

Nghiên cứu chế tạo hệ vi lưu tích hợp khối chức năng khuấy trộn và bẫy hạt nano từ

Fabrication of Microfluidic System Integrating Pre-Mixture and Trapping Magnetic Nanoparticles Modules

Cao Hồng Hà

Trường Đại học Bách khoa Hà Nội – Số 1, Đại Cồ Việt, Hai Bà Trưng, Hà Nội

Đến Tòa soạn: 28-4-2017; chấp nhận đăng: 5-9-2017

Tóm tắt

Hệ vi lưu được thiết kế và chế tạo trên nền vật liệu Polydimethylsiloxane (PDMS) bằng phương pháp đúc vi kênh sử dụng kỹ thuật quang khắc để tạo khuôn. Vi kênh (cao 50 μm ; rộng 500 μm) được thiết kế gồm các khu vực chức năng: khuấy trộn và bẫy hạt nano. Hệ vi lưu được hoàn thiện trên cơ sở gắn kênh bằng kết cấu cơ khí sử dụng hai tấm Plexiglas, kỹ thuật này cho phép có thể thay thế kênh PDMS mới khi cần thiết. Đồng thời chip có thể làm việc ở điều kiện áp lực cao (trên 150 kPa) của dòng lỏng trong kênh. Khu vực bẫy hạt nano siêu thuận từ 300 nm được chế tạo bằng cách đặt một nam châm NdFeB đặt ngay phía dưới kênh. Kết quả này cho phép mở ra hướng ứng dụng hiệu quả hệ vi lưu trong các phép phân tích điện hóa hay y - sinh.

Từ khóa: Hệ vi lưu, vi kênh, bẫy hạt nano từ, PDMS

Abstract

The microfluidic system was designed and fabricated in Polymethylsiloxane (PDMS) using replica molding process. PDMS micro-channel (50 μm high, 500 μm wide) was designed with functional modules: mixing components and trapping nano magnetic beads. The microfluidic system was packed by mechanical technique using two Plexiglas pieces and fixing by screws, the PDMS channels can be easy to replace by new one in case of requirement thanks to this technique. In addition, the microfluidic system was passed the leaking test with high-pressure drop (> 150 kPa) of liquids injecting in micro-channel (with flow rate: 500 $\mu\text{L}/\text{min}$ in 15 minutes). The trapping zone of micro channel was fabricated with a large reservoir and a NdFeB magnet placing under channel. The result is the basic of applying microfluidic chip in the chemical/bio medical analysis.

Keywords: Microfluidic system, Microchannels, Trapping magnetic nanoparticles, PDMS

I. Mở đầu

Từ những năm 2000 trở lại đây, việc sử dụng chip cảm biến vi lưu (micro/nanofluidics) 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 mà hệ vi lưu này mang như: giảm việc tiêu thụ các tác nhân phản ứng do vi kênh có thể tích nhỏ và tăng độ nhạy nhờ vào việc tăng diện tích bề mặt tiếp xúc và tăng sự chuyển khối khí vi kênh giảm xuống kích thước μm và nm [1, 2]. Thêm vào đó, nhờ sự phát triển mạnh mẽ của công nghệ nano, công nghệ vi cơ điện tử (MEMS, NEMS), việc tích hợp và chế tạo linh kiện vi hệ thống nói chung và các hệ vi lưu nói riêng trở nên dễ dàng hơn. Đây cũng là cơ sở để phát triển các phòng thí nghiệm trên một chip (Lab-on-a-chip) cho phép tích hợp các chức năng như bơm, khuấy trộn mẫu, phân tích và thông tin kết quả trên

cùng một chip tích hợp [3, 4]. Hiện nay, các hệ vi lưu được sử dụng trong các phép phân tích trong y sinh như: các phân tích DNA, tế bào, PCR,... cho phép tạo ra những hệ thống có tính cơ động cao, và chi phí giảm dần [5]. 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 (đến một vài μL) và nhỏ về nồng độ tác nhân (nmol/L).

