-Based Screen-Printed Electrodes for Sensing Applications, *Biosensors*, 13 (2023) 453.
- [57] S. Chen, Z. Wang, X. Cui, L. Jiang, Y. Zhi, X. Ding, Z. Nie, P. Zhou, D. Cui, Microfluidic Device Directly Fabricated on Screen-Printed Electrodes for Ultrasensitive Electrochemical Sensing of PSA, *Nanoscale Research Letters*, 14 (2019) 71.
- [58] H. Kim, I.-K. Lee, K. Taylor, K. Richters, D.-H. Baek, J.H. Ryu, S.J. Cho, Y.H. Jung, D.-W. Park, J. Novello, J. Bong, A.J. Suminski, A.M. Dingle, R.H. Blick, J.C. Williams, E.W. Dent, Z. Ma, Single-neuronal cell culture and monitoring platform using a fully transparent microfluidic DEP device, *Scientific Reports*, 8 (2018) 13194.
- [59] N.J. Ronkainen, H.B. Halsall, W.R. Heineman, Electrochemical biosensors, *Chemical Society Reviews*, 39 (2010) 1747-1763.
- [60] A. Sanati, M. Jalali, K. Raeissi, F. Karimzadeh, M. Kharaziha, S.S. Mahshid, S. Mahshid, A review on recent advancements in electrochemical biosensing using carbonaceous nanomaterials, *Microchimica Acta*, 186 (2019) 773.
- [61] T.G. Chow, D.A. Khan, Sulfonamide Hypersensitivity, *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 62 (2022) 400-412.

- [62] S. Patel, M. Patel, N. Patel, Flowability testing of directly compressible excipients according to british pharmacopoeia, *Journal of Pharmaceutical Research*, 8 (2009) 66-69.
- [63] H. Enomoto, O.A. Petritz, A.E. Thomson, K. Flammer, F. Ferdous, E. Meyer, L.A. Tell, R.E. Baynes, Egg residue and depletion in Rhode Island Red hens (*Gallus gallus domesticus*) following multiple oral doses of trimethoprim-sulfamethoxazole, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 123 (2021) 104941.
- [64] V. Goetting, K. Lee, L.A. Tell, Pharmacokinetics of veterinary drugs in laying hens and residues in eggs: a review of the literature, *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, 34 (2011) 521-556.
- [65] Phạm Thị Thanh Yên, Nguyễn Quang Trung, H.n.T. Hải., Nghiên cứu xác định kháng sinh sulfathiazole, sulfamethazine, sulfamethoxazole, sulfamerazine trong nước mắt bằng sắc ký lỏng hai lần khối phổ Tạp chí phân tích Hoá, Lý và Sinh học, 20 (2015) 20-29.
- [66] B. Du, F. Wen, X. Guo, N. Zheng, Y. Zhang, S. Li, S. Zhao, H. Liu, L. Meng, Q. Xu, M. Li, F. Li, J. Wang, Evaluation of an ELISA-based visualization microarray chip technique for the detection of veterinary antibiotics in milk, *Food Control*, 106 (2019) 106713.
- [67] A. Ait Lahcen, S. Ait Errayess, A. Amine, Voltammetric determination of sulfonamides using paste electrodes based on various carbon nanomaterials, *Microchimica Acta*, 183 (2016) 2169-2176.
- [68] C.D. Souza, O.C. Braga, I.C. Vieira, A. Spinelli, Electroanalytical determination of sulfadiazine and sulfamethoxazole in pharmaceuticals using a boron-doped diamond electrode, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 135 (2008) 66-73.
- [69] A. Preechaworapun, S. Chuanuwatanakul, Y. Einaga, K. Grudpan, S. Motomizu, O. Chailapakul, Electroanalysis of sulfonamides by flow injection system/high-performance liquid chromatography coupled with amperometric detection using boron-doped diamond electrode, *Talanta*, 68 (2006) 1726-1731.
- [70] L. Fotouhi, A.B. Hashkavayi, M.M. Heravi, Electrochemical behaviour and voltammetric determination of sulphadiazine using a multi-walled carbon nanotube composite film-glassy carbon electrode, *Journal of Experimental Nanoscience*, 8 (2013) 947-956.
- [71] B.-s. He, W.-b. Chen, Voltammetric determination of sulfonamides with a modified glassy carbon electrode using carboxyl multiwalled carbon nanotubes, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 27 (2016) 2216-2225.
- [72] L.F. Sgobbi, C.A. Razzino, S.A.S. Machado, A disposable electrochemical sensor for simultaneous detection of sulfamethoxazole and trimethoprim antibiotics in urine based on multiwalled nanotubes decorated with Prussian blue nanocubes modified screen-printed electrode, *Electrochimica Acta*, 191 (2016) 1010-1017.
- [73] Y. Jin, M. Dou, S. Zhuo, Q. Li, F. Wang, J. Li, Advances in microfluidic analysis of residual antibiotics in food, *Food Control*, 136 (2022) 108885.
- [74] Y.T. Atalay, S. Vermeir, D. Witters, N. Vergauwe, B. Verbruggen, P. Verboven, B.M. Nicolaï, J. Lammertyn, Microfluidic analytical systems for food analysis, *Trends in food science & technology*, 22 (2011) 386-404.

- [75] L. Guo, J. Feng, Z. Fang, J. Xu, X. Lu, Application of microfluidic “lab-on-a-chip” for the detection of mycotoxins in foods, *Trends in Food Science & Technology*, 46 (2015) 252-263.
- [76] N. Yang, K. Shen, J. Guo, X. Tao, P. Xu, H. Mao, Error analysis for pesticide detection performed on paper-based microfluidic chip devices, *Modern Physics Letters B*, 31 (2017) 1740024.
- [77] M.Z. Hua, S. Li, S. Wang, X. Lu, Detecting chemical hazards in foods using microfluidic paper-based analytical devices (μ PADs): the real-world application, *Micromachines*, 9 (2018) 32.
- [78] Y. Feng, Y. Lee, Microfluidic assembly of food-grade delivery systems: Toward functional delivery structure design, *Trends in Food Science & Technology*, 86 (2019) 465-478.
- [79] A. Perebikovskiy, Y. Liu, A. Hwu, H. Kido, E. Shamloo, D. Song, G. Monti, O. Shoal, D. Gussin, M. Madou, Rapid sample preparation for detection of antibiotic resistance on a microfluidic disc platform, *Lab on a chip*, 21 (2021) 534-545.
- [80] K. Zhang, S. Qin, S. Wu, Y. Liang, J. Li, Microfluidic systems for rapid antibiotic susceptibility tests (ASTs) at the single-cell level, *Chemical science*, 11 (2020) 6352-6361.
- [81] S.A.A. Almeida, E. Arasa, M. Puyol, C.S. Martinez-Cisneros, J. Alonso-Chamarro, M.C.B.S.M. Montenegro, M.G.F. Sales, Novel LTCC-potentiometric microfluidic device for biparametric analysis of organic compounds carrying plastic antibodies as ionophores: Application to sulfamethoxazole and trimethoprim, *Biosensors and Bioelectronics*, 30 (2011) 197-203.
- [82] T.J. Levario, M. Zhan, B. Lim, S.Y. Shvartsman, H. Lu, Microfluidic trap array for massively parallel imaging of *Drosophila* embryos, *Nat. Protocols*, 8 (2013) 721-736.
- [83] A. García, J.A. Carrasco, J.F. Soto, F. Maganto, C. Morón, A method for calculating the magnetic field produced by a coil of any shape, *Sensors and Actuators A: Physical*, 91 (2001) 230-232.
- [84] Richard P. Feynman, Robert B. Leighton, M. Sands, *The Feynman Lectures on Physics*, New Millennium ed., Basic Books, New York, 2010.
- [85] M. A. M. Gijs, Magnetic bead handling on-chip: new opportunities for analytical applications, *Microfluidics and Nanofluidics*, 1 (2004) 22-40.
- [86] N. Ahmad, A. Kausar, B. Muhammad, An investigation on 4-aminobenzoic acid modified polyvinyl chloride/graphene oxide and PVC/graphene oxide based nanocomposite membranes, *Journal of Plastic Film & Sheeting*, 32 (2016) 419-448.
- [87] J. Feng, Y. Ye, M. Xiao, G. Wu, Y. Ke, Synthetic routes of the reduced graphene oxide, *Chemical Papers*, 74 (2020) 3767-3783.
- [88] L.C. Almeida, T. Frade, R.D. Correia, Y. Niu, G. Jin, J.P. Correia, A.S. Viana, Electrosynthesis of polydopamine-ethanolamine films for the development of immunosensing interfaces, *Scientific Reports*, 11 (2021) 2237.
- [89] S. Hong, Y.S. Na, S. Choi, I.T. Song, W.Y. Kim, H. Lee, Non-Covalent Self-Assembly and Covalent Polymerization Co-Contribute to Polydopamine Formation, *Advanced Functional Materials*, 22 (2012) 4711-4717.
- [90] K.K.H. De Silva, H.-H. Huang, M. Yoshimura, Progress of reduction of graphene oxide by ascorbic acid, *Applied Surface Science*, 447 (2018) 338-346.

- [91] R. Batul, T. Tamanna, A. Khaliq, A. Yu, Recent progress in the biomedical applications of polydopamine nanostructures, *Biomaterials Science*, 5 (2017) 1204-1229.
- [92] A.J. Bard, L.R. Faulkner, R. Rosset, J.L. Brisset, D. Bauer, *Electrochimie: principes, méthodes et applications*, Masson 1983.
- [93] A.M. Dimiev, L.B. Alemany, J.M. Tour, Graphene Oxide. Origin of Acidity, Its Instability in Water, and a New Dynamic Structural Model, *ACS Nano*, 7 (2013) 576-588.