Trong chế tạo các chip vi lưu trên nền vật liệu phổ biến hiện nay là PDMS, với kỹ thuật xử lý bề mặt bằng plasma trong ghép vi kênh trên các nền thủy tinh hay silic cho kết quả lực bám dính rất chắc và không thể gỡ kênh sau khi gắn [6]. Vì vậy, các vi kênh và tấm nền chỉ sử dụng được một lần và phải thay thế khi kênh bị bẩn hoặc có lỗi trong quá trình làm việc. Việc thay thế này gây tốn thời gian và chi phí, đặc biệt khi tấm nền chứa các chi tiết đòi hỏi nhiều công đoạn phức tạp để chế tạo. Hiện nay, một số phát triển trong kỹ thuật lắp ghép kênh lên tấm nền

* Địa chỉ liên hệ: +84.24.3.8680109
Email: ha.caohong@hust.edu.vn

cho phép sử dụng lại tấm nền nhiều lần sẽ đem lại lợi ích rất lớn về thời gian và chi phí chế tạo như: sử dụng nam châm, băng dính hai mặt hay chất kết dính [7, 8]. Trong nghiên cứu này, kỹ thuật gắn kênh theo hướng sử dụng lại tấm nền nhiều lần được phát triển trên cơ sở sử dụng kết cấu cơ khí và kênh được đóng kín bằng màng mỏng PDMS.

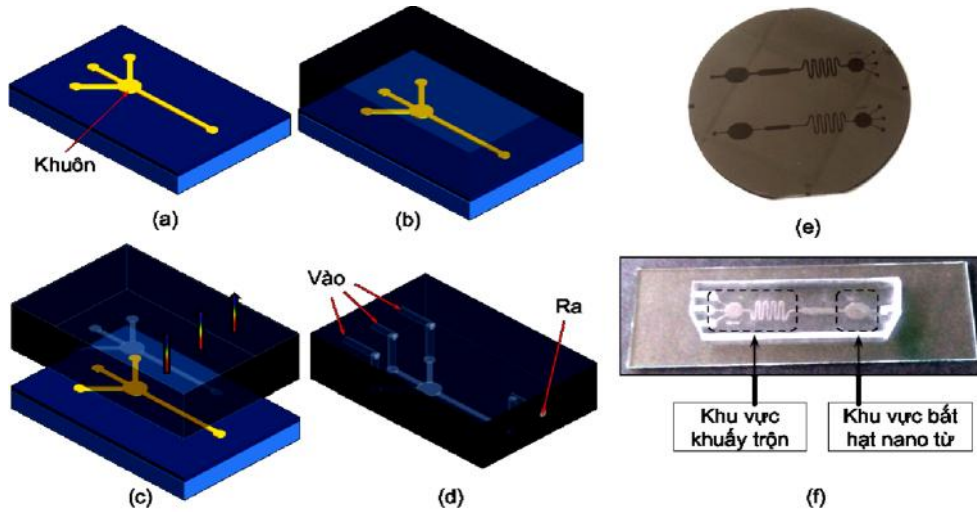
Sự kết hợp hệ vi lưu trong phân tích sinh học sử dụng các hạt nano từ đã và đang được phát triển với mục đích giảm thời gian và lượng tác nhân trong quá trình phân tích [9]. Trong các hệ vi lưu, các quy trình thực hiện tương tự như các bước trong kỹ thuật truyền thống (ví dụ như: kỹ thuật phân tích chất hấp phụ miễn dịch gắn enzyme – ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assays)), nhưng thời gian cũng như lượng mẫu sử dụng giảm đi nhiều lần. Với kỹ thuật này, việc khuấy trộn và bẫy hạt nano từ trong vi kênh là những bước rất quan trọng quyết định đến sự thành công của phép phân tích. Chính vì vậy việc nghiên cứu, thiết kế và chế tạo hệ vi lưu với các khối chức năng: khuấy trộn và bẫy các hạt nano từ là mục tiêu quan trọng trong nghiên cứu này.

2. Thực nghiệm

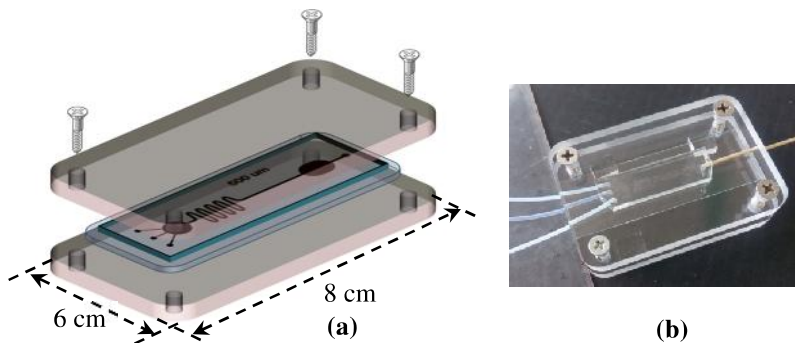
2.1. Thiết kế và chế tạo vi kênh

Khuôn của vi kênh được thiết kế bằng phần mềm Inkscape, sau đó khuôn của kênh được tạo hình nhờ kỹ thuật quang khắc sử dụng chất cảm quang SU8 – 3050 (từ hãng MicroChem Corp.) trên đế SiO₂/Si (P.100) (Mua từ hãng Universitywafer) [10]. Khuôn của kênh được định hình với độ cao 50 μm, độ rộng 500 μm (Hình 1 (a, e)).

Vi kênh được chế tạo từ vật liệu Poly(dimethylsiloxane) – PDMS (Sylgard 184 Silicone Elastomer Kit, Dow Corning Corp.). PDMS được chuẩn bị từ hai thành phần: Silicone elastomer và chất đóng rắn (curing agent) được trộn theo tỷ lệ 10:1, sau khi trộn hai thành phần này hỗn hợp được loại bọt khí bằng cách hút chân không. Sau đó, đổ hỗn hợp đồng nhất thu được đổ lên khuôn (hình 1(a)) và đặt vào tủ sấy ở nhiệt độ 70°C trong 2 giờ để đóng rắn (hình 1(b)). Tiếp theo, kênh PDMS được tách khỏi khuôn, cắt định hình và đục lỗ tạo đường vào và ra cho kênh (Hình 1 (c), (d))



Hình 1. Quy trình chế tạo khuôn và kênh PDMS bằng kỹ thuật đúc. (a) Tạo khuôn trên vật liệu cảm quang SU – 8; (b) Đổ PDMS lên khuôn và thực hiện đóng rắn; (c) Tách kênh PDMS ra khỏi khuôn; (d) Khoan lỗ tạo đường vào và ra cho kênh; (e) Khuôn đúc kênh bằng SU – 8 trên đế SiO₂/Si; (f) Kênh sau khi gắn lên đế thủy tinh.



Hình 2. (a) Quy trình lắp ráp hệ vi dòng bằng kết cấu cơ khí; (b) Hình ảnh hệ vi dòng

Hệ vi lưu được hoàn thiện bằng cách gắn vi kênh lên đế bằng các kỹ thuật ghép nối cơ khí. Đầu tiên, Kênh PDMS được đóng 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 Teflon, sau đó đóng rắn trong tủ sấy (ở 70°C trong 1 giờ). Kênh và màng PDMS được gắn với nhau bằng xử lý plasma và ủ trong tủ sấy ở 70°C trong 1 giờ. Sau đó, 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 (Hình 2).

2.2. Thử độ kín của kênh

Kiểm tra độ kín của hệ vi lưu sau khi ghép vào cơ cấu cơ khí được thực hiện trên cơ sở thay đổi lưu lượng dòng nước được bơm vào kênh (cao 50 μm , rộng 500 μm). Lưu lượng tổng thay đổi từ 100; 200; 300; 400 và 500 $\mu\text{L}/\text{phút}$ (bơm: RaZEL™ R99-FMZ) và được duy trì bơm liên tục trong 15 phút tương ứng với từng mức lưu lượng. Các hệ vi lưu được kiểm tra rò rỉ chất lỏng bằng mắt thường trong quá trình thử nghiệm để đánh giá độ kín và chịu áp lực của dòng chất lỏng.

2.3 Thử nghiệm chức năng khuấy trộn và bắt hạt nano từ

a. Thử nghiệm chức năng khuấy trộn

Khu vực có chức năng khuấy trộn của kênh được thể hiện trên Hình 1 (e), trong thử nghiệm này, ba dòng chất lỏng được bơm vào ba đầu vào tương ứng của kênh với lưu lượng 5 $\mu\text{L}/\text{phút}$. Trong đó, đường vào ở giữa là nước cất, còn hai đường vào hai bên dùng chất lỏng màu – methylen xanh. Khi các chất lỏng được bơm vào kênh, các chất lỏng sẽ được ổn định lưu lượng lại khu vực chứa thứ nhất, sau đó các chất lỏng được dẫn tới đoạn chảy zíc zắc với mục đích để dòng chất lỏng đối hướng liên tục và có thể tăng hiệu quả quá trình khuấy trộn. Hiệu quả khuấy trộn được đánh giá bằng ảnh chụp dưới kính hiển vi dọc theo chiều dài kênh. Chú ý, các kênh đều có kích thước rất nhỏ (500 μm) nên chế độ chảy trong kênh hầu như là chảy dòng (với chuẩn số Reynold, $Re < 2400$, thông thường $Re < 1$ với các kênh có kích thước khoảng 100 μm) dẫn tới việc tự khuấy trộn thường khó khăn [11, 12].

b. Thử nghiệm bắt hạt nano từ

Kênh sau khi hoàn thành việc kiểm tra độ kín ở thí nghiệm trên, được sử dụng để bắt hạt nano từ ngay trong kênh tại khu vực bắt các hạt nano. Hạt nano từ dùng cho thử nghiệm này là loại hạt thương mại có kích thước 300 nm (loại carboxyl-Ademeads, mua từ Công ty AdemTech). Đây là hạt nano siêu thuận từ được bọc bên ngoài bởi màng

polyme ưa nước. Ngoài ra, bề mặt của các hạt nano được gắn các nhóm chức Carboxylic – COOH được dùng phổ biến trong các phép phân tích xét nghiệm miễn dịch (ELISA).

Trong thử nghiệm này, các hạt nano từ được phân tán từ dung dịch gốc vào môi trường đệm PBS 1 ×, (phosphate-buffered saline, pH = 7,4 - môi trường dùng trong các phép phân tích sinh học) với nồng độ pha rắn khoảng 0,15 mg/mL. Hạt nano từ được bơm lưu lượng đưa từ từ vào kênh qua đường vào ở giữa với lưu lượng 0,6 $\mu\text{L}/\text{phút}$. Hai đường vào ở hai bên dùng để bơm dung dịch đệm PBS và nước dùng để rửa kênh khi cần thiết. Tại khu vực bắt hạt nano từ (Hình 3 (c)), một nam châm vĩnh cửu đất hiếm – NdFeB dạng cục tròn được đặt ngay phía dưới kênh. Khi dòng hạt nano từ di chuyển đến vị trí đặt nam châm, nam châm sẽ giữ các hạt nano từ lại và dòng chất gần như không còn hạt nano đi ra khỏi kênh. Hình 3 (c), ảnh kính hiển vi mô tả các hạt nano từ bị giữ lại bằng nam châm. Sau khi các hạt nano từ trong dòng lỏng bơm vào kênh đã bị giữ lại hết, bơm lưu lượng sẽ bơm đệm PBS vào để rửa kênh và hạt nano trong 10 phút với lưu lượng là 1,5 $\mu\text{L}/\text{phút}$.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Khảo sát độ kín của chip vi lưu ghép bằng kết cấu cơ khí

Sau khi chip vi lưu hoàn thiện theo phương pháp gắn nhờ kết cấu cơ khí, kênh được bơm các dòng chất lỏng vào theo ba tuyến đầu vào.

Áp lực của dòng chất lỏng, Δp , trong kênh có thể được tính từ giá trị lưu lượng dòng chất lỏng được bơm vào kênh, Q , theo định luật Hagen-Poiseuille [13]:

$$\Delta p = Q.R_H \quad (1)$$

trong đó: $\Delta p = P - P_o$ với P là áp lực bên trong kênh khi có dòng chảy; P_o là áp lực tại đầu ra của kênh và thường bằng áp suất khí quyển (100 kPa); Q là lưu lượng chất lỏng được bơm vào kênh qua bơm lưu lượng; R_H là trở lực của dòng chất lỏng.

Trở lực R_H được xác định gần đúng đối với vi kênh có mặt cắt hình chữ nhật và trong trường hợp kênh có tỷ lệ chiều cao/chiều rộng, h/w , khá nhỏ [14]:

$$R_H = \frac{12\eta.L}{w.h^3} \frac{1}{1-0,63\frac{h}{w}} \quad (2)$$

trong đó: η là độ nhớt của chất lỏng (H_2O ở 25°C); L là chiều dài kênh (khoảng 6 cm).

Bảng 1 trình bày giá trị lưu lượng dòng bơm vào kênh và áp lực của chất lỏng (tại 25°C) trong kênh có kích thước: cao 50 μm , rộng 500 μm được

tính theo công thức (1) và (2). Kết quả thử nghiệm trên kênh cho thấy, ngay ở lưu lượng dòng rất cao ứng với áp lực đạt 157,9 kPa kênh không xuất hiện các dò rỉ chất lỏng. Trong thực tế, các giá trị thử nghiệm ở đây thường lớn gấp từ vài lần hàng trăm lần so với lưu lượng dòng làm việc trong quá trình phân tích, ví dụ trong các ứng dụng vi kênh thì lưu lượng dòng thực tế khoảng từ vài $\mu\text{L}/\text{phút}$ đến vài trăm $\mu\text{L}/\text{phút}$ [8, 15, 16]. Giá trị này cho phép kênh làm việc tốt trong hầu hết các ứng dụng trong phân tích hóa học và sinh học.

Bảng 1. Lưu lượng dòng chất lỏng và áp lực trong kênh

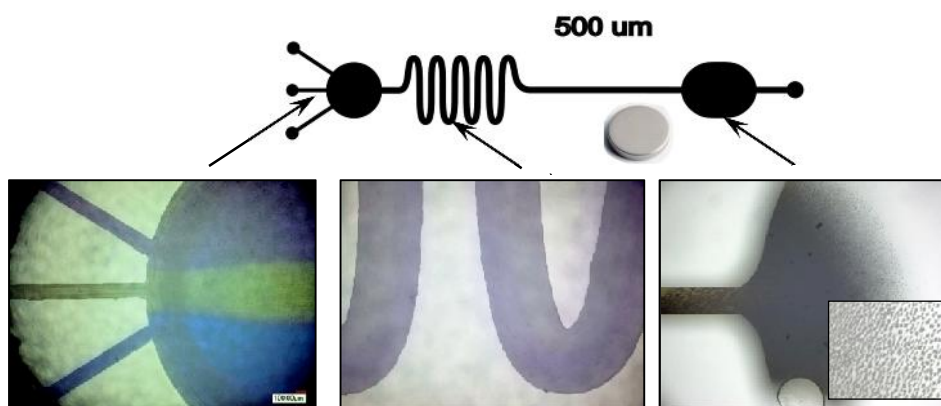
Lưu lượng (mL/phút)	100	200	300	400	500
Áp lực (kPa)	111,6	123,1	134,7	146,2	157,9

Khả năng chịu được áp lực cao của kênh được ghép bằng kỹ thuật này tương đương với việc gắn kênh PDMS lên đế silic hoặc thủy tinh bằng kỹ thuật xử lý bề mặt bằng plasma [17]. Tuy nhiên, khi gắn kênh PDMS trực tiếp lên đế này bằng plasma thì không thể bóc kênh ra sau mỗi lần sử dụng (trong trường hợp kênh bị lỗi, hỏng hoặc bẩn, việc thay kênh mới là bắt buộc). Đồng thời, phần đế silic hoặc thủy tinh nếu có tích hợp các mô đun chức năng khác sẽ phải chế tạo lại, điều này gây khó khăn và tốn kém cho nghiên cứu và ứng dụng. Trong nghiên cứu này, khu vực bẫy các hạt nano từ được thiết kế với một nam châm đặt ngay phía dưới kênh, chính vì vậy lớp mỏng PDMS (dày 8 μm) đảm bảo lực từ đủ mạnh để giữ các hạt từ này. Vì vậy, với kỹ thuật gắn kênh PDMS bằng kết cấu cơ khí, phần kênh và đế hoàn toàn tách rời nên việc thay kênh mới sau mỗi lần sử dụng rất dễ dàng.

3.2. Khảo sát khả năng khuấy trộn và bẫy các hạt nano từ của các khối chức năng

Hình 3 cho thấy khi bơm ba dòng chất lỏng (nước cất, nước cất có pha màu methylen xanh) vào chip vi lưu với lưu lượng 5 $\mu\text{L}/\text{phút}$ ứng với mỗi dòng vào, ban đầu sự khuấy trộn chưa xảy ra ngay, nhưng sau khi các chất lỏng chảy qua khu vực ổn định dòng (Hình 3 (a)) đến phần điều chỉnh hướng dòng chảy theo đường zíc zắc (Hình 3 (b)) các dòng chất lỏng màu xanh được trộn tốt với nước ngay sau khi qua những đường zíc zắc đầu tiên. Như vậy, sự đảo chiều dòng chảy là một trong những kỹ thuật được sử dụng trong khuấy trộn đa dòng với thể tích siêu nhỏ và lưu lượng lớn ngay bên trong vi kênh (ngoài ra, các kỹ thuật chia dòng hay gộp dòng cũng sẽ tăng hiệu quả của quá trình này).

Hình 3 (c) trình bày kết quả của quá trình bẫy các hạt nano siêu thuận từ 300 nm. Tại vị trí đặt nam châm (NdFeB), các hạt nano bị giữ lại phần lớn tại vị trí này, theo quan sát định tính dưới kính hiển vi. Với lưu lượng dòng tổng cộng khoảng 15 $\mu\text{L}/\text{phút}$, tương ứng với vận tốc dòng khá lớn khoảng 1 mm/s thì các hạt nano từ không bị cuốn theo dòng chất lỏng ra ngoài khi bị giữ bởi nam châm. Điều này có được là do thiết kế khu vực bẫy hạt nano từ được tiết lưu rộng ra làm giảm vận tốc dòng chảy xuống và hạn chế được dòng chảy cuốn các hạt từ đã bị nam châm giữ lại. Kết quả này rất hữu ích kỹ thuật bẫy hạt nano từ trong phân tích y - sinh học (ví dụ như ELISA). Tuy nhiên, khả năng định lượng phần hạt nano từ bị giữ tại vị trí này rất khó khăn do chưa thể định lượng được bao nhiêu hạt nano từ được bơm vào kênh và tồn thất trên đường đi chưa thể kiểm soát.



Hình 3. Hình ảnh các modul của kênh dưới kính hiển vi trong thử nghiệm khuấy trộn (a), (b) và bẫy hạt nano siêu thuận từ (kích thước 300 nm) trong kênh (c).

4. Kết luận

Chíp vi lưu được thiết kế và chế tạo thành công với kỹ thuật tạo khuôn cho kênh bằng mặt nạ đơn giản trên tấm polyme. Điều này cho phép chế tạo kênh một cách linh động tiết kiệm thời gian và chi phí hơn. Công đoạn đóng kênh và hoàn thiện chíp được thực hiện bằng kỹ thuật ghép nối với cơ cấu cơ khí cho kết quả tốt với khả năng chịu được áp lực dòng chảy rất cao tới 157,9 kPa. Các khu vực chức năng của vi kênh như khuấy trộn và bẫy hạt nano từ được thử nghiệm cho kết quả tốt ngay ở lưu lượng dòng thử nghiệm khá cao 15 μ L/phút. Kết quả thử nghiệm bẫy các hạt nano siêu thuận từ với kích thước 300 nm tốt bằng nam châm NdFeB. Kết quả này sẽ định hướng ứng dụng khả thi trong phân tích y – sinh hay điện hóa trong một chíp vi lưu tích hợp.

Lời cảm ơn

Công trình này được sự tài trợ bởi Đề tài cấp cơ sở phân cấp 2016, mã số T2016-PC-158 của Trường Đại học Bách khoa Hà Nội.

Tài liệu tham khảo

- Mogensen, K.B., H. Klank, and J.P. Kutter, Recent developments in detection for microfluidic systems. *Electrophoresis*, 2004. **25**(21-22): p. 3498-512.
- Choi, J.W., et al., An integrated microfluidic biochemical detection system for protein analysis with magnetic bead-based sampling capabilities. *Lab Chip*, 2002. **2**(1): p. 27-30.
- Lorusso, D., et al., Practical fabrication of microfluidic platforms for live-cell microscopy. *Biomedical Microdevices*, 2016. **18**(5): p. 1-7.
- Monteiro, T.S., et al. PDMS encasing system for integrated lab-on-chip Ag/AgCl reference electrodes. in *Bioengineering (ENBENG)*, 2015 IEEE 4th Portuguese Meeting on. 2015.
- Samiei, E., M. Tabrizian, and M. Hoorfar, A review of digital microfluidics as portable platforms for lab-on-a-chip applications. *Lab on a Chip*, 2016. **16**(13): p. 2376-2396.
- McDonald, J.C. and G.M. Whitesides, Poly(dimethylsiloxane) as a Material for Fabricating Microfluidic Devices. *Accounts of Chemical Research*, 2002. **35**(7): p. 491-499.
- Vézy, C., et al., Simple method for reversible bonding of a polydimethylsiloxane microchannel to a variety of substrates. *Micro & Nano Letters*, 2011. **6**(10): p. 871.
- Anwar, K., T. Han, and S.M. Kim, Reversible sealing techniques for microdevice applications. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2011. **153**(2): p. 301-311.
- Liu, C.-J., et al., Magnetic-bead-based microfluidic system for ribonucleic acid extraction and reverse transcription processes. *Biomedical Microdevices*, 2009. **11**(2): p. 339-350.
- Cao, H.H., et al., Reversible bonding by dimethylmethylphenylmethoxy siloxane – based stamping technique for reusable poly(dimethylsiloxane) microfluidic chip. *Micro & Nano Letters*, 2015. **10**(5): p. 229-232.
- Tian, W.-C., Finehout, Erin, *Microfluidics for Biological Applications*. 1 ed. 2009: Springer US.
- Bruus, H., *Theoretical microfluidics*. 2007: Oxford University Press.
- Stone, H.A., A.D. Stroock, and A. Ajdari, Engineering flows in small devices. *Annual Review of Fluid Mechanics*, 2004. **36**(1): p. 381-411.
- Tanyeri, M., et al., A microfluidic-based hydrodynamic trap: design and implementation. *Lab on a Chip*, 2011. **11**(10): p. 1786-1794.
- Nguyen, H.L., et al., Sodium Dodecyl Sulfate Doped Polyaniline for Enhancing the Electrochemical Sensitivity of Mercury Ions. *Electroanalysis*, 2017. **29**(2): p. 595-601.
- Araya-Farias, M., et al., A new strategy for simultaneous synthesis and efficient anchorage of polymer monoliths in native PDMS microchips. *Polymer*, 2015. **66**: p. 249-258.
- Kim, J., R. Surapaneni, and B.K. Gale, Rapid prototyping of microfluidic systems using a PDMS/polymer tape composite. *Lab Chip*, 2009. **9**(9): p. 1290-3